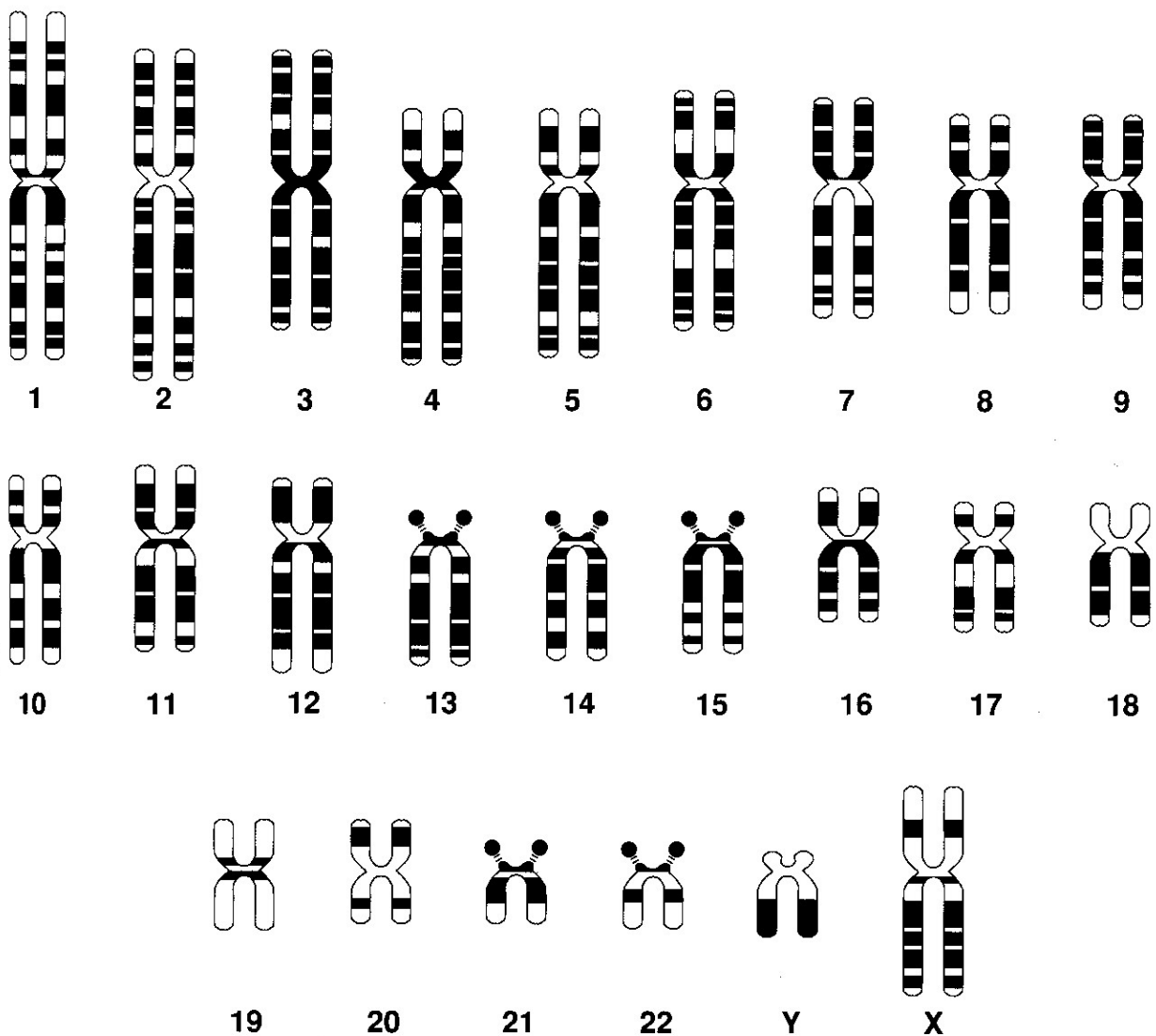

MALALTIES GENÈTIQUES



CIÈNCIES BIOMÈDIQUES UB - PRIMAVERA 2017

ALBERT TORELLÓ PÉREZ

Índex

I	INTRODUCCIÓ	1
1	Introducció	1
	Història — 1 • Mutacions — 1 • Malalties monogèniques — 3 • Diagnòstic — 3 • Malalties monogèniques per pèrdua de funció — 4	
2	Malalties autosòmiques recessives	6
	Intolerància a la lactosa — 6 • Intolerància hereditària a la galactosa — 6 • Intolerància hereditària a la fructosa — 7 • Deficiència en 21-hidroxilasa — 8 • Gota — 8 • Malaltia de Pompe — 9	
3	Malalties autosòmiques dominants	11
	Síndrome de deficiència de GLUT1 — 11 • Polineuropatia amilodòptica familiar de tipus I — 12 • Síndrome de resistència generalitzada a les hormones tiroïdals — 12 • Osteogènesi imperfecta — 13 • Cribatge neonatal — 13 • Cribatge en adults — 15	
4	Malalties del genoma mitocondrial	16
	Biologia del DNA mitocondrial — 16 • Mutacions al genoma mitocondrial — 17 • Herència del genoma mitocondrial — 17 • Malalties mitocondrials — 18	
5	Seminari. Lipodistròfies congènites	19
	Lipodistròfies congènites — 20 • Bases moleculars de les lipodistròfies congènites generalitzades — 21	

I. INTRODUCCIÓ

1. Introducció

1.1 Història

Garrod el 1905 va descobrir el concepte d'error innat del metabolisme. Va observar un fenomen bioquímic precís que era innata i que es transmetia familiarment.

