

## CALIDAD DE VIDA

### Experiencia con enfermedades hereditarias incapacitantes

Patricia Cuenca Berger y Fernando Morales Montero  
Instituto de Investigaciones en Salud (INISA)  
Escuela de Biología,  
Universidad de Costa Rica@cariari.ucr.ac.cr

Entre las mutaciones a nivel molecular responsables de causar enfermedades genéticas en el ser humano, tradicionalmente se conocían: 1.- cambios de un nucleótido por otro. 2.- pérdida de uno o varios nucleótidos. 3.- ganancia de uno o más nucleótidos. En todos los casos se altera la estructura y tamaño del ARN mensajero y finalmente la proteína producida por el gen mutado. El efecto a nivel funcional de estas mutaciones depende: por una parte de cuál región del gen esté afectada, por ejemplo el codón de iniciación, el codón de terminación, un intrón, uno o varios exones, las regiones reguladoras, etc. (Ver figura 1); y por otra, a cual región de la proteína esté afectando.

En la última década se describió un nuevo tipo de mutación causante de enfermedades hereditarias. En condiciones normales, regiones específicas de algunos genes están constituidas por repeticiones de una tripleta (CAG, CGG, etc.) Estas nuevas mutaciones consisten en una amplificación de tripletas o trinucleótidos en alguna región del gen responsable en cada uno de los casos. Se les llama inestables o dinámicas, porque se ha observado que el tamaño de la secuencia repetida cambia cuando las células pasan por divisiones, ya sean

meiosis en los procesos de espermatogénesis u ovogénesis; o mitosis en el crecimiento o reposición de células somáticas. Esto influye por un lado sobre la herencia de la enfermedad y por otro explican en parte el hecho de que el tamaño del defecto varía en los diferentes tejidos de un paciente. La presencia de una amplificación puede causar la inactivación del gen, alterar el transporte de los ARNm desde el núcleo al citoplasma o provocar la síntesis de un nuevo producto con funciones diferentes a la proteína original, dependiendo de cada tipo de enfermedad.

Se han encontrado hasta ahora quince padecimientos en los cuales se presenta este nuevo tipo de defecto genético. Ellos presentan algunas características comunes, afectan al sistema nervioso, son degenerativas; la expresión de los síntomas varía dependiendo de la edad. En su mayoría presentan el fenómeno de anticipación genética, el cual puede resumirse en que los síntomas de los afectados de una misma familia se van haciendo más severos y se van manifestando a edades más tempranas a través de las generaciones.

Generalmente ocurre que las personas con una mutación más grande tengan síntomas más graves.

La existencia de una persona afectada en una familia, puede indicar que otros familiares sean portadores del gen mutado, y que en ese momento no estén presentando en forma evidente los síntomas típicos de la enfermedad.

porque es de manifestación tardía, o porque son portadores de premutaciones. Las premutaciones corresponden a tamaños de la amplificación que no causan síntomas evidentes en quienes las portan, pero que tienen una mayor probabilidad de crecer en la siguiente generación.

Algunos autores agrupan a estos padecimientos según el tipo de tripleta que se repite y según la alteración a nivel de función del gen. Siguiendo este esquema, el grupo 1 queda conformado por aquellas enfermedades asociadas con la amplificación de la tripleta CAG, (citosina, adenina, guanina) la cual causa repetición del aminoácido glutamina en el polipéptido respectivo. A este grupo pertenecen la Corea de Huntington, seis formas diferentes de ataxias espinocerebrales, y tres tipos de atrofas nerviosas o musculares. Se caracterizan porque se van muriendo neuronas en diferentes partes del sistema nervioso, según la enfermedad, hasta llegar a causar también la muerte del paciente.

En el grupo 2, se encuentran dos tipos de retardo mental hereditario (FRAXA), (FRAXE), la distrofia miotónica, y la ataxia de Friedreich. En este grupo la tripleta que se repite es diferente en cada caso, y más bien se localiza en regiones no codificantes de los genes (ver Figura 1). En éstos padecimientos se ven afectados varios sistemas de órganos.

