

VIII DIAGNOSTICO Y CONSEJO GENETICO

DRA. ROBERTA A. PAGON

Las pruebas genéticas se han vuelto cada vez más útiles para los clínicos por su relación costo-eficacia, su sensibilidad, por constituir herramientas no invasivas para diagnosticar personas sintomáticas, pero el diagnóstico temprano de personas asintomáticas en riesgo, para la detección de portadores y para el diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas.

Aunque las pruebas genéticas incluyen el análisis del ADN, ARN, cromosomas, proteínas y ciertos metabolitos, es la aplicación de las pruebas basadas en el ADN para el diagnóstico y consejo genético de los trastornos hereditarios el aspecto que ha dominado en los años 90. La eficacia de las pruebas genéticas se basa en la destreza técnica con la que se realizan, la destreza clínica con la que se aplican e interpretan y el interés del paciente en los resultados. Como con todas las demás pruebas médicas, las pruebas genéticas dependen del contexto específico. Antes de realizarlas, el clínico debe poder contestarse la siguiente pregunta: ¿Por qué estoy realizando esta prueba a este paciente en este momento?

Las pruebas genéticas difieren de las pruebas médicas tradicionales en que los resultados implican recurrencia del riesgo para el paciente individual y o su familia. Una prueba genética positiva siempre implica la necesidad de referir al paciente para consejo genético. Algunas pruebas genéticas se usan solo para toma de decisiones personales y se adaptan al modelo de atención médica tradicional.

En esta subsección se analiza la detección de alteraciones genéticas a través de las pruebas basadas en ADN y la interpretación adecuada para la atención del paciente y consejo genético. Se realiza énfasis en las mutaciones de línea germinal que están presentes desde el momento de la concepción y que tienen efectos fenotípicos, implicaciones para la reproducción o ambos. Las mutaciones de línea germinal contrastan con las mutaciones somáticas, que son la base de ciertos trastornos adquiridos, como muchos cánceres. Las mutaciones somáticas, con excepción del mosaicismo denominado de línea germinal, en el que las mutaciones afectan a las gónadas, no son hereditarias y no se analizan en esta subsección.

Definición y clasificación de las pruebas genéticas

Las pruebas basadas en ADN se dividen en dos categorías amplias, directas e indirectas. Las pruebas directas se refieren a la identificación positiva de alteraciones genéticas que causan enfermedad y que establecen el estado genético de la persona independientemente de conocer la historia familiar o el estado de riesgo previo. Las pruebas indirectas se basan en el análisis de asociación, en el que las secuencias de ADN sirven como marcadores para rastrear un gen dentro de una familia. Las pruebas indirectas se usan cuando el análisis directo del ADN no es posible porque no se conoce el gen o porque el gran número de mutaciones conocidas impide la identificación positiva de la mutación específica que causa la enfermedad en una familia determinada. El análisis de asociación solo puede determinar el estado genético de una persona asintomática dentro del contexto de un estudio muy estructurado de las muestras de ADN de una familia y con la certeza absoluta de que se tiene el diagnóstico clínico correcto en esta familia.

En la evaluación de los pacientes y sus familias la información de las pruebas genéticas pueden usarse dentro de un paradigma médico, un paradigma de consejo genético o ambos. En el paradigma médico las pruebas genéticas

proporcionan a los pacientes y a sus médicos información que influye en forma directa en el manejo médico. Son importantes los aspectos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, costo-eficacia y riesgo recurrente. Las pruebas diagnósticas establecen o confirman un diagnóstico en una persona determinada. Una prueba diagnóstica directa basada en el ADN se basa en el conocimiento de las alteraciones genéticas que causan la enfermedad y en la capacidad para detectarlas en muestras de tejido, generalmente sangre. Las pruebas predictivas se emplean para identificar, entre los familiares asintomáticos con riesgo, a las personas que portan el gen que causa la enfermedad. La prueba predictiva se considera presintomática cuando es cierto que todas las personas que tienen el gen alterado presentarán síntomas y predisponente cuando la penetrancia del gen es reducida y menos del 100 por ciento de las personas con el gen alterado estarán afectadas. En el modelo médico de pruebas genéticas la detección temprana y la intervención médica oportunas reducen la morbimortalidad.

En el paradigma del consejo genético, las pruebas genéticas proporcionan a las personas información para tomar decisiones personales, que pueden incluir planes respecto a reproducción. Los aspectos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y riesgo de recurrencia son tan importantes como en el modelo médico, pero la relación costo-eficacia no puede evaluarse cuando la prueba se usa solo para tomar decisiones. En el paradigma de consejo genético las pruebas predictivas se usan para el diagnóstico presintomático y predisponente de las personas con riesgo de la enfermedad y para las cuáles no existen intervenciones médicas posibles. Las pruebas de portadores se usan principalmente para identificar a los portadores de genes de padecimientos autosómico recesivos y ligados al cromosoma X. No existen aspectos relacionados con la salud para los portadores de genes autosómico recesivos porque se espera que permanezcan asintomáticos, lo mismo que la mayoría de las mujeres portadores de genes recesivos ligados al cromosoma X. Las pruebas prenatales se emplean para evaluar a los fetos con riesgo alto de sufrir una enfermedad genética por la historia familiar o para evaluar a fetos en los que se desconoce el riesgo pero en quienes se sospecha un trastorno genético por datos sugestivos durante el embarazo.

En esta subsección se emplean enfermedades específicas para demostrar el papel de las pruebas genéticas en los paradigmas de consejo médico y genético [*ver tabla 1*].

Tabla 1 Uso de las pruebas basadas en ADN para ciertos padecimientos hereditarios

Nombre de la enfermedad	Paradigma médico		Paradigma de consejo genético		
	Diagnóstico	Predictivo	Predictivo	Detección de portadores	Diagnóstico prenatal
Enfermedad de Huntington	X		X		X
Ataxia de Friederich	X	X	X	X	X
Factor V de Leiden	X	X			X
Distrofia muscular de Duchenne Distrofia muscular de Becker	X		X	X	X
Poliposis adenomatosa familiar		X			X
Retinoblastoma		X			X
Cáncer de mama		X	X		X
Fibrosis quística		X		X	X