La primera malaltia que es va descriure és la alcaptonúria. Afecta el metabolisme de la fenilalanina. La via metabòlica de la fenilalanina té un intermediari que és l'àcid homogenístic. Hi ha una mutació en homozigosi de pèrdua de funció a l'enzim després de l'àcid homogentísic. Els pacients acumulen àcid homogentísic i dona coloració negra als fluids biològics.

La malaltia del xarop d'auró presenta alteracions del metabolisme dels aminoàcids ramificats. La orina feia olor de xarop.

L'any 1945 Beadle i Taum associen un gen-un enzim. El 1948 es va trobar el primer defecte enzimàtic degut a una alteració genètica; amb la metahemoglobinèmia. Alteració de l'estat redox del Fe de la hemoglobina. L'enzim reductor de la metahemoglobina és una NADPH deshidrogenasa que manté la hemoglobina reduïda.

1.2 Mutacions

Una **malaltia genètica** afecta als gens i que es transmeten familiarment. Les **malalties congènites** no tenen perquè ser genètiques.

Mutació: Alteració permanent i transmissible del material genètic.

- Germinal: Són les mutacions transmissibles a la descendència.
- Somàtica

A més les mutacions es poden classificar com:

1. Genoma: Triploïdies, trisomes...
2. Cromosòmiques: Translocacions, delecions, inversions
3. Mutacions puntuals

Hi ha mutacions que es veuen afavorides per determinats factors. Les mutacions cromosòmiques es veuen afavorides per l'edat de la mare i les puntuals per l'edat del pare. Els gens més grans tenen una taxa de mutació més alta. Els gens que es troben en cromatina oberta són més susceptibles a la mutació.

Segons l'efecte, les mutacions poden ser:

-
- Patogènica
 - Polimorfisme: No es pot associar a un fenotip concret. Canvi neutre. Una substitució a la última posició d'un triplet és sinònima i no genera un canvi d'aminoàcid.

El grau de polimorfisme dels humans és molt alt (1-2%). El locus polimòrfic és un locus on un mínim d'un 1 % de la població no conté l'al·lel més abundant.

Finalment, les malalties genètiques es poden classificar en:

- **Malalties cromosòmiques:** Translocacions, aneuploidies, inversions, delecions. Entre el 0.4 i el 2.5% dels nens hospitalitzats.
- **Malalties monogèniques o mendelianes:** Malalties causades per 1 sol locus. Solen ser malalties rares. Entre el 6-8% dels nens hospitalitzats occidentals ho fan per malalties monogèniques. Per la població general, la prevalença és de l'1%.
- **Malalties multifactorials (multigèniques/multifactorials):** No se'ls pot atribuir una genètica mendeliana però sí que hi ha un component genètic transmissible. Són canvis genètics en diversos loci que individualment no tenen potència patogènica. Són molt susceptibles a factors ambientals. Són les malalties més prevalents en la població (hipertensió, hipercolesterolèmia, obesitat). Es genera un genotip de susceptibilitat que s'afavoreix o no per l'ambient (dieta, hàbits esportius...). 22-31% dels nens hospitalitzats. La prevalença és aproximadament del 60%.

Les malalties, però, poden ser heterogènies:

- **Heterogeneïtat genètica:** Referit a malaltia, que alhora pot ser:
 - Al·lèlica: La població afectada presenta 2 variants diferents al mateix gen. És molt freqüent.
 - No al·lèlica: 2 pacients afectats per la mateixa malaltia per mutacions en locus diferents.

La metahemoglobinèmia hereditària pot ser causada per 2 gens d'alfa globina, 3 gens de beta globina i 5 pel gen de la NADH deshidrogenasa que manté reduït el Fe. Té heterogeneïtat al·lèlica i de locus.

Les mucopolisacaridosi estan causades per dèficits en la degradació de mucopolisacàrids. Aquestes vies de degradació són molt complexes. S'acumulen mucopolisacàrids a la cèl·lula. La mucopolisacaridosi de Hurler és letal. La mucopolisacaridosi de Scheie és molt suau, no compromet la viabilitat... Aquestes malalties estan causats per mutacions al gen L-iduronidasa.

Un caràcter es pot estudiar en termes de:

- **Penetrància:** S'usa en malalties dominants. Proporció d'heterozigots que manifesten qualsevol símptoma de la malaltia. Si la malaltia té 100% de penetrància, vol dir que tots els afectats presenten la mutació.

-
- **Expressivitat:** Variabilitat i intensitat dels símptomes que es manifesten en un individu. individus amb la mateixa mutació poden presentar símptomes diferents. L'expressivitat pot variar amb l'edat.