En este momento habría que agregar la distrofia muscular oculofaríngea constituyendo un tercer grupo, donde el trinucleótido que se repite es GCG, diferente al CAG del grupo 1 y sin embargo la amplificación se encuentra en una región codificante de un gen, cuyo producto es un polipéptido con algunas unidades adicionales del aminoácido alanina.

A continuación describiremos un ejemplo de cada grupo para que el lector se pueda formar una idea más clara de lo que se ha venido discutiendo hasta el momento.

## **Corea de Huntington como ejemplo de enfermedad causada por una amplificación CAG**

Su frecuencia en la población se estima en un afectado, y entre 1,5 a 3 portadores por cada 10.000 habitantes. En Costa Rica desconocemos este dato porque no se ha investigado al respecto. Sin embargo es la enfermedad más común entre las causadas por repeticiones CAG. Se hereda en forma autosómica dominante. Los pacientes afectados muestran en forma progresiva deterioro de sus capacidades cognitivas, cambios en su personalidad, rigidez y corea. Su manifestación típica ocurre entre los 30 a 40 años de edad, aunque se han observado casos entre los 2 y los 90. Los pacientes sobreviven en promedio 15 años a partir del momento en que aparecen las primeras manifestaciones de la enfermedad. La amplificación CAG tiene un rango entre 6 y 34 repeticiones en las personas sanas, y en los afectados se han descrito desde 36 hasta 121. La mutación se localiza en la región codificante del gen IT15, que produce la proteína citoplasmática huntingtina; localizado en el brazo corto del cromosoma 4. La huntingtina normal participa en el desarrollo embrionario del cerebro y otros órganos, su papel es tan importante que aquellos embriones de ratones de laboratorio que no poseen ninguna copia del gen codificante para dicha proteína mueren espontáneamente. La pérdida neuronal en estos pacientes ocurre en el núcleo caudado y putamen del cerebro.

## **Distrofia Miotónica como ejemplo del segundo grupo**

Es la enfermedad muscular más frecuente en el adulto, con frecuencias diferentes en distintos grupos étnicos, para caucásicos se estima en un afectado por cada 8.000 habitantes. La herencia es autosómica dominante. El trinucleótido que se repite es el CTG (citosina, timina, guanina) en una región

io codificante del gen DMPK localizado en el brazo largo del cromosoma 19, el cual codifica para la proteína miotonina. Los individuos normales tienen entre 5 y 37 tripletas CTG, en tanto que los afectados entre 50 y más de 2.000. Es una enfermedad multisistémica caracterizada por miotonía, desgaste y debilidad muscular progresiva, calvicie frontal, cataratas, problemas respiratorios, hipogonadismo, arritmias cardíacas producidas por defectos en el sistema de conducción del músculo cardíaco y atrofia testicular. Se manifiesta normalmente en la tercera o cuarta década de la vida, pero puede ocurrir en niños y también en forma congénita con síntomas mucho más severos y una alta tasa de mortalidad.

La mutación presenta inestabilidad somática, es decir que el tamaño de la expansión varía en diferentes tejidos del mismo individuo; y meiótica por lo cual la mutación puede amplificarse o contraerse de una generación a otra. La forma congénita se produce generalmente por herencia materna, en cambio las disminuciones en el número de repeticiones son más frecuentes en la espermatogénesis. La distrofia miotónica es el ejemplo clásico de anticipación genética. En la figura 2 se puede observar claramente que el tamaño de la amplificación crece a través de las generaciones y como consecuencia de ello, aumenta la severidad de la enfermedad.