Paradigma de pruebas médicas

PRUEBAS DIAGNOSTICAS DIRECTAS BASADAS EN EL ADN EN PERSONAS SINTOMATICAS

Alta sensibilidad y especificidad

Las 11 enfermedades de repetición de trinucleótidos, causadas por la presencia de un número anormalmente grande de repeticiones de trinucleótidos dentro de un gen, son ejemplos de las enfermedades para las que existen pruebas directas basadas en el ADN que son muy sensibles y específicas [ver tabla 2].¹ Las pruebas para estos padecimientos miden el tamaño de la repetición (i.e., número de repeticiones de trinucleótidos presentes). La relación costo-eficacia no se discute por la metodología de laboratorio que se emplea en la prueba. Debido a que se conocen ya las bases de genética molecular de las enfermedades por repetición de trinucleótidos, se ha redefinido el espectro de la enfermedad para varios de estos padecimientos. El establecimiento del diagnóstico requiere de pruebas moleculares, pero la sensibilidad y especificidad de la prueba para la enfermedad es del 100 por ciento. Por ejemplo, en la ataxia espinocerebelosa tipo 3 (enfermedad de Machado-Joseph), se reconocen cuatro fenotipos que se superponen pero se relacionan con la edad. El espectro de la afección clínica varía de espasticidad o predominio de datos extrapiramidales (rigidez, distonía, movimientos involuntarios) con datos cerebelosos (ataxia, oftalmoplegia) en pacientes jóvenes, a predominio de parkinsonismo y neuropatía en pacientes mayores de 40 años. Los diferentes fenotipos clínicos derivan todos de una

mutación en el mismo gen.²

Tabla 2 Enfermedades por repetición de trinucleótidos^{1,2}

Nombre de la enfermedad	Tipo de repetición	Modo de herencia	Alelos normales*	Alelos de permutación (intermedios)*	Alelos anormales*	Estabilización por interrupción de la repetición	Efecto paterno	Mosaicismo somático
Atrofia muscular espinal y bulbar ligada al X	CAG	RLX	9-33		38-75	No	Pat>mat	No
Enfermedad de Huntington	CAG	AD	9-26	27-35	36-121	No	Pat>mat	Sí
Atrofia palidolusiana dentadorrubral	CAG	AD	3-36		49-88	No	Pat>mat	Sí
Ataxia espinocerebelosa tipo 1 (AEC1)	CAG	AD	6-36		39-81	Sí (CAT)	Pat>mat	Sí
AEC2	CAG	AD	15-34		34-64	Sí (CAA)	Pat=mat	ND
AEC3	CAG	AD	12-40		60-84	No	Pat=mat	Sí
AEC6	CAG	AD	4-16		21-30	No	?	ND
AEC7	CAG	AD	6-17		34-200		Pat>mat	
Síndrome del X frágil locus A	CGG	DLX	< 55	55-220	> 200	Sí (AGG)	Mat>pat	Sí
Síndrome del X frágil locus E	GCC	DLX	6-35		> 220			
Distrofia miotónica	CTG	AD	5-27		> 50		Mat>pat	
Ataxia de Friederich	GAA	AR	8-22		120-1,700			Ocasional

* Los alelos se describen por el tamaño de la repetición de trinucleótidos.

AD-autosómico dominante AR-autosómico recesivo mat-materno pat-paterno RLX-recesivo ligado al X

Otro ejemplo de este fenómeno se demostró en un estudio reciente que examinó el valor predictivo de la prueba molecular para la ataxia de Friederich (FRDA) en 187 pacientes con ataxia autosómica recesiva de inicio en la infancia.³ De estos pacientes, solo 60 por ciento tuvo datos que se consideraron típicos por los criterios de diagnóstico estrictos. Todos los pacientes con datos típicos y 46 por ciento de los pacientes con presentaciones atípicas tuvieron expansiones GAA en el gen *frataxin* consistentes con el diagnóstico de FDRA. Para acomodar el criterio diagnóstico molecular, el espectro fenotípico de la FDRA se amplió para incluir el inicio a edad más avanzada y la conservación de los reflejos tendinosos profundos.

Aunque existe una correlación burda entre el número de repeticiones de trinucleótidos y la severidad y edad de inicio de la enfermedad, el valor predictivo positivo del número de repeticiones para estos datos es menor del 100 por ciento. Esto no es importante cuando la prueba que mide el número de repeticiones se usa para el diagnóstico de una persona sintomática, pero sí lo es cuando la prueba se emplea como predictiva y para consejo sobre el riesgo de recurrencia. El consejo sobre el riesgo de recurrencia en los trastornos de repetición de trinucleótidos depende no solo de la genética mendeliana habitual sino también de un riesgo empírico de mayor expansión genética (i.e., aumento en la longitud de la repetición del trinucleótido) durante la meiosis. Por motivos desconocidos, esta puede estar influenciada por el sexo del padre transmisor. Por ejemplo, es probable que la expansión sea mayor cuando la madre transmite el alelo expandido en el síndrome del X frágil y la distrofia miotónica, y cuando el padre lo transmite en la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Kennedy, la atrofia dentadorrubral-palidolusiana o las ataxias espinocerebrillosas tipos 1 y 3.¹ El riesgo de mayor expansión puede depender de la longitud total de la región de repetición del trinucleótido y de la presencia de diferentes secuencias estabilizadoras dentro o adyacentes al gen.

Alta sensibilidad, baja especificidad y bajo valor predictivo positivo

El análisis de la mutación del factor V de Leiden, la prueba genética más solicitada en la actualidad, es un ejemplo de prueba directa basada en el ADN que tiene un 100 por ciento de sensibilidad, pero con especificidad y valor predictivo positivo bajo. La mutación específica en el factor V de coagulación, llamado factor V de Leiden, consiste en la sustitución de una glutamina por una arginina en el codón 506.⁴ Por definición la prueba que detecta esta mutación es 100 por ciento sensible. El factor V de Leiden causa resistencia a la proteína C activada, un anticoagulante natural que permite que la sangre extravascular coagule mientras se mantiene la fluidez intravascular.⁴ Los datos epidemiológicos apoyan una predisposición a las tromboembolias venosas primarias y recurrentes en los heterocigotos al factor V de Leiden. Se calcula que el 5 por ciento de las personas de raza blanca son heterocigotas para este factor y que alrededor del 20 por ciento de todas las personas con tromboembolias venosas son heterocigotas también.⁵ Los heterocigotos con la mutación tienen un riesgo 2.4 veces mayor de sufrir tromboembolias recurrentes que los pacientes sin la mutación. El factor V de Leiden está presente en más de la mitad de las familias con la llamada tendencia trombofílica, esto es, en las que varios miembros de la familia tienen trombosis venosas profundas que suelen ser múltiples, de inicio temprano o sin factores de riesgo claros.⁶ Se supone que en estas familias existen otros factores de riesgo, algunos genéticos y otros ambientales.

Vandenbroucke y colaboradores han puesto en duda la conveniencia de realizar escrutinio en población de riesgo alto, como las mujeres que usan pastillas anticonceptivas y embarazadas.⁷ Las investigaciones indican que las recomendaciones de tratamiento de los heterocigotos al factor V de Leiden se han enfocado a familias con riesgo alto para quienes el riesgo de tromboembolia puede ser muy diferente que para las familias con riesgo bajo. Además, la suspensión de los anticonceptivos orales y el uso de anticoagulantes durante el embarazo tienen riesgos por sí que pueden superar el de tromboembolia.⁷ A pesar de la facilidad de la prueba y de la alta prevalencia del gen, el bajo valor predictivo positivo del factor V de Leiden fuera de situaciones clínicas bien definidas hace difícil la interpretación de los resultados de la prueba en personas con bajo riesgo. Vandenbroucke y colaboradores⁷ concluyeron que la situación clínica del paciente y de los miembros de la familia es la que regirá el consejo del médico, más que la presencia o ausencia de la mutación.