1.3 Malalties monogèniques

Les malalties monogèniques presenten locus afectats amb relació de dominància/recessivitat, però aquestes relacions poden estar modulades:

- **Perfecte recessivitat:** L'heterozigot presenta el mateix fenotip que l'homozigot dominant (+/- = +/+).
- **Perfecte dominància:** L'heterozigot és igual al homozigot dominant (+/- = -/-).

Hi ha factors extragenètics que afectin aquesta relació. Si el gen mutat codifica per un enzim, p.e, i l'individu no s'exposa al substrat no manifestarà la malaltia.

En mutacions al cromosoma X en dones, la manifestació dependrà de si el cromosoma afectat està inactivat o no.

Les malalties monogèniques també es poden veure afectades per l'ambient. Els factors nutricionals influeixen en la manifestació de mutacions del metabolisme.

1.4 Diagnòstic

El diagnòstic de les malalties genètiques es pot aconseguir per:

- **Detecció clínica:** Característiques del pacient (no genètiques no bioquímiques) es diagnostica la malaltia amb un alt grau de fiabilitat ja que presenten un fenotip distintiu. P.e, els nens amb síndrome de Down es poden diagnosticar pels trets facials. Per altra banda, altres trets com un augment d'àcid úric a la orina no seria un fenotip distintiu; el comportament auto-lesiu tampoc seria un fenotip distintiu però si aquests 2 símptomes es presenten alhora es pot diagnosticar la malaltia de Lesd-Nyhan.
- **Resultats anòmals en tests normals:** Proves diagnòstiques practicades sense orientació clínica anterior, detecten malalties no descobertes. Si en una anàlisi de sang rutinària, es detecta una hiperglucèmia accentuada es diagnostica una possible diabetis.
- **Cribatge poblacional:** Ja sigui prenatal, post-natal o adult. Detectar la malaltia abans que es manifesti.

Els paràmetres bioquímics es mesuren per HPLC-MS (cromatografia líquida acoblat a espectrometria de masses).

Els metabòlits marcadors són substàncies que quan es presenten o es presenten en concentracions elevades actuen com a indicadors de malaltia, com a fenotip distintiu de la malaltia.

1.5 Malalties monogèniques per pèrdua de funció

La majoria de malalties monogèniques són recessives. El metabolisme busca convertir un substrat A en un producte D, passant per diversos intermediaris. El substrat normalment ve de la dieta i les vies estan ramificades. Si el primer enzim de la via està mutat passaran 3 coses: augment de A, disminució de D i sobreflux de la via alternativa.

Poden passar 3 coses:

- Acumulació de substrat: Intervenció sobre la dieta
- Acumulació de producte: Suplementació
- Sobreflux de via alternativa

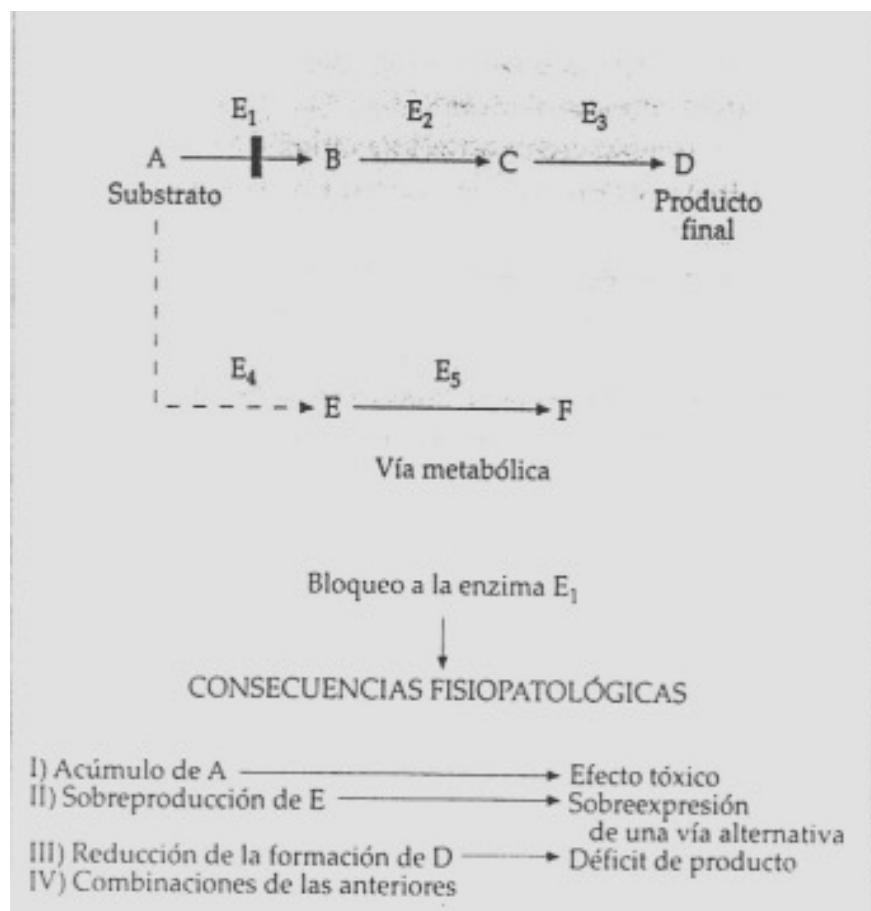


FIGURA 1: Conseqüències fisiopatològiques de mutacions enzimàtiques

Quan hi ha una falta de producte, es suplementa amb aquest producte. Si hi ha hipotiroïdisme congènit, s'administra la hormona per via oral.