El hecho de que ahora sea posible, mediante técnicas de biología molecular, saber el tamaño exacto de la amplificación en cada uno de los miembros de una familia donde segrega el gen responsable de causar alguna de estas enfermedades, ha permitido a investigadores de diferentes países estudiar la relación que existe entre el tamaño de la mutación y el riesgo de llegar a desarrollar la enfermedad y/o de tener hijos afectados. Es así como en los países donde los análisis moleculares están incorporados a la paleta de exámenes de laboratorio disponibles para los pacientes, los miembros de éstas familias pueden obtener la

información si lo desean y de esta forma tomar decisiones en forma más ventajosa respecto a su reproducción. Muchas personas con alto riesgo de procrear niños severamente afectados prefieren abstenerse de tener hijos, evitando de esta manera grandes dosis de dolor. La experiencia de los médicos que tratan con familias que padecen este tipo de enfermedades, indica que el hecho de conocer la causa de su mal les proporciona mucha tranquilidad psicológica y en gran parte de los casos libera a los padres de fuertes sentimientos de culpa. Si a esto le sumamos la ventaja de conocer los riesgos antes de tener los niños, es indudable que el diagnóstico molecular contribuye a mejorar la calidad de vida.

### **¿Cómo se hace el diagnóstico molecular?**

Para los casos de las enfermedades causadas por amplificaciones grandes, más de 80 repeticiones de una triada, como por ejemplo la Distrofia Miotónica y el Síndrome del cromosoma X frágil, se utiliza como método diagnóstico la hibridación de Southern con el fin de confirmar los hallazgos clínicos de pacientes afectados, así como también para identificar los portadores dentro de las familias donde segrega el gen defectuoso. Este método consiste en tomar el ADN de los pacientes, digerirlo con una enzima de restricción adecuada, someterlo a una electroforesis con el fin de separar los fragmentos obtenidos de acuerdo a su tamaño. Junto al material genético de los pacientes, se corre una muestra de ADN compuesta por fragmentos de tamaño conocido (al cual llamamos marcador de peso molecular). Posteriormente se transfiere a una membrana de nylon cargada positivamente. La membrana se somete a hibridación, aprovechando la complementariedad de la doble hélice del ADN, con un segmento del gen que causa la enfermedad, previamente marcado con un isótopo radiactivo. Por último se expone la membrana a una película de



...logramas. Las bandas obtenidas sobre la...  
...la permiten determinar los tamaños de los...  
...los del gen en los pacientes que se están...  
...mutando (ver Figura 3). De esta forma es...  
...posible saber el tamaño de la mutación.

En el Instituto de Investigaciones en Salud de la Universidad de Costa Rica (INISA) tenemos algún tiempo de estar trabajando en implementar la tecnología para hacer posible en el país el diagnóstico de las mutaciones dinámicas. En este momento es el único laboratorio en Centroamérica en donde se puede diagnosticar a los pacientes afectados y sus familiares en dos enfermedades: el Síndrome del sitio frágil en el cromosoma X tipo A (la causa más frecuente de retardo mental hereditario) y la Distrofia miotónica ya discutida.

Al Organismo Internacional de Energía Atómica por el equipo de laboratorio y asesoría técnica brindada para el análisis molecular de las tripletas repetidas en el INISA (COS 6012). A los doctores Keith Johnson de la Universidad de Glasgow, Escocia; Peter Nürnberg y Regina Neumann de la Universidad Alexander von Humboldt de Berlín, Peter Steinbach y colaboradoras de la Universidad de Ulm, Alemania.

### AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el financiamiento de los proyectos No. 742-95-257 y 742-98-322.