Baja sensibilidad, alta especificidad y alto valor predictivo positivo

El análisis de mutación del ADN de leucocitos en el diagnóstico de la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y de la distrofia muscular de Becker (DMB) es un ejemplo de prueba directa de análisis de ADN en la que la sensibilidad es menor al 100 por ciento pero la especificidad y el valor predictivo positivo son altos.⁸ En estas enfermedades la heterogeneidad alélica reduce la capacidad para detectar todas las mutaciones que causan enfermedades, disminuyendo

así la sensibilidad de la prueba. La heterogeneidad alélica (en ocasiones denominada heterogeneidad mutacional) se refiere a la situación en la que más de una mutación (alelo) en un locus que causa una enfermedad produce un fenotipo determinado. Alrededor del 70 por ciento de los varones con DMD tienen una delección en el gen de la *distrofina*, causando un desplazamiento de marco y la no producción de la proteína distrofina.^{9,10} La detección de una mutación de cambio de marco es suficiente para establecer el diagnóstico de DMD. Cuando no se detecta delección la prueba diagnóstica consiste en la biopsia de músculo usando técnicas de inmunohistoquímica y microscopía electrónica para visualizar la proteína distrofina en el área del sarcolema. La ausencia de distrofina es diagnóstica de DMD.

La DMB es alélica a la DMD, esto implica que los dos padecimientos son causados por mutaciones diferentes en el mismo locus. La DMB es más rara que la DMD y tiene un inicio más tardío y curso más leve que la DMD. También ocurren delecciones en el gen de la *distrofina* en alrededor del 70 por ciento de los varones con DMB, pero son mutaciones de lectura dentro del marco las que causan la producción de una proteína truncada. La función muscular y el pronóstico son mejores para los pacientes con DMB que para los que tienen DMD. La biopsia de músculo tiene el mismo papel en los pacientes con sospecha de DMB y sin mutaciones detectables en el gen de la *distrofina*. En este caso se detecta distrofina en el sarcolema, pero en menor cantidad.

El uso de la prueba de distrofina ejemplifica también el valor predictivo positivo de la prueba de ADN a través de la correlación genotipo-fenotipo de mutaciones de desplazamiento de marco y de mutaciones dentro del marco.

Existe un ahorro considerable si se compara la prueba de análisis del ADN de leucocitos, que cuesta varios cientos de dólares, sobre la biopsia muscular abierta, que requiere de un cirujano, un anestesiólogo, un patólogo y personal auxiliar. Además, para el consejo sobre el riesgo a los familiares mujeres de los pacientes con DMD y DMB se requiere el resultado del análisis de mutación de por lo menos un varón de la familia afectado.

PRUEBAS PREDICTIVAS EN PERSONAS ASINTOMATICAS CON RIESGO

En las personas asintomáticas con riesgo, la sensibilidad de la prueba puede ser menor al 100 por ciento, pero la especificidad y el valor predictivo positivo deben ser altos. El costo-eficacia de una prueba predictiva se demuestra al disminuir la morbimortalidad en pacientes con riesgo alto por medio de la detección temprana y el tratamiento, y al evitar que personas que no tienen el gen sean sometidas a protocolos de escrutinio que pueden ser costosos y agresivos. Los padecimientos en esta categoría son principalmente cánceres autosómico dominantes [ver tabla 3].¹¹ Aunque las pruebas presintomáticas y de predisposición tienden a diferenciarse entre sí, los aspectos a considerar tienden a ser los mismos cuando el gen investigado confiere un alto riesgo de un padecimiento en una población con riesgo bajo (v.gr., retinoblastoma). Puede no requerirse un análisis de mutación para establecer el diagnóstico en el probando cuando el padecimiento se diagnostica por datos clínicos. Sin embargo, se requiere evaluar un familiar afectado para determinar si puede identificarse la mutación que causa la enfermedad con propósito de estudiar a los familiares asintomáticos con riesgo.

Tabla 3 Síndromes de cáncer autosómico dominante para los que existen pruebas genéticas disponibles

Enfermedad de Von Hippel-Lindau	Neoplasias endócrinas múltiples tipo 1
Poliposis adenomatosa familiar	Carcinoma medular del tiroides
Cáncer de colon y recto hereditario sin poliposi	Cáncer de mama
Retinoblastoma	Melanoma
Neoplasias endócrinas múltiples tipo 2A y 2B	

Pruebas presintomáticas

La poliposis adenomatosa familiar (PAF) es un padecimiento autosómico dominante en el que la penetrancia de las mutaciones en el gen que causa la enfermedad es del 100 por ciento. Los portadores del gen desarrollan adenomas en el colon y el recto, iniciando alrededor de los 16 años. El número de adenomas aumenta a cientos o miles y se desarrolla cáncer de colon y recto a una edad promedio de 39 años. La edad promedio de muerte es a los 42 años en los pacientes no tratados. El diagnóstico temprano reduce la morbilidad y aumenta la expectativa de vida al mejorar la vigilancia y por medio de una colectomía profiláctica oportuna. En la PAF la prueba basada en ADN del gen *APC* puede usarse para identificar a los portadores de la mutación que causa la enfermedad entre los familiares con riesgo.¹² Sin embargo, el ensayo disponible en la actualidad de una proteína sintetizada in vitro puede identificar la mutación del gen *APC* truncado en solo el 80 por ciento de las familias con PAF.

Debe estudiarse primero un familiar sintomático para establecer el diagnóstico molecular en la familia. Los resultados se reportan como "positivos" cuando se identifica una mutación truncada y como "sin mutación encontrada" cuando no se identifica ésta. Solo las familias en las que un miembro afectado tiene un resultado positivo pueden someterse a la prueba basada en ADN de los familiares asintomáticos con riesgo. Al evaluar a los familiares con riesgo se dice que un resultado es positivo cuando se encuentra la mutación del probando en el familiar y negativa cuando ésta no existe. En estas circunstancias, la prueba de *APC* tiene un valor predictivo positivo del 100 por ciento y un valor predictivo negativo del 100 por ciento para los familiares con alto riesgo de PAF. En el 20 por ciento de las familias en las que no se identifica una mutación del gen *APC* en un familiar afectado, la prueba predictiva de *APC* no puede usarse en los familiares asintomáticos con riesgo alto. La probabilidad de tener PAF se calcula por medio del análisis del pedigree, aunque el estado genético actual de cada familiar se considera indeterminado.