Quan s'acumula el substrat, com en la **fenilcetonúria** que hi ha una deficiència de la degradació de la fenilalanina. S'acumula fenilalanina i aquesta és neurotòxica. En aquest cas, es pot fer una restricció dietètica amb una dieta deplecionada en Phe.

També es pot activar una via alternativa i evitar l'acumulació de substrat. Si el cicle de la urea està afectat, es produeix una hiperamonèmia. Una de les solucions és disminuir

el contingut proteic de la dieta. Una via alternativa d'excreció de nitrogen en humans és la via de l'hipurat; la Gly forma un complex amb benzoat per formar hipurat que es converteix en urea. S'administra benzoat als pacients.

En la **galactossèmia** es bloqueja la degradació de la galactosa. La galactosa està en equilibri amb el galactitol; i sempre es troba desplaçat cap a galactosa en condicions no patològiques. Si la concentració de galactosa augmenta es produeix molt galactitol que s'acumula al cristal·lí i provoca cataractes. Això és una conseqüència del sobreflux de via alternativa.

L'acidúria hereditària d'àcid oròtic és una acumulació d'àcid oròtic per una deficiència en la síntesi de uridina-P a partir de glutamat. Això provoca anèmia ja que els precursors del moll d'os no es divideixen per falta de precursors de U. També hi ha nefrolitiasi d'orotat. Es tracta amb uridina.

La suplementació amb uridina soluciona l'anèmia. Aquesta via de síntesi presenta inhibició per producte, de manera que la uridina inhibeix la formació d'orotat.

Un únic enzim sintetitza el pas d'orotat a uridina monofosfat (generant orotidina monofosfat com a intermediari). Mutacions en aquest locus són homozigotes recessives i els malalts no poden sintetitzar uridina a partir de glutamina.

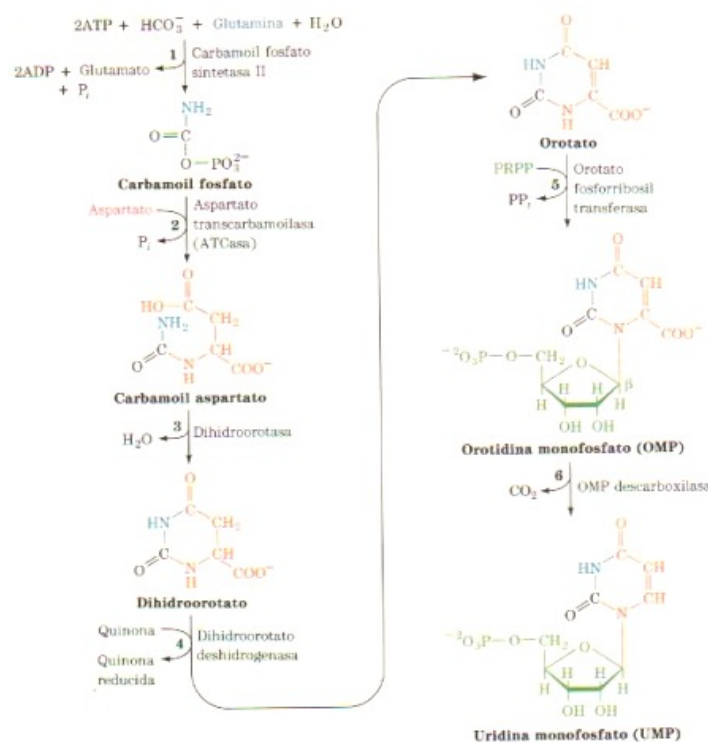


FIGURA 2: Síntesi d'UMP a partir de glutamina

Les hormones tiroïdals inhibeixen la formació de TSH. De manera que en l'hipotiroïdisme, la TSH augmenta i provoca goll. L'aportació d'hormones tiroïdals soluciona els efectes hipotiroïdals i el goll ja que la TSH disminueix.

2. Malalties autosòmiques recessives

2.1 Intolerància a la lactosa

La intolerància a la lactosa no és una malaltia mendeliana. Normalment, la lactosa s'hi-drolitza a l'intestí. La intolerància a la lactosa ve donada per deficiències en l'activitat lactasa intestinal. No està causada per mutacions al locus de la lactasa.

El disseny metabòlic humà està orientat al metabolisme de la lactosa durant l'etapa neonatal. Als primers anys de vida hi ha una activitat lactasa important, i va disminuint amb l'edat. El declivi de l'activitat lactasa presenta una gran variabilitat poblacional.

La intolerància a la lactosa provoca que aquesta lactosa arribi al colon i els bacteris intestinals la fermenten en productes irritants per l'intestí. Augmenta la motilitat intestinal, flatulències...

