



1 de junio de 2014 | Vol. 15 | Núm. 6 | ISSN 1607 - 6079

# ARTÍCULO

## **EL NUEVO ABORDAJE DE LAS ENFERMEDADES MENDELIANAS**

*Alessandra Carnevale*

## EL NUEVO ABORDAJE DE LAS ENFERMEDADES MENDELIANAS

### Resumen

Con el advenimiento de las técnicas moleculares y genómicas se ha facilitado enormemente el mapeo y caracterización de los genes y de las mutaciones responsables de las enfermedades y defectos mendelianos. Con esto se pueden conocer mejor los mecanismos moleculares que causan la enfermedad y buscar mejores métodos diagnósticos y tratamientos más precisos y personalizados. Los estudios realizados hasta ahora muestran que nuestra población difiere de otras y es heterogénea, por lo cual se requiere conocer la frecuencia de las mutaciones e identificar aquellas que no se han descrito en otros países.

“

Las enfermedades y defectos mendelianos o monogénicos son aquellos causados por una mutación en un sólo gen.

”

tratan que nuestra población difiere de otras y es heterogénea, por lo cual se requiere conocer la frecuencia de las mutaciones e identificar aquellas que no se han descrito en otros países.

**Palabras clave:** Enfermedades raras, enfermedades mendelianas, genes causales, mutaciones.

### THE NEW APPROACH OF MENDELIAN DISORDERS

#### Abstract

*Molecular and genomic technologies have allowed the mapping and identification of genes and mutations causing mendelian disorders. With these findings it is possible to understand the mechanisms underlying the diseases and search for novel and personalized treatments. Studies in Mexican patients with different mendelian disorders have demonstrated marked differences in frequency of mutations and novel DNA variants showing the need of studying our population.*

**Keywords:** Rare disorders, mendelian diseases, causal genes, mutations.

## EL NUEVO ABORDAJE DE LAS ENFERMEDADES MENDELIANAS

### Introducción

Las enfermedades y defectos mendelianos o monogénicos son aquellos causados por una mutación en un sólo gen. Las mutaciones son variantes en los genes, capaces de alterar la función de la proteína codificada por el gen, de tal forma que a) no se produce, b) se produce en cantidad disminuida, c) es inestable, d) no funciona adecuadamente, e) se incrementa su función o f) se expresa de manera inapropiada en tiempo o sitio. Estas variantes genéticas producen un gran número de defectos o enfermedades poco frecuentes. De acuerdo con la ubicación de los genes, se clasifican en autosómicos y ligados al sexo, y de acuerdo a si se manifiestan en estado heterocigoto u homocigoto, se clasifican en dominantes o recesivos.

Durante mucho tiempo, en el siglo XX, el diagnóstico de las enfermedades mendelianas se basó únicamente en las manifestaciones clínicas y la forma de herencia. Se completaba el estudio clínico de los pacientes con exámenes de laboratorio, estudios bioquímicos y de gabinete, como radiografías, electrocardiograma, electromiografía, entre otros, para precisar lo más posible el diagnóstico. De esta forma, se describieron las características clínicas detalladas de un gran número de enfermedades autosómicas dominantes, autosómicas recesivas, ligadas al X dominantes y recesivas. (McKUSICK, 1988, OMIM).

Sin embargo, aunque se conocía el fenotipo, es decir las características clínicas de las enfermedades genéticas, se desconocía el genotipo, es decir, cuál era el gen alterado. Por lo tanto, no se conocía el defecto molecular y los mecanismos que causaban la mayoría de estas enfermedades. Las perspectivas de tratamiento eran muy pobres.

### El abordaje genómico

A partir de los años ochentas, la introducción de las técnicas de biología molecular facilitó el descubrimiento de marcadores polimórficos muy útiles para mapear genes responsables de enfermedades mendelianas. Así, en 1983 se mapeó en el brazo corto del cromosoma 4 el gen cuya mutación causaba la enfermedad de Huntington, pero no fue sino hasta 10 años después que se pudo clonar el gen e identificar el tipo de mutación que produce la enfermedad. De hecho, antes del Proyecto del Genoma Humano, se conocían alrededor de 70 genes responsables de enfermedades mendelianas, mientras que en la actualidad los espectaculares avances tecnológicos han facilitado de tal manera el mapeo de los genes que ya se conocen más de 3000.