Pruebas de predisposición

El retinoblastoma es un ejemplo de un padecimiento en el que la penetrancia del gen mutado que causa la enfermedad es menor del 100 por ciento. Este padecimiento es causado por mutaciones en el gen *RB1* y puede heredarse en forma autosómica dominante. En promedio, la penetrancia e las mutaciones del gen *RB1* es del 90 por ciento (i.e., 90 por ciento de las personas con la mutación genética que causa la enfermedad desarrollan retinoblastoma). Se ha demostrado una buena relación costo-eficacia y la mejor evolución por medio del uso de una prueba predictiva.¹³

La mejor evolución se define como la conservación de la visión en las personas con riesgo alto por la detección temprana y el tratamiento de los tumores oculares y la reducción de la morbilidad a través de la detección temprana de tumores secundarios no oculares.¹¹ La detección temprana del retinoblastoma, mientras el tumor es pequeño, permite tratamientos agresivos que destruyen el tumor pero conservan la visión. Antes de la disponibilidad de pruebas de

genética molecular, la orientación sobre el riesgo de recurrencia para los padres de un niño o para un adulto con retinoblastoma era empírico y se basaba en la historia familiar positiva o negativa y la presencia de tumores únicos o múltiples. Se requería un protocolo de vigilancia si el niño tenía un riesgo de 6 por ciento de desarrollar un retinoblastoma (padre o hermano con retinoblastoma unilateral esporádico), un 40 por ciento de riesgo (padre con retinoblastoma bilateral) o un riesgo de 90 por ciento (persona con mutación *RB1* demostrada). La secuenciación del gen *RB1* detecta mutaciones en hasta el 80 por ciento de los pacientes con retinoblastoma bilateral o hereditario.¹⁴ Aunque costosa y difícil, la prueba de secuenciación del gen es necesaria para establecer el diagnóstico molecular en el sujeto. Debido a la extensa heterogeneidad alélica, la secuenciación del gen es la prueba estándar de oro para la detección de las mutaciones del gen *RB1*. Por lo tanto, un adulto con retinoblastoma puede someterse al análisis de la mutación del *RB1* para planear el tratamiento de su descendencia con riesgo. Cuando se identifica una mutación *RB1* en el sujeto la descendencia puede ser evaluada en forma prenatal o al nacimiento para determinar su estado genético y la necesidad de exámenes oftalmológicos frecuentes. Cuando no se identifica la mutación en el adulto el riesgo de recurrencia es empírico y toda la descendencia debe ser evaluada periódicamente por un oftalmólogo. La relación costo-eficacia se demuestra al evitar a los niños con riesgo alto protocolos de escrutinio innecesarios y costosos cuando no se demuestra la mutación del gen *RB1* presente en su familia.¹⁵

Paradigma de consejo genético

PRUEBAS PREDICTIVAS

Las pruebas predictivas para un padecimiento en una persona asintomática son adecuadas cuando no existen intervenciones médicas para alterar el curso del padecimiento.

Diagnóstico presintomático

La enfermedad de Huntington es un ejemplo de este tipo de padecimiento. La mutación del gen tiene una penetrancia del 100 por ciento. La detección del estado genético entre las personas con riesgo de enfermedad de Huntington permiten a los que han heredado el gen alterado y a los que no tomar decisiones personales y sociales informadas. Estas decisiones pueden referirse a estilo de vida, empleo, finanzas personales y planeación familiar. El ofrecer pruebas genéticas a personas con riesgo de un padecimiento no tratable, debilitante y fatal es un aspecto muy delicado. El diagnóstico molecular debe confirmarse siempre en el familiar sintomático antes de ofrecer la prueba a los familiares asintomáticos con riesgo. Debido a que no puede ofrecerse ninguna intervención médica, deben anticiparse y manejarse las necesidades psicoemocionales de la persona. En un trabajo reciente, la Sociedad Nacional de Consejeros Genéticos de los EUA enfatizaron que la educación previa a la prueba y el consejo genético son necesarios y de que debe realizarse seguimiento posterior al informe de la prueba.¹⁶ El informar a los pacientes sobre resultados normales requieren la misma preparación y consejo que sobre resultados anormales. La orientación al paciente antes de la prueba debe analizar el valor predictivo positivo de la misma, en especial en relación con la edad de inicio y la severidad de la enfermedad. Aunque la mayor longitud de las repeticiones suele asociarse con inicio más temprano y mayor severidad, la longitud de las repeticiones no siempre predice el inicio o severidad. Además, los pacientes con un número intermedio de repeticiones de trinucleótidos (36 a 39 repeticiones CAG) pueden tener un riesgo genético indeterminado. Los tamaños de las repeticiones en este rango se consideran de poca penetrancia porque pueden causar síntomas de la enfermedad pero no siempre lo hacen dentro de la expectativa de vida normal.² Por lo tanto, el paciente que se ha preparado para escuchar un resultado negativo o positivo puede encontrarse en la misma posición de incertidumbre que antes de la prueba.

En las personas asintomáticas que se someten a pruebas genéticas debe tenerse en cuenta también la necesidad de confidencialidad de los resultados y la posible discriminación en empleo y cobertura de seguros.¹⁷ No se recomienda

realizar pruebas genéticas predictivas en niños asintomáticos por la preocupación de que se les etiquete en forma inapropiada en un momento en que no pueden aún emplear esta información para toma de decisiones personales o de tipo reproductivo.¹⁸

Pruebas de predisposición

Las pruebas de predisposición para un padecimiento son adecuadas cuando se asocian con una población con riesgo alto y cuando se desconoce la eficacia de las medidas para disminuir el riesgo en las personas con mutaciones que causan predisposición. Las pruebas de predisposición para cáncer de mama por el análisis de mutaciones de los genes *BRCA1* y *BRCA2* pueden considerarse dentro de esta categoría porque la eficacia de las medidas para disminuir el riesgo de cáncer en los portadores de mutaciones predisponentes *BRCA1* y *BRCA2* se desconocen.¹⁹ Además, la alta prevalencia de cáncer de mama en la población general obliga a recomendar el escrutinio riguroso para detección temprana en todas las mujeres, sin importar si la mujer en riesgo no tiene la mutación *BRCA1* o *BRCA2* identificada en su familiar.

El dilema ocasionado por el papel indeterminado de las pruebas de *BRCA1* y *BRCA2* para disminuir la morbilidad por el cáncer de mama puede resultar un problema que se repita en las pruebas genéticas de las enfermedades comunes. El cáncer de mama, como otros padecimientos comunes como la enfermedad arterial coronaria, la diabetes mellitus y la enfermedad de Alzheimer, se consideran por los genetistas como padecimientos complejos. Los padecimientos complejos tienen múltiples etiologías, incluyendo genes que se heredan en forma aislada, genes múltiples con efecto aditivo que interactúan con influencias ambientales con frecuencia no bien definidas y cambios ambientales o genéticos adquiridos. Los genes únicos heredables pueden representar una contribución relativamente pequeña a la incidencia global y morbilidad por los padecimientos comunes.