Als països asiàtics i a l'Àfrica negra tenen una remarcable intolerància a la lactosa. Les poblacions escandinaves presenten una baixa prevalença de la intolerància a la lactosa. Això correlaciona amb els hàbits històrics de consum de lactis. Es creu que més que selecció genètica, hi hauria un **enhancement** del gen de la lactasa.

El gen de la lactasa està regulat. Hi ha 2 al·lels principals:

- Al·lel normal
- Al·lel de la persistència adulta

Aquests al·lels variant en el segment 5'-UTR, que és el que regula la transcripció. Hi ha un canvi C/T a 14kb upstream del TSS del gen, aquesta seqüència exerciria algun efecte sobre el promotor proximal.

2.2 Intolerància hereditària a la galactosa

La intolerància a la galactosa és una malaltia molt greu. També s'hi refereix com a galactossèmia. L'efecte patològic s'observa just després del naixement, quan el nadó s'exposa a la lactància. La crisi aguda pot causar una disfunció hepàtica letal.

Si la disfunció hepàtica no es detecta i no és letal i no és tractat per la galactossèmia, hi pot haver dany renal, retard mental...

La galactosa es metabolitza via glicòlisi. El fetge metabolitza el 100% de la galactosa que arriba per la vena porta.

Hi ha 3 passos per poder metabolitzar galactosa:

- Fosforilació al C1 per la galactoquinasa
- Transferasa: 1 molècula de Galactosa-1-fosfat i UDP-glucosa s'intercanvien el fosfat i el UDP. Llavors s'obté UDP-galactosa i glucosa-1-fosfat.
- UDP-galactosa-4-epimerasa: Per tal d'obtenir UDP-glucosa. La UDP-glucosa passa a glucosa-1-fosfat i aquesta entra a la glucòlisi.

La intolerència hereditària es produeix quan hi ha mutacions recessives de pèrdua de funció de transferasa. En la epimerasa són menys freqüents a la nostra població. Les deficiències de galactoquinasa, que és recessiva, provoca l'aparició de cataractes a l'adult.

Els efectes adversos de les mutacions a la transferasa es deu a què hi ha una depleció puntual d'ATP ja que s'acumula galactosa-1-fosfat. En una situació normal, l'ATP es recupera pel metabolisme normal de la galactosa.

La galactosa està en equilibri amb el galactitol. Quan augmenta la galactosa, augmenta el galactitol i s'usa com a metabòlit marcador. El galactitol s'acumula al cristal·lí. La determinació de galactitol és molt ràpida.

La teràpia es basa en retirar la galactosa de la dieta. No en tots els casos romanen les seqüeles. Hi ha tendència a infertilitat femenina per problemes en la maduració als ovaris. Es creu que la galactosa que hi ha en sang en situació fisiològica pot causar danys al fetus que té intolerància a la galactosa.

És important determinar a quin gen està la mutació, si a la transferasa o a l'epimerasa. Si el nen té deficiència en transferasa, el millor és retirar completament la galactosa de la dieta. Si la deficiència està en l'epimerasa, és millor mantenir una ingesta baixa de galactosa.

La galactosa, a part d'aportar energia, forma part de les glicoproteïnes. L'epimerasa fa una reacció reversible. La incorporació de glucosa/galactosa a les glicoproteïnes es fa a partir de UDP-galactosa.

En la deficiència de transferasa, la galactosa necessària es sintetitza per epimerització de UDP-glucosa. Si la deficiència és d'epimerasa, no hi ha manera d'obtenir UDP-glucosa/UDP-galactosa per glicosilar proteïnes.

Hi ha països on es fa criatge neonatal a partir de la determinació de galactitol.

Hi ha heterogeneïtat gènica en aquesta malaltia (gen de la transferasa i epimerasa) i també hi ha una gran heterogeneïtat al·lèlica, ja que hi ha diferents mutacions al gen de la transferasa que causen galactossèmia. Algunes mutacions són patogèniques ja que generen la pèrdua de funció de la proteïna. Són homozigotes pures ja que un sol al·lel normal és suficient per no manifestar la malaltia. Alguns mutants donen formes amb activitat disminuïda de l'activitat transferasa, el més conegut dels quals és l'al·lel Duarte. L'al·lel Duarte produeix enzims amb un 50% de l'activitat. Els homozigots per Duarte tampoc presenten la malaltia. El problema és quan ens trobem Duarte/Null i això ja produeix una patologia, si bé és menys greu que la galactossèmia comuna.

2.3 Intolerància hereditària a la fructosa

Quan s'ingereix fructosa hi ha 2 vies de metabolització: hepàtica i muscular. Es considera que la via hepàtica processa un 65% de la fructosa ingerida. Al fetge, es produeix fructosa-1-fosfat per acció de la fructoquinasa. La fructosa-1-fosfat entra directament en una aldolasa de la glicòlisi. Al múscul, la hexoquinasa fosforila la fructosa en posició 6 (fructosa-6-fosfat) i ja entra directament a la glicòlisi.