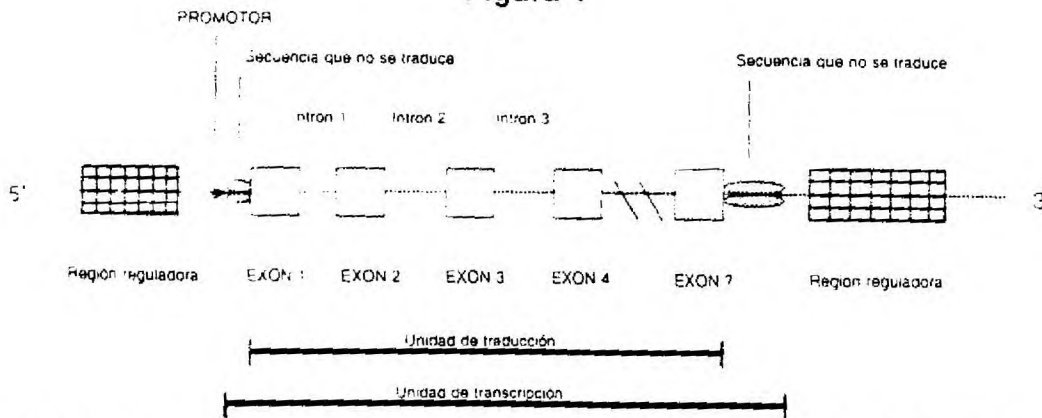
### REFERENCIAS

Cuenca, P. & F. Morales 1999. Mutaciones inestables: causa para algunas enfermedades neurológicas hereditarias. Acta Médica Costarricense 41: 7-15.






Morales, F. & P. Cuenca 1999. Aspectos genéticos y moleculares de la Distrofia Miotónica. Neuroeje 13: 82-89.

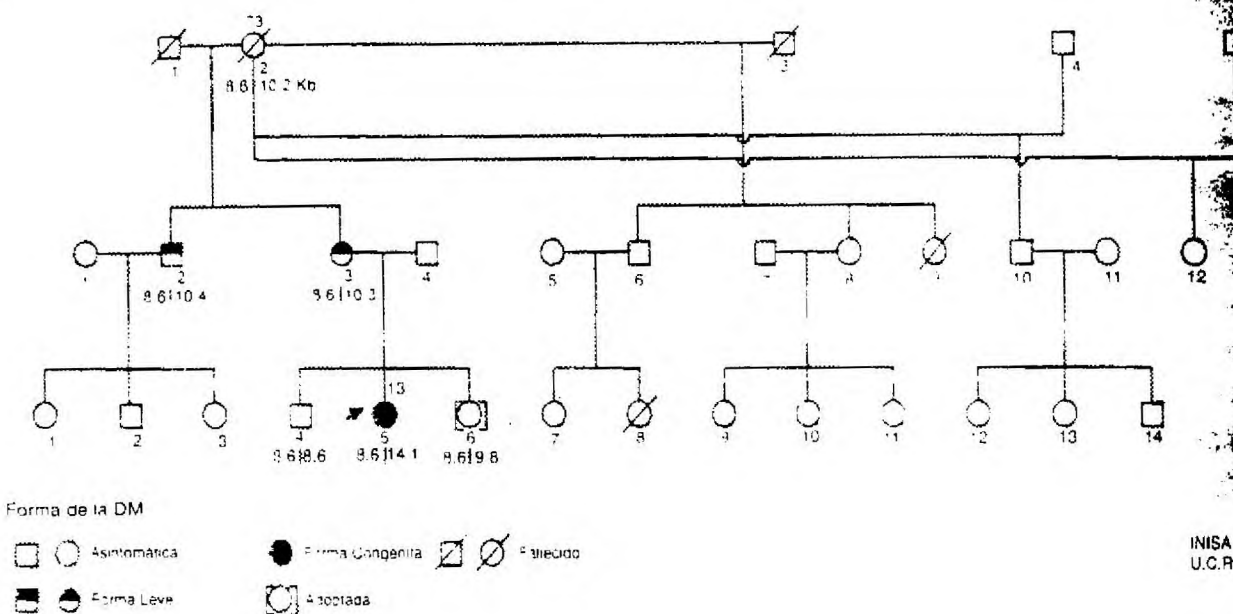
Wells, R.D. & S.T. Warren. (Eds). 1998. Genetic Instabilities and Hereditary Neurological Diseases Academic Press. New York. 829 p.