Esto parece ser cierto para el cáncer de mama, que afecta a una de cada nueve mujeres, solo el 5 a 10 por ciento de los casos de cáncer de mama se atribuyen a mutaciones en genes aislados, incluyendo el *BRCA1* y el *BRCA2*. Para las mujeres con familiares que se sabe tienen la mutación *BRCA1* pero que han resultado negativas para esta mutación conocida en la familia, la posibilidad de desarrollar cáncer de mama sigue siendo de uno en nueve. Por tanto, la paciente tiene la misma necesidad de vigilancia estrecha que la población general. Además, la detección de la mutación *BRCA1* o *BRCA2* puede no alterar el protocolo de vigilancia para el cáncer de mama que se recomienda en todas las mujeres. Sin embargo, pueden considerarse opciones para la prevención del cáncer de mama (v.gr., mastectomía bilateral) bajo un punto de vista diferente para las portadoras de mutaciones *BRCA1* o *BRCA2*. Se ha aconsejado tener precaución porque el valor predictivo de las mutaciones del *BRCA1* o *BRCA2* no se comprende bien y pueda exagerarse por riesgos más altos y espectros de enfermedad diferente en familias con riesgo alto que fueron estudiadas al inicio. Esto es lo mismo que sucede respecto a la prueba del factor V de Leiden.

Existen preocupaciones serias respecto a la detección de mutaciones *BRCA1* y *BRCA2* y el consejo apropiado para las mujeres con riesgo, la interpretación de los resultados positivos y negativos y la consideración de la mastectomía profiláctica.

PRUEBAS DE PORTADORES

Trastornos autosómico recesivos

En los trastornos autosómico recesivos las pruebas pueden usarse para diagnosticar a una persona asintomática, evaluar personas asintomáticas con riesgo y detectar portadores y fetos afectados. Aunque el gen que causa el padecimiento autosómico recesivo puede estar bien caracterizado, la heterogeneidad alélica puede disminuir la sensibilidad de la prueba basada en el ADN por debajo de los niveles aceptables para uso diagnóstico, porque puede no ser técnicamente

factible identificar a todas las posibles mutaciones que causan enfermedad. Sin embargo, es posible que la detección de los portadores y las pruebas prenatales se realicen solo por pruebas basadas en ADN, que proporcionan información para toma de decisiones reproductivas que de otro modo no serían accesibles [ver tabla 4].

Tabla 4 Detección de portadores por medio de pruebas basadas en ADN	
• Fibrosis quística • Fenilcetonuria • Hiperplasia suprarrenal congénita • Enfermedad de Tay-Sachs	• Enfermedad de glucoproteínas deficientes en carbohidratos • Beta-talasemia

La fibrosis quística (FQ) es un ejemplo de un padecimiento autosómico recesivo de este tipo. Aunque el descubrimiento de mutaciones que causan enfermedad en el gen CFTR ha originado nuevas pruebas para la FQ y redefinido el espectro del padecimiento, los criterios diagnósticos tradicionales para la FQ clásica aún son válidos.²⁰ El diagnóstico de FQ se establece cuando el cloro en el sudor es de 80 nmol/L o mayor en presencia de datos clínicos característicos (enfermedad gastrointestinal o pulmonar típica y quizá azospermia obstructiva). En los casos dudosos puede ser útil el análisis de las mutaciones del CFTR para establecer el diagnóstico; sin embargo, el genotipo solo no puede establecer o descartar el diagnóstico de la enfermedad. Algunas personas con dos alelos anormales pueden tener otra mutación que mitigue el efecto del alelo anormal. Otros pueden tener FQ clásica sin una mutación CFTR que cause enfermedad detectable por heterogeneidad alélica. La heterogeneidad alélica en la FQ es extensa, y se conocen más de 500 mutaciones que causan enfermedad. Sin embargo, los laboratorios clínicos pueden evaluar sólo alrededor de 70 mutaciones, que corresponden al 90 por ciento de los alelos anormales. Con este método el 1 por ciento de los pacientes con FQ no tendrán alelos anormales detectables y el 18 por ciento tendrán solo un alelo anormal detectable.²⁰

Cuando se identifican dos alelos que causan la enfermedad en el sujeto, ambos padres deben ser estudiados para determinar qué padre porta qué alelo. Después pueden evaluarse los familiares de la madre y del padre en busca del alelo correspondiente. Cualquier familiar que sea portador de un alelo que causa enfermedad tiene la opción de que se realice la evaluación en su cónyuge con el panel clínicamente disponible de los 70 alelos más comunes que causan la enfermedad. Las parejas en las que ambos padres son portadores de alelos que causan la enfermedad tienen un 25 por ciento de posibilidad de tener un hijo que herede las dos mutaciones del CFTR anormal. Cuando el cónyuge no tiene mutaciones identificables, el riesgo de portador puede calcularse usando un análisis de Bayes.²¹

Cuando solo se identifica un alelo que causa la enfermedad en el sujeto, puede usarse una combinación de una prueba directa (análisis de mutación) y una indirecta (análisis de asociación). Para el padre que porta el alelo que causa la enfermedad, la evaluación de los familiares se realiza como ya se describió. Para el padre que ha transmitido una mutación CFTR no identificada, puede usarse un análisis de marcadores de ADN muy relacionados para rastrear la mutación que causa la enfermedad en la familia. El uso de marcadores muy relacionados o intragénicos puede ser más fácil que realizar una investigación extensa y costosa para buscar el alelo específico que causa la enfermedad. Las suposiciones adecuadas al usar análisis de asociación en los padecimientos autosómico recesivos son que las nuevas mutaciones del gen son extraordinariamente raras y que ambos padres de una persona afectada son portadores del gen. El análisis de asociación requiere de las muestras de sangre de ambos padres y del niño afectado. Para poder usar los resultados del análisis de

asociación para consejo genético los marcadores deben ser informativos. Esto es, los dos cromosomas del padre deben distinguirse en el locus *CFTR*. El análisis de asociación puede usarse en la prueba prenatal de los embarazos con riesgo y para la detección de portadores en toda la familia. Los cónyuges de los portadores pueden ser estudiados. Es importante hacer notar que las personas sin historia familiar de FQ (v.gr., cónyuge de un portador conocido) pueden ser evaluadas solo por métodos directos y no por análisis de asociación. Para las familias en las que no se identifica un alelo que cause enfermedad en el sujeto, el análisis de asociación puede usarse para rastrear ambos alelos *CFTR* causantes de enfermedad.