Hi ha 2 alteracions metabòliques al metabolisme de la fructosa:

-
- Deficiències en fructoquinasa: L'individu metabolitza la fructosa més lentament, solament per la via muscular. No es considera una patologia.
 - Deficiències en fructosa-1-fosfat aldolasa: Com que l'enzim quinasa té una gran capacitat, hi ha una depleció d'ATP. La patologia no és tant greu com la galactosèmia. Com que la ingesta de fructosa es produeix bastant després del naixement, es creu que això fa que no sigui tant greu. Els símptomes són molèsties intestinals quan prenen fructosa. Aquests nens generen aversió a la fruita (tipus de reflex condicionat).

El tractament es basa en suprimir fructosa de la dieta.

2.4 Deficiència en 21-hidroxilasa

Aquesta patologia és un exemple de sobreflux de via alternativa (andrògens) però també un dèficit de producte (aldosterona). La 21-hidroxilasa és essencial per la síntesi d'hormones esteroïdals. La malaltia s'anomena hiperplàsia suprarrenal congènita.

L'ACTH (Adrenocorticotrop Hormone) estimula la síntesi de pregnolona i progesterona. El cortisol inhibeix l'ACTH.

Té 2 formes principals:

- **Clàssica:** Apareixen a l'etapa infantil. Es detecta després del naixement. En les nenes, s'altera la morfologia dels genitals (virilització morfològica). Tant nens com nenes tenen una disfunció de l'equilibri hídric que impedeix la reabsorció renal de sals.
- **No clàssica:** Es detecta en la infància/adolescència. En nois, es dona una pseudopubertat precoç i en noies hi ha hirsutisme i en ocasions esterilitat.

Com que no es sintetitza cortisol, no s'inhibeix ACTH i es segueix secretant.

En les formes clàssiques, la teràpia es basa en la reconstrucció quirúrgica dels genitals i s'administra cortisol i aldosterona. Això pal·lia els efectes dels andrògens. També s'administren antiandrògens.

En les formes no clàssiques, la teràpia es basa en l'administració de bloquejants d'andrògens.

La fibrosi quística és la malaltia monogènica més freqüent en la població.

La deficiència en 21-hidroxilasa és de les més freqüents de les malalties minoritàries.

Les diferències en la manifestació de la malaltia radica en l'heterogeneïtat al·lèlica. Hi ha mutacions que provoquen la pèrdua total d'activitat de l'enzim i altres mutacions provoquen fenotips més lleus.

2.5 Gota

S'infla de manera molt dolorosa les extremitats inferiors (sobretot els peus) per l'acumulació de cristalls d'àcid úric.

L'àcid úric prové del metabolisme de les purines. Les fonts de purina poden ser endògenes o exògenes (de la dieta). Les purines es degraden per donar xantina, i la xantina produeix àcid úric. Si hi ha un sobreflux d'aquesta via, la producció d'àcid úric sobrepassa el llindar de solubilitat i cristal·litza.

Les carns i sobretot les vísceres són molt riques en purines.

La deficiència en glucosa-6-fosfatasa fa que s'acumuli la glucosa-6-fosfat. La glucosa-6-fosfat és un precursor de la via de les pentoses fosfat. Si augmenta la G6P, hi ha un sobreflux de la via de les pentoses fosfat i síntesi de purines, i per tant acumulació d'àcid úric.

L'acumulació d'àcid úric pot provocar nefrolitiasi, insuficiència cardíaca, ictus...

Es tracta amb un inhibidor de la xantina oxidasa (inhibició de la formació de producte). La xantina no és tant tòxica i s'excreta per orina. La xantina inhibeix la via. L'al·lopurinol és un inhibidor de la xantina oxidasa. L'enzim transforma al·lopurinol en al·loxantina, que és el compost s'uneix al centre actiu de l'enzim i l'inhibeix.

Tractament de malalties genètiques

Els tractaments basats en la suplementació de producte genètic deficient (proteïna):

- Obtenció del producte genètic en prou quantitat
- Farmacocinètica del producte genètic (el producte genètic ha d'arribar allà on fa la funció)

Històricament, hi hagut 2 fonts de proteïnes per subministrar com a teràpia:

- **Naturals:** P.e els hemoderivats en el tractament de les hemofílies. Aquests tractaments són viables ja que la obtenció de sang és fàcil i l'administració també. Una limitació important és la bioseguretat. Abans s'elaboraven preparats d'hormona de creixement a partir d'extractes d'hipòfisi de cadàvers, amb el problema de la transmissió de Creutzfeld-Jacobs. La placenta es pot utilitzar per obtenir diferents factors bioactius. El teixit adipós és una altra font de productes bioactius, i conté moltes cèl·lules mare mesenquimals.
- **Recombinants:** P.e la insulina i la GH. El problema principal són les modificacions post-traduccionals que duen a terme els sistemes cel·lulars que s'empren per produir aquestes proteïnes.

2.6 Malaltia de Pompe

És una malaltia autosòmica recessiva poc freqüent. És una glicogenosi amb defectes lisosomals. El producte genètic alterat és l' α -glucosidasa àcida. Aquest enzim hidrolitza enllaços α 1- \rightarrow 4 en cadenes de glicogen (maltosa). Actua als lisosomes a pH àcid. Aquesta és una via secundària i poc especialitzada en cèl·lules que tenen poc glicogen (neurones, fibres musculars cardíques, leucòcits).