La secuenciación de nueva generación (NGS) es particularmente una excelente opción para la búsqueda de mutaciones en genes conocidos, así como para el descubrimiento de nuevos genes causantes de enfermedades mendelianas. Hay que considerar que los equipos de NGS son mucho más rápidos que los equipos de secuenciación capilar y generan una enorme cantidad de datos genómicos en poco tiempo, pero tienen algu-

nas limitaciones técnicas, ya que se puede dificultar la identificación de algunas deleciones grandes y de algunos rearrreglos complejos. Por otra parte, el costo es más elevado, se requiere de personal técnico altamente especializado y el análisis bioinformático de las variantes es mucho más complicado.

Sin embargo, esta opción resulta sumamente útil para estudiar a los pacientes con enfermedades que muestran heterogeneidad genética, como la retinitis pigmentosa, la sordera neurosensorial, la osteogénesis imperfecta, entre otras. En estos padecimientos el mismo cuadro clínico es causado por mutaciones en diferentes genes con diferente forma de herencia, pronóstico o complicaciones, y es necesario hacer el diagnóstico molecular de manera oportuna para ofrecer el tratamiento adecuado y proporcionar asesoramiento genético de acuerdo con el genotipo del paciente.

Mencionaré un ejemplo en el cual se está trabajando en el Instituto Nacional de Medicina Genómica en colaboración con el Instituto Nacional de Cardiología (INCar): la cardiomiopatía dilatada idiopática y familiar. La cardiomiopatía dilatada es la primera causa de insuficiencia cardíaca en el INCar y se sabe que en alrededor de la mitad de los pa-

### Mutación

Cambio estable en la secuencia del ADN, es decir que se hereda a la siguiente generación.

Fuente: INMEGEN.

cientes es idiopática (de causa desconocida) o familiar, y que entre el 30 y 50% de los casos idiopáticos es de origen genético. Se han descrito mutaciones en aproximadamente 40 genes causantes de la cardiomiopatía dilatada (CMD) y, de estos, treinta están bien caracterizados. En México no se han hecho estudios encaminados a buscar las mutaciones en la CMD idiopática y familiar. Puesto que el estudio de otras enfermedades genéticas ha demostrado la gran heterogeneidad de la población mexicana, es necesario estudiar a nuestros pacientes mediante NGS para identificar cuáles son las mutaciones más frecuentes en ellos. Con este propósito se diseñó un kit específico que nos permite secuenciar los treinta genes en un secuenciador (Personal Genome Machine) que se caracteriza por su bajo costo, su calidad, simplicidad y rapidez, con el que hemos iniciado el trabajo con los primeros pacientes mexicanos.

Esperamos encontrar pacientes con las mutaciones ya descritas, pero es muy probable que identifiquemos a otros con variantes no descritas en alguno de los 30 genes. En ese momento habrá que realizar el análisis de las bases de datos públicas que predicen si esa variante es funcional y si puede ser la causante de la enfermedad. Para ello es también muy útil hacer un análisis de segregación, que significa estudiar varios miembros de la familia afectados y sanos y buscar si los familiares afectados la tienen y los sanos no la tienen. Con este tipo de estudios se puede finalmente concluir si la variante es una mutación causante de la enfermedad.

Por otra parte, a pesar de que se ha caracterizado un gran número de genes, sigue habiendo pacientes con síndromes muy raros que se han descrito en pocas familias o que son esporádicos, cuya causa se desconoce y en los cuales la NGS, particularmente la secuenciación de exoma completo, es la herramienta genómica idónea para identificar el gen responsable.

La secuenciación de exoma completo es una técnica posible y costo efectiva porque el exoma es sólo alrededor del 2% del genoma y, por lo tanto, se simplifica mucho el análisis. Además, las variantes causantes de padecimientos mendelianos son altamente penetrantes y alteran de manera significativa el producto del gen, por lo cual es muy probable que se encuentren en el exoma que es la porción codificante del genoma. De hecho, lo más costoso de la técnica es lo que se denomina el enriquecimiento del exoma, que es el aislarlo y amplificarlo para poder secuenciarlo, mientras que lo más laborioso es identificar las posibles variantes causales y el gen candidato que sea el responsable de la enfermedad.

Así es como el abordaje genómico de las enfermedades mendelianas nos conduce a la medicina de precisión en cuanto al diagnóstico, y personalizada ya que al identificar la mutación específica del paciente, será posible ofrecerle un medicamento de acuerdo con la mutación y proporcionar un asesoramiento genético adecuado, así como estudiar a los familiares en riesgo de padecer la enfermedad.