Aunque el uso de pruebas basadas en ADN es sensible y específico en las familias con riesgo alto, su uso para escrutinio de población en busca de portadores es problemático. Las pruebas basadas en ADN se han discutido en forma extensa y el Colegio Americano de Genética Médica ha recomendado su uso para el consejo genético de personas con riesgo alto pero afirma que se requieren más estudios antes de que se instituyan como método de escrutinio en población general.^{22,23}

Trastornos recesivos ligados al cromosoma X

En los trastornos recesivos ligados al cromosoma X las pruebas basadas en ADN pueden usarse para diagnosticar a varones sintomáticos y a las pocas mujeres sintomáticas, así como para detectar mujeres portadoras y fetos varones afectados. Como en los trastornos autosómico recesivos, las pruebas basadas en el ADN suelen ser la única opción para la detección de portadores y las pruebas prenatales. Las situaciones que aumentan la complejidad a la prueba de portadores para los padecimientos recesivos ligados al X son la alta frecuencia de nuevas mutaciones de genes y la posibilidad de mosaicismo de línea germinal. Las nuevas mutaciones del gen aparecen de un solo óvulo o un solo espermatozoide. El mosaicismo germinal consiste en la presencia de una mutación en algunas células de línea germinal (óvulos o espermatozoides) que no se encuentran en otras células de línea germinal o células somáticas. Una mujer con un mosaicismo de línea germinal para una mutación genética da un resultado negativo en los leucocitos pero puede tener más de un niño afectado.

La distrofia muscular de Duchenne es un ejemplo de un padecimiento recesivo ligado al X. La detección de portadores en la DMD puede ser problemática porque un número significativo de varones con DMD son casos únicos en una familia. Existen las siguientes tres probabilidades del mismo peso para los varones con DMD que tienen historia familiar negativa: (1) El varón afectado tiene una mutación genética nueva. En este caso su madre no porta el alelo que causa la enfermedad y sus familiares mujeres no tienen riesgo de ser portadoras del alelo alterado. (2) Su madre porta una mutación genética nueva. Esto coloca a sus hijas, pero no hermanas, con riesgo de ser portadoras del alelo alterado. (3) Su abuela materna porta una nueva mutación genética. Esto hace que sus hijas puedan ser portadoras del alelo alterado. Por lo tanto, en las familias en las que existe un solo caso de DMD, el consejo sobre el riesgo de recurrencia depende de establecer cuáles de las mujeres son portadoras de la mutación que causa la enfermedad.

Se usa el siguiente paradigma de pruebas y consejo sobre el riesgo de recurrencia: se realizan pruebas de ADN en el sujeto varón con DMD para establecer el diagnóstico molecular. Cuando se identifica una mutación en el gen de la *distrofina* se busca la misma mutación en una muestra de sangre de la madre del sujeto. Cuando ella tiene la misma mutación que su hijo, se le aconseja sobre el riesgo de que el 50 por ciento de sus hijos se afecten y sus hijas sean portadoras. Es adecuado investigar en la abuela la presencia de la misma mutación que causa la enfermedad. Cuando la prueba en la madre del sujeto es negativa para esta mutación existen dos posibilidades: el hijo tiene una mutación genética nueva o la madre tiene mosaicismo de línea germinal, que ocurre en alrededor del 20 por ciento de las mujeres en esta situación. Si el hijo tiene una mutación genética nueva, la madre no tiene mayor riesgo de tener otros hijos afectados ni las otras mujeres en la familia serán portadoras. Si la madre tiene mosaicismo de línea germinal, tiene riesgo de tener hijas portadoras y más hijos afectados. Sin embargo, sus hermanas no tienen riesgo de ser portadoras.

Cuando no se identifica la mutación en el varón afectado el análisis de asociación para la detección de portadores es más eficaz cuando existe por lo menos otro varón afectado en la familia y se pueden obtener muestras de ADN. Como en todos los estudios de asociación, los marcadores ADN usados para rastrear el gen no pueden determinar si el alelo en el locus es normal o anormal. El estudio de asociación en sí no puede detectar mutaciones genéticas nuevas y puede usarse solo para aclarar el estado genético de la descendencia de las mujeres que se sabe son portadoras del alelo que causa la enfermedad.

PRUEBAS PRENATALES

Historia familiar positiva

Se dispone de pruebas en fetos usando metodologías basadas en ADN que pueden ofrecerse a las parejas con riesgo de tener un hijo con un padecimiento autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado al X en los que se ha identificado una mutación (o mutaciones) genética específica en la familia. La evaluación genética previa debe establecer la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo de las pruebas disponibles, y debe ofrecerse consejo genético para proporcionar a la familia una oportunidad de revisar sus opciones de reproducción. Para proporcionar información oportuna sobre suspensión del embarazo, la prueba de ADN debe realizarse en tejidos obtenidos de las vellosidades coriónicas entre las 9 y 11 semanas de gestación o por amniocentesis en las 16 a 18 semanas de gestación.

Datos que sugieren un trastorno genético

Las pruebas prenatales con metodologías basadas en el ADN pueden ser parte de la evaluación diagnóstica de un feto que no se sabe que tenga riesgo aumentado para un trastorno genético pero que es evaluado por alteraciones detectadas durante la vigilancia habitual del embarazo. Cuando se detectan datos sospechosos al inicio del embarazo puede realizarse diagnóstico basado en el ADN si se considera la suspensión del embarazo. Cuando las alteraciones no son aparentes sino hasta el tercer trimestre el diagnóstico debe iniciarse con fines de planear el tratamiento perinatal. Por ejemplo, los datos por ultrasonidos de obstrucción intestinal con meconio hiperecótico justifican un análisis de mutación del *CFTR*. Esta prueba puede realizarse en el ADN de amniocitos obtenidos por amniocentesis después de la semana de gestación 16 cuando el tiempo no es un problema o por leucocitos obtenidos de una muestra percutánea de sangre umbilical cuando el resultado se requiere en forma urgente.

Consulta genética

La evaluación genética y el consejo consecuente son parte integral de las pruebas genéticas. La consulta genética es tan importante para la atención del paciente con un trastorno genético como la prueba en sí. ²⁴⁻²⁶ La evaluación genética es el proceso de información que pone en contacto al paciente y su familia con un trastorno genético conocido o sospechoso. El consejo genético es el proceso de ayudar a los pacientes a comprender la naturaleza y causa del trastorno heredado y a colocar al paciente en posición de poder tomar decisiones médicas y personales informadas. ^{24,26,27}

Los genetistas son los principales encargados de proporcionar evaluaciones y consejo genético. Entre ellos se incluyen médicos, consejeros y enfermeras especializados. Los médicos genetistas tienen un entrenamiento de posgrado en genética médica en un programa reconocido y están certificados por el *American Board of Medical Genetics* (en EUA). Los consejeros en genética tienen un grado de maestría en consejo genético obtenido en un programa acreditado y están certificados por el *American Board of Medical Genetics* o el *American Board of Genetic Counseling*.

La evaluación genética consiste en reunir información antes de una visita clínica y durante la parte inicial de la misma,

que suele tener 1 hora de duración. Esto incluye obtener la siguiente información sobre el paciente o su familia: el motivo de envío, la historia familiar, incluyendo los familiares en primero y segundo grado del paciente, información adicional directa familiar respecto al diagnóstico conocido o sospechado proporcionada por el paciente u otros familiares, historia prenatal y perinatal, historia médica previa e información sobre crecimiento, desarrollo, educación y empleo. Además, se evaluará la función familiar, identificando aspectos éticos potenciales y se realizará un examen físico del paciente y si es necesario de otros familiares.