És una malaltia molt greu. La forma infantil clàssica té manifestacions des del naixement amb alteracions cardíagues i musculars. S'acumula glicogen ja que no es degrada.

3. Malalties autosòmiques dominants

Les bases moleculars de la dominància són:

- Insuficient producte gènic (pèrdua de funció)
- Aparició de formes dominant negatives: L'al·lel mutat perd la funció i el producte gènic impedeix que l'al·lel no mutat compensi els efectes de la mutació.
- Guany de funció: La mutació afecta un al·lel, que adquireix unes propietats diferents a l'al·lel original i distorsionen la realitat.

La hipercolesterolèmia familiar és la malaltia mendeliana més freqüent. Una mutació de pèrdua de funció en un al·lel és suficient per provocar el fenotip.

3.1 Síndrome de deficiència de GLUT1

Abans d'establir-se la causa molecular, s'anomenava discinèsia paroxística cinesigènica familiar (dystonia 9); i epilèpsia paroxística discinèsia (dystonia 18) induïda per l'exercici; i certs tipus d'epilèpsia, i altres noms a tipus d'epilèpsia.

Els malalts tenen crisis epilèptiques a la infància, sovint als primers mesos de vida.

És un trastorn que afecta el sistema nerviós que pot tenir una varietat de signes i símptomes neurològics. Aproximadament el 90 per cent de les persones afectades tenen una forma del trastorn que sovint es refereix com a síndrome de deficiència de GLUT1 comú.

El pacients tenen en general:

- Freqüents convulsions (epilèpsia) a partir dels primers mesos de vida. En els nadons, el primer signe de la malaltia pot ser moviments oculars involuntaris que són ràpids i irregulars. L'exercici físic sol ser un inductor de l'epilèpsia.
- Els nadons amb síndrome de deficiència de GLUT1 comú tenen una mida normal del cap en néixer, però el creixement del cervell i el crani és sovint lent, el que pot resultar en una mida de cap anormalment petita.
- Retard del desenvolupament o discapacitat intel·lectual.
- Altres problemes neurològics, com la rigidesa causada per tibar anormalment els músculs (espasticitat), dificultats en la coordinació de moviments (atàxia), i dificultats en la parla (disàrtria). Alguns experimenten episodis de confusió, falta d'energia (letargia), mals de cap, o contraccions musculars (mioclonía), en particular durant els períodes de dejuni (sense menjar).
- En alguns casos poc freqüents pot haver-hi anèmia, amb eritròcits de morfologia alterada

Té una freqüència netre 3000 i 7000 individus.

La malaltia no té heterogeneïtat de locus però sí que té heterogeneïtat al·lèlica.

GLUT1 transporta la glucosa a dins de la cèl·lula mitjançant “difusió facilitada”. GLUT1 presenta una expressió molt ubiqua (eritròcits, encèfal, placenta, etc). La glucosa és essencial per a la funció de les neurones, han d’haver-hi processos de captació que la sostinguin, en presència de la barrera hematoencefàlica. GLUT1 es troba en les cèl·lules endotelials que formen la barrera hematoencefàlica i en els astròcits, mentre que en les neurones es troba GLUT3. Les neurones poden metabolitzar la glucosa de manera directa o el lactat produït pels astròcits.

La única teràpia és controlar l’exercici físic (no disminuir la disponibilitat de glucosa al cervell) i dietes molt cetogèniques. En casos excepcionals, el cervell es pot acondicionar a metabolitzar cossos cetònics. Així es compensa la falta de glucosa al cervell. Es poden donar suplementes d’àcids grassos de cadena curta (C7), que poden arribar directament al cervell passant la barrera hematoencefàlica. Una altra estratègia és estimular p.e amb hormones l’expressió de GLUT1 i aconseguir prou GLUT1.

3.2 Polineuropatia amilodòptica familiar de tipus I

És una malaltia dominant de guany de funció. La malaltia és asimptomàtica.

Afecta el sistema GI. L’esperança de vida no va més ellà de 10 anys. +

La transsiretina és una proteïna de transport a la sang. És un transportado sanguini. Producció hepàtica. La proteïna funciojs com a tràiler.

És molt freqüent al nord de Portugal. Zones costeres de Suècia i Japó.

És una malaltia amb penetrància incompleta. S’explica per factors ambientals i per aspectes genètics fora del locus afectat (gens/polimorfismes protectors).

A Suècia van fer un screening poblacional i van veure que hi havia famílies que portaven la mutació 4 o 5 generacions sense afectats i altres famílies amb una recurrència molt alta.

3.3 Síndrome de resistència generalitzada a les hormones tiroïdals

AGGTCA(N)₄AGGTCA Binding site per TR. Dímer amb RXR.

El TR té un DBD de zinc fingers. Té dominis de dimerització, d’unió a T3, d’unió a RXR i unió a la maquinària basal de transcripció.