## Los beneficios del abordaje genómico

Debemos tener muy presentes los enormes beneficios que aportan el descubrimiento del gen y la caracterización de las mutaciones causantes de un defecto o de un padecimiento mendeliano:

1. Realizar el diagnóstico molecular de la enfermedad, lo cual se puede practicar en cualquier momento de la vida, ya sea antes de nacer, al nacimiento, o bien, antes de que aparezcan las manifestaciones clínicas. Esto ofrece la posibilidad de iniciar un tratamiento durante el desarrollo intrauterino, así como de interrumpir el embarazo en caso de un padecimiento grave y sin un tratamiento adecuado. También es posible iniciar un tratamiento al nacimiento o antes de que aparezcan los primeros síntomas y así evitar o atrasar la aparición de la enfermedad. Este es el caso de diversas enfermedades metabólicas para las cuales existe tratamiento, como son la Enfermedad de Gaucher, la enfermedad de Pompe (enfermedades por atesoramiento lisosomal) o la fenilcetonuria, entre otras.
2. Cuando se trata de enfermedades recesivas, conocer la mutación permite identificar a los portadores y proporcionar asesoramiento genético a las parejas en riesgo o a las mujeres portadoras de mutaciones recesivas ligadas al X, como la hemofilia o la distrofia muscular tipo Duchenne.
3. Los avances más significativos en el conocimiento de la fisiopatología de las enfermedades mendelianas se deben, sin duda, al descubrimiento y caracterización del gen y de la proteína cuya función se altera cuando ocurre una mutación. Así, por ejemplo, cuando se clonó y se caracterizó el gen responsable de la fibrosis quística, se identificó que la proteína codificada por el gen CFTR es un canal de cloro que tiene una importante función en el transporte del agua y electrolitos a través de la membrana apical de las células epiteliales, lo cual explica las manifestaciones clínicas de la enfermedad. La alteración en el flujo del cloro, agua y sodio a través del epitelio bronquial provoca que las secreciones sean espesas y viscosas, y faciliten tanto

- las infecciones pulmonares como la obstrucción de los bronquios con el consecuente daño pulmonar progresivo, que es la principal causa de morbilidad y de mortalidad de los pacientes. Por otra parte, se obstruyen los túbulos del páncreas, no se secretan las enzimas pancreáticas y los niños afectados tienen diarrea y pérdida de grasa en las heces, lo que les impide crecer adecuadamente. Otra manifestación es la elevación de cloruros en la piel, por lo que las mamás perciben que su niño tiene la piel salada. A la fecha se han descrito alrededor de 1800 diferentes mutaciones en el gen CFTR que se dividen en 6 diferentes clases: clase I: No se sintetiza el canal de cloro (p.G542X); clase II: la maduración es defectuosa (p.F508del); clase III: la actividad del canal es nula o alterada (p.G551D); clase IV: la actividad es parcial (p.A455E); clase V: se sintetiza menor cantidad de CFTR; clase VI: es inestable. Las mutaciones clase I, II y III son graves mientras que las otras son leves, ya que hay actividad parcial del canal.
4. Finalmente, es claro que al conocer la función de la proteína alterada, se pueden desarrollar tratamientos que actúen sobre las consecuencias directas de la anomalía. Así, en el caso de la fibrosis quística los pacientes se tratan con enzimas pancreáticas, antibióticos, agentes que fluidifican las secreciones (DNAasa recombinante humana) o fisioterapia respiratoria, trasplante pulmonar, entre otras acciones. Más recientemente se han desarrollado tratamientos moleculares que son personalizados en el sentido de que se proporcionan al paciente que tiene una determinada mutación. Desde hace algunos años se ha propuesto que la Curcumina mejora el transporte de la proteína mutante p.F508del a la membrana apical de las células, sin embargo, a la fecha todavía no se ha podido utilizar con éxito. Por otra parte, se ha sintetizado un agente, el PTC124, cuyo nombre comercial es Ataluren, que corrige el codón STOP en mutaciones tipo I como la p.G542X, y que ya está aprobado por la FDA como medicamento huérfano (se utiliza también en los casos de distrofia Muscular tipo Duchenne debidos a mutaciones stop). También se están desarrollando agentes que aumenten la actividad residual del CFTR en mutaciones tipo III y IV, como la p.G551D y la p.A455E y, muy recientemente, la FDA aprobó el Ivacaflor.

Los estudios realizados hasta la fecha muestran que la frecuencia de las mutaciones en los genes que causan enfermedades mendelianas difiere entre las poblaciones, y que la mayoría se han llevado a cabo en poblaciones de origen europeo. Por otra parte, debemos recordar que la población mexicana es sumamente heterogénea y es producto de la mezcla de nativos americanos con europeos y africanos. Diversos artículos demuestran que la frecuencia de mutaciones y de variantes genéticas causantes o asociadas a diferentes enfermedades difiere en los pacientes mexicanos, quienes además presentan mutaciones que no se han descrito en otros países. En consecuencia, es necesario estudiar nuestra propia población para desarrollar plataformas de diagnóstico genético adecuadas a las características genéticas de nuestros pacientes.