Una vez reunida toda la información se proporcionará consejo genético. El análisis con el paciente y su familia debe incluir un resumen de la información obtenida, el diagnóstico posible y el grado de certeza con base en la información disponible, las pruebas y evaluaciones que se recomiendan para establecer el diagnóstico o tratamiento del paciente, la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo de dichas pruebas, la historia natural del padecimiento, incluyendo el pronóstico, el patrón de herencia, incluyendo la penetrancia y expresividad y el riesgo de recurrencia de las personas afectadas y con riesgo, incluyendo las opciones reproductivas y de diagnóstico prenatal. Se analizarán el tratamiento médico y la necesidad de referir a un especialista médico apropiado, lo mismo que aspectos psicológicos incluyendo una guía para el paciente y la familia y la existencia de servicios de apoyo en la comunidad. También deben tratarse aspectos concernientes al resto de la familia. Los familiares que vivan en otros sitios deben ser referidos a los servicios genéticos disponibles en su localidad. Las visitas clínicas y las sesiones de consejo genético deben acompañarse de resúmenes detallados susceptibles de ser distribuidos a la familia y otros médicos. Con frecuencia se envían cartas de resumen a los familiares. Se planea un seguimiento a corto plazo para contar con los resultados de las pruebas u otra información y un seguimiento a largo plazo (intervalos de 2 a 5 años) para el tratamiento de rutina y la actualización de los datos.

Dificultades con las pruebas basadas en ADN para los trastornos hereditarios

FALTA DE CONOCIMIENTO DE LA DISPONIBILIDAD DE LA PRUEBA

Para muchos trastornos hereditarios no se dispone de pruebas de genética molecular porque no se conoce el gen o genes causales. En otros casos se conoce el gen pero la sensibilidad de la prueba es menor que la de la evaluación clínica y la prueba sólo se realiza con fines de investigación (v.gr., síndrome de Marfán). Con frecuencia se conoce el gen y aunque existe la posibilidad teórica de una prueba clínica, los laboratorios no la ofrecen por el alto costo de estas pruebas que son complejas y que se realizan en un volumen muy bajo por lo raro de los padecimientos. En otros casos se conocen los genes causales y las pruebas existen solo en áreas de investigación, aunque en un futuro se dispondrá de pruebas clínicas (v.gr., para la cardiomiopatía hipertrófica autosómico dominante).^{28,29} La rápida transmisión de pruebas de los laboratorios de investigación a la práctica clínica hace difícil incluso para los que están familiarizados en las pruebas genéticas mantenerse al tanto de los nuevos adelantos. Para quienes no están familiarizados con las pruebas genéticas y su aplicación en la atención de los pacientes la labor es aún más complicada.³⁰

El servicio de pruebas genéticas Helix (206-527-5742) en el Children's Hospital and Regional Medical Center de Seattle está diseñado para remediar este aspecto.³¹ El servicio Helix sirve como un directorio para ayudar a los profesionistas en atención para la salud a identificar los laboratorios clínicos y de investigación que ofrecen pruebas sobre padecimientos hereditarios. Para abril de 1998 Helix contenía la lista de más de 550 enfermedades para las cuáles se ofrecían pruebas en más de 330 laboratorios. Los laboratorios clínicos se definen como los que examinan muestras humanas y reportan los resultados para fines de diagnóstico, prevención o tratamiento de pacientes individuales, y deben estar autorizados por los CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) en los EUA.³² Los laboratorios de investigación no proporcionan resultados de las pruebas para usarse en la atención de pacientes y están exentos de la regulación de los CLIA. El Helix fue fundado por la *National Library of Medicine* (NLM) de los *National Institutes of Health* (NIH) y el *Maternal Child Health Bureau* (MCHB) de la Health Resources and Services Agency (HRSA) de los EUA. Los laboratorios se inscriben en Helix sin cargo y tampoco cuesta el uso del directorio.

COMPLEJIDAD DE LAS METODOLOGÍAS DE LAS PRUEBAS Y LOS MODOS DE HERENCIA

Los médicos pueden no estar familiarizados con el uso y limitaciones de las pruebas con base en ADN para la atención de sus pacientes. Giardiello y colaboradores²⁵ determinaron que casi el 20 por ciento de los clínicos que solicitaron pruebas de APC para la PAF usaron la estrategia equivocada. Estos investigadores observaron también que el 34 por ciento de los clínicos que ordenaron la prueba fueron incapaces de identificar e interpretar los resultados falsos negativos. Varios conceptos genéticos que son intrínsecos para el uso correcto de las pruebas pueden ser confusos: (1) la heterogeneidad del locus, en el que un fenotipo idéntico es causado por mutaciones en más de un locus (v.gr., se sabe que genes en tres diferentes loci causan la esclerosis tuberosa), por lo que la prueba negativa en un locus no descarta la enfermedad; (2) heterogeneidad alélica, en la que múltiples mutaciones que causan la enfermedad en un locus reducen la sensibilidad de la prueba molecular a un nivel por debajo del aceptable para usarse en el diagnóstico, aunque no para consejo sobre el riesgo de recurrencia; y (3) los fenotipos son redefinidos con base en los datos genéticos moleculares (v.gr., enfermedades con repetición de trinucleótidos, FQ y las distrofinopatías, incluyendo DMD, DMB y cardiomiopatía dilatada ligada al X).

GeneClinics: Base de Conocimientos sobre Genética Médica, que es un proyecto apoyado por los NIH y desarrollado por la Universidad de Washington, está diseñado para ayudar a los clínicos a relacionar la información de las pruebas genéticas para la atención de los pacientes. Consiste en perfiles de enfermedad revisados por expertos que contienen resúmenes sobre la información de las pruebas genéticas que es importante para el diagnóstico, tratamiento y consejo genético de los pacientes y familias con enfermedades hereditarias.

CONFUSION ENTRE PRUEBAS DIAGNOSTICAS Y PRUEBAS PARA LA TOMA DE DECISIONES PERSONALES

La superposición de estos dos paradigmas puede causar confusión en relación con aspectos de costo-eficacia, necesidad médica, privacidad y discriminación. Así como la aplicación de las pruebas para la atención del paciente depende del contexto, la consideración de estos aspectos sociales se basa también en las circunstancias específicas.