Figura 1

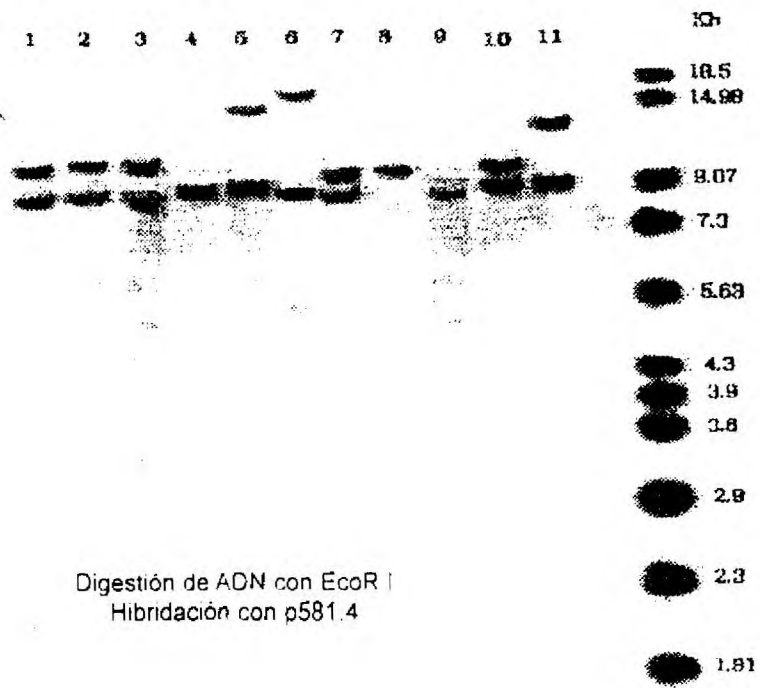


Esquema sencillo de un gen humano. Se representa un segmento de molécula sencilla de ADN con las secuencias más importantes que forman parte de un gen estructural:

-  Regiones reguladoras: son secuencias de reconocimiento para los factores de transcripción, ya sea para estimular o inhibir la síntesis del mRNA. Pueden estar localizadas antes, después o dentro de un gen.
-  Promotor: es la secuencia donde la enzima ARN polimerasa tiene su sitio de anclaje para comenzar la transcripción.
-  Exon: es una secuencia que se transcribe al ARN y es traducida a una cadena polipeptídica.
-  Intron: es una secuencia que se transcribe a la cadena de ARN pero es eliminada en el proceso de maduración del ARN mensajero. La eliminación puede ocurrir en forma diferencial, es decir que el mismo gen puede producir polipeptidos diferentes según el tejido donde se esté expresando, dependiendo de cuales secuencias sean eliminadas durante este proceso.
-  Secuencias que no se traducen: son segmentos que se transcriben a ARN, pero no se traducen a polipeptido, son importantes en el transporte de los ARN. En el hombre existe una gran variabilidad con respecto al tamaño y la organización genica.



**FIGURA 2: Genealogía de una familia costarricense con distrofia miotónica.** Se muestran tres generaciones. La mutación estaba presente en la abuela materna (I-2) de la niña III-5, quien fue nuestro caso índice: creció a partir de las 10,2 Kb (130 repeticiones de la tripleta) en la abuela, pasando por 10,3 Kb (unas 170 repeticiones) en la madre (individuo II-5 en la genealogía); hasta llegar a una amplificación de 14,1 Kg, es decir 1.270 repeticiones de la tripleta en la niña más severamente afectada.



**FIGURA 3: Autorradiografía con resultados del análisis molecular para la mutación que causa la Distrofia miotónica.** Las líneas 1, 2 y 3 muestran bandas correspondientes a un alelo normal con tamaño de 8,6 y alelos anormales de 10,2 y 10,4 Kb de pacientes asintomáticos y con la forma clásica de la enfermedad. Las líneas 5, 6 y 11 poseen una banda con el alelo normal de 8,6 y alelos anormales entre 11,6 y 14,1 Kb, de niños con Distrofia miotónica congénita.

El resto de las muestras corresponden a genotipos normales, las líneas 4 y 9 son homocigotas para el alelo de 8,6 Kg; líneas 7 y 10 son alelos normales de 8,6 Kb y 9,8 Kb, y por último la línea 8 es homocigota para el alelo de 9,8 Kb.