El ejemplo de la fibrosis quística es muy claro, ya que mientras la mutación p.F508del se encuentra en 66% de los pacientes a nivel mundial, en México sólo se encontró en 44.6% de 230 pacientes analizados. Además, el estudio indica que con el uso de diferentes estrategias disponibles en el Instituto nacional de Pediatría se identificaron 46 diferentes mutaciones y se caracterizó 77% de los alelos. Se utilizó como una estrate-

gia el kit CFTR36 que se comercializa en EUA, diseñado para detectar 36 mutaciones frecuentes en población de origen europea; el resultado fue que en los pacientes mexicanos sólo se encontraron 19 de dichas mutaciones. En otro estudio realizado en México para caracterizar las mutaciones en el gen de la fenilalanina hidroxilasa que produce la fenilcetonuria, los autores secuenciaron el gen en 47 pacientes y encontraron 2 mutaciones nuevas, y una de ellas, la (c.60+5G>T), se identificó en 10 de 11 casos provenientes del estado de Jalisco y con esto se demostró el efecto fundador en esa región del país. Los pacientes con fenilcetonuria se tratan con una dieta pobre en este aminoácido y además con tetrahydrobiopterin (BH4) en los pacientes respondedores, pero los portadores de la mutación con c.60+5G>T no responden, por lo cual resulta importante identificarlos para no administrar inútilmente un medicamento costoso.

## Medicina personalizada en psiquiatría, salud mental y adicciones

Estos ejemplos nos muestran que la población mexicana es genéticamente heterogénea y que es indispensable estudiar a nuestros pacientes con la tecnología que ahora nos ofrece la genómica para identificar las mutaciones que causan las enfermedades mendelianas.

Sin embargo, estamos conscientes de que los defectos genéticos son poco frecuentes y el

desarrollo de los posibles medicamentos es sumamente caro. Esto produce presiones económicas que ponen en riesgo la transición de la fase experimental a la fase de aplicación y de comercialización. Otro riesgo es que surjan conflictos de interés entre los médicos, los pacientes y la industria farmacéutica y que finalmente los avances biológicos y genómicos no beneficien a los pacientes tan rápidamente como debería o que se creen inequidades para el acceso a los servicios o a los medicamentos.

El reto es sin duda, desarrollar nuevos procedimientos diagnósticos y nuevos tratamientos efectivos, así como llevarlos al mercado de una manera que sea socialmente sustentable.

### Mapeo genético

El proceso de elaborar representaciones esquemáticas del ADN mostrando las posiciones relativas de genes y/o marcadores en los cromosomas.

Fuente: INMEGEN.

## Bibliografía

- [1] ALCÁNTARA-ORTIGOZA MA, González-del Angel A, Barrientos-Ríos R, Cupples C, Garrido-García LM, de León-Bojorge B, Alva-Chaire Adel C. "Screening of late-onset Pompe disease in a sample of Mexican patients with myopathies of unknown etiology: identification of a novel mutation in the acid alpha-glucosidase gene". *J Child Neurol*. 2010, 25(8), p. 1034-7.
- [2] CHACÓN-CAMACHO OF, Jitskii S, Buentello-Volante B, Quevedo-Martínez J, Zenteno JC. "Exome sequencing identifies RDH12 compound heterozygous mutations in a family with severe retinitis pigmentosa". *Gene*. 2013, 528(2), p. 178-82.
- [3] CHÁVEZ-SALDAÑA M, Yokoyama E, Lezana JL, Carnevale A, Macías M, Vigueras RM, López M, Orozco L. "CFTR allelic heterogeneity in Mexican patients with cystic fibrosis: implications for molecular screening". *Rev Invest Clin*, 2010, 62, p. 546-52.
- [4] GUÉANT-RODRIGUEZ RM *et al.* "Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 677T and 1298C alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations". *Am J Clin Nutr*. 2006, 83(3), p. 701-7.
- [5] OROZCO L, Chávez M, Saldaña Y, Velásquez R, Carnevale A, González del Angel A, Jiménez S. "Cystic fibrosis: molecular update and clinical implications". *Rev Invest Clin (Mex)*. 2006, 58, p. 139-52.
- [6] VAN DEN BERGEN JC *et al.* "Clinical characterization of Becker muscular dystrophy patients predicts favourable outcome in exon-skipping therapy". *Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014, 85(1), p. 92-8.