MUCHOS PACIENTES CON ENFERMEDADES GENETICAS NO SON REFERIDOS A SERVICIOS ESPECIALIZADOS

Giardiello y colaboradores determinaron que solo el 18 por ciento de los pacientes a los que se pidió una prueba predictiva de PAF, un padecimiento autosómico dominante con penetrancia del 100 por ciento y riesgo asociado de cáncer de 100 por ciento a los 40 años, recibió consejo genético. Una investigación reciente de 600 médicos de atención primaria en Oregon reveló que el 20 por ciento de los internistas no sabía si existía algún servicio genético a quien consultar. Además, la mayoría consideró que no necesitaba referir a sus pacientes para consejo genético y prefirió ofrecer por sí mismo la orientación sobre el riesgo.³³ Se ha enfatizado la necesidad de que los médicos de atención primaria comprendan y usen los servicios genéticos.^{30,34,35} Posibles explicaciones respecto a la subutilización de los servicios genéticos son la llamada brecha terapéutica entre el diagnóstico y la predicción de las enfermedades y la posibilidad de tratar o prevenirlas,³⁶ la restricción real o aparente de las políticas de reembolso a los profesionistas de la salud y la preocupación por aspectos sociales y éticos que parecieran hacer que las pruebas genéticas se salgan del campo de la medicina tradicional.³⁷ El cambio en el uso de algunas pruebas genéticas del papel diagnóstico al papel de escrutinio (v.gr., factor V de Leiden) puede desplazar la importancia de las pruebas de la evaluación de familiares con riesgo y consejo genético hacia un papel más amplio relacionado con atención para la salud de la población general.

Conclusión

No existe duda de que con el progreso continuo del Proyecto Genoma Humano, el entusiasmo del medio por reportar

nuevos descubrimientos de genes y otros adelantos genéticos, el mayor acceso del paciente a la información (en especial por Internet) y la posibilidad de dirigir el mercado de las pruebas genéticas hacia el público, el uso cuidadoso de las pruebas genéticas será esencial para una buena práctica médica y el uso adecuado del consejo genético será indispensable para la mejor atención del paciente.

Bibliografía

1. La Spada AR: Trinucleotide repeat instability: genetic features and molecular mechanisms. *Brain Pathol* 7:943, 1997
2. Nance MA: Clinical aspects of CAG repeat diseases. *Brain Pathol* 7:881, 1997
3. Durr A, Cossee M, Agid Y, et al: Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Engl J Med* 335:1169, 1996 [PMID 8815938]
4. Majerus PW: Bad blood by mutation. *Nature* 369:14, 1994
5. Simioni P, Prandoni P, Lensing AWA, et al: The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with an Arg506®Gln mutation in the gene for factor V (factor V Leiden). *N Engl J Med* 336:399, 1997 [PMID 9010145]
6. Briet E, van der Meer FJ, Rosendal FR, et al: The family history and inherited thrombophilia. *Br J Haematol* 87:348, 1994 [PMID 7947278]
7. Vandenbroucke JP, van der Meer FJM, Helmerhorst FM, et al: Factor V Leiden: should we screen oral contraceptive users and pregnant women? *BMJ* 313:1127, 1996
8. Reitter B, Goebel HH: Dystrophinopathies. *Sem Pediatr Neurol* 3:99, 1996
9. Yau SC, Bobrow M, Mathew CG, et al: Accurate diagnosis of carriers of deletions and duplications in Duchenne/Becker muscular dystrophy by fluorescent dosage analysis. *J Med Genet* 33:550, 1996 [PMID 8818939]
10. Yamagishi H, Kato S, Hiraishi T, et al: Identification of carriers of Duchenne/Becker muscular dystrophy by a novel method based on detection of junction fragments in the dystrophin gene. *J Med Genet* 33:1027, 1996 [PMID 9004137]
11. Offit K: *Clinical Cancer Genetics: Risk Counseling and Management*. Wiley-Liss, New York, 1998
12. Winawer SJ, Fletcher RH, Miller L, et al: Colorectal cancer screening: clinical guidelines and rationale. *Gastroenterology* 112:594, 1997 [PMID 9024315]
13. Gallie BL: Predictive testing for retinoblastoma comes of age. *Am J Hum Genet* 61:279, 1997
14. Lohmann DR, Brandt B, Hopping W, et al: The spectrum of RB1 germ-line mutations in hereditary retinoblastoma. *Am J Hum Genet* 58:940, 1996 [PMID 8651278]

15. Noorani HZ, Khan HN, Gallie BL, et al: Cost comparison of molecular versus conventional screening of relatives at risk for retinoblastoma. *Am J Hum Genet* 59:301, 1996 [PMID 8755916]
16. McKinnon WC, Baty BJ, Bennett RL, et al: Predisposition genetic testing for late-onset disorders in adults: a position paper of the National Society of Genetic Counselors. *JAMA* 178:1217, 1997
17. Pokorski RJ: Insurance underwriting in the genetic era. *Am J Hum Genet* 60:205, 1997
18. Points to consider: ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents. ASHG/ACMG Report. *Am J Hum Genet* 57:1233, 1995
19. Burke W, Daly M, Garber J, et al: Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer: II. *BRCA1* and *BRCA2*. *JAMA* 277:997, 1997
20. Stern RC: The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 336:487, 1997
21. Curnow RN: Carrier risk calculations for recessive diseases when not all the mutant alleles are detectable. *Am J Med Genet* 52:108, 1994
22. Genetic Testing for Cystic Fibrosis. NIH Consensus Statement 1997, Apr 14-16, 15(4):1
23. ACMG Statement on Genetic Testing for Cystic Fibrosis. ACMG Consensus Statement 1997, Oct 28
24. Assessing Genetic Risks: Implications for Health and Social Policy. Andrews LB, Fullarton JE, Holtzman NA, et al, Eds. National Academy Press, Washington, DC, 1994
25. Giardiello FM, Brensinger JD, Petersen GM, et al: The use and interpretation of commercial *APC* gene testing for familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 336:823, 1997
26. Marymee K, Dolan CR, Pagon RA, et al: Development of critical elements of genetic evaluation and genetic counseling for genetics professionals and perinatologists in Washington State. *J Genetic Counseling* 7:133, 1998
27. Schneider KA: Counseling about Cancer: Strategies for Genetic Counselors. Katherine A. Schneider, Boston, Massachusetts, 1994
28. Maron BJ: Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 350:127, 1997
29. Yu B, French JA, Jeremy RW, et al: Counseling issues in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Med Genet* 35:183, 1998 [PMID 9541100]
30. Cotton P: Prognosis, diagnosis, or who knows? Time to learn what gene tests mean. *JAMA* 273:93, 1995
31. Sikorski R, Peters R: Genomic medicine: Internet resources for medical genetics. *JAMA* 278:1212, 1997 [PMID 9340374]
32. Clinical improvements amendments. *Federal Register*. February 28, 1992; 57:40
33. Stephenson J: As discoveries unfold, a new urgency to bring genetic literacy to physicians. *JAMA* 278:1225, 1997

34. Touchette N, Holtzman NA, Davis JG, et al: Toward the 21st Century: Incorporating Genetics into Primary Health Care. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997
35. Seashore MR, Wappner RS: Genetics in Primary Care & Clinical Medicine. Appleton & Lange, Stamford, Connecticut, 1996
36. Holtzman NA, Watson MS: Promoting safe and effective genetic testing in the United States: final report of the task force on genetic testing. National Institutes of Health/Department of Energy, Sept 1997
37. McCrory SV, Allen B, Moseley R, et al: Ethical and practical implications of the human genome initiative for family medicine. Arch Fam Med 2:1158, 1993