Els humans tenim 2 gens que codifiquen per TR: TRalfa i TRbeta. Els 2 gens donen 4 proteïnes. alfa1 és un TR, alfa 2 no és un TR i beta1 i beta2 sí que són TR.

Els pacients que tenen resistència a les hormones tiroïdals tenen mutacions al TRbeta1 que les fan dominants negatives (les proteïnes no actuen com a receptors). La mutació mai afecta el DBD del receptor. Les mutacions solen afectar el domini de transactivació (inducció de transcripció), i a vegades també la unió a la hormona. Mai afecten el domini

de dimerització. Els receptors mutats ocupen els llocs TRE impedit que el receptor WT faci la seva funció (explicació molecular de la dominància negativa).

La dominància negativa es sol trobar en proteïnes que interaccionen amb altres elements (DNA, proteïnes, hormones).

3.4 Osteogènesi imperfecta

Provoca hiperfragilitat òssia. Formes dominants negatives. Penetrància i expressivitat variable.

El colàgen està format per una tripe hèlix. La formació d'aquesta hèlix és espontània degut a aminoàcids concrets com la prolina hidroxilada.

Les mutacions dominants negatives fan que l'estructura del colàgen resulti diferent que la natural.

Si la mutació no fos dominant negativa sinó nul·la, no s'observa cap fenotip.

Les mutacions dominants negatives interfereixen amb la funció normal, de manera que tenen un fenotip més greu.

Penetrància: Percentatge de descendència amb la malaltia.

3.5 Cribatge neonatal

Programa de prevenció secundària... Depèn de l'Hospital Clínic. Cribatge no és sinònim de diagnòstic. El cribatge suposa la detecció de la malaltia en els nadons. Comença l'any 1970 amb la fenilcetonúria a la Diputació de Barcelona.

20 malalties es fan en espectrometria de masses. Es busquen metabòlits en altes concentracions.

L'hipotiroïdisme congènit i la fibrosi quística es fa per fluoroimmunoanàlisi.

La cobertura és pràcticament del 100%.

Totes aquestes malalties tenen com a punt crític, un tractament precoç per evitar danys majors.

3.5.1 Fenilcetonúria

És una deficiència autosòmica recessiva de fenilalanina hidroxilasa, que converteix la Phe en Tyr. Això provoca l'acumulació de Phe a la sang. Causa retard mental, de desenvolupament...

La mutació sol ser al gen de l'enzim i hi ha molta heterogeneïtat genètica. Moltes mutacions de pèrdua de funció (alteració d'splicng, stop). Altres vegades la mutació està en alguns enzims de la via del reciclatge de la tetrahidrobiopterina i les conseqüències funcionals són les mateixes que les de les mutacions a la fenilalanina hidroxilasa. En les mutacions en els enzims de les vies de reciclatge de la fenilalanina hidroxilasa, el tractament és la suplementació amb tetrahidrobiopterina.

3.5.2 Hipotiroïdisme

Activitat disminuïda de les hormones tiroïdals. Com que les hormones tiroïdals tenen un paper crític al desenvolupament neural dels nens, s'administren hormones tiroïdals als neonats.

L'hipotiroïdisme congènit central acostuma a ser autosòmic recessiu.

L'espectrometria de masses permet expandir el cribatge neonatal.

Síndrome del xarop d'auró.

El que es fa és una dieta deficient en l'aminoàcid que causi la malaltia.

Les immunodeficiències combinades greus.

El sistema de detcció ha de ser barat i ràid.

Immunodeficiència immunitària greu: Les immunodeficiències primàries (IDP) són un grup de malalties causades per l'alteració quantitativa i/o funcional dels diferents mecanismes implicats en la resposta immunitària, les quals inclouen més de 300 defectes congènits.

Es classifiquen en 9 grans grups segons les característiques que tinguin. Dins d'aquestes immunodeficiències, les immunodeficiències combinades greus (SCID) representen entre un 10 i 15%.

Són les formes més greus d'IDP. Si no tenen un diagnòstic i tractament precocós, duen inexorablement a la mort del pacient abans de l'any de vida. La prevalença al nostre país es calcula (de manera retrospectiva) i és de 1/57.000 nous nats.

La deficiència en adenosina deaminasa causa la malaltia dels nens bombolla. Mortalitat al voltant del 50% després de la primera infecció.

Des de l'any 2008, es disposa d'una tècnica de detecció precocosa comuna per a les diferents formes genètiques de SCID aplicable a la prova de sang seca de talonari: quantificació dels cercles d'excisió del receptor de limfòcits T (T-cell receptor excision circles, TREC) mitjançant PCR quantitativa en temps real. És una prova no invasiva útil per investigar la producció de cel·lules T pel timus i permet el cribatge universal de les SCID.

Les dades aportades en els diferents estats dels EUA, on s'aplica des de 2010, demostren la utilitat en la detecció d'aquests pacients, amb un percentatge de falsos positius i negatius molt baix.

Per SCID es fa qPCR dels TRECS. Primera prova en fer-se per qPCR.

Criteris per incloure una malaltia en el programa de detecció precoç:

- La malaltia és un problema de salut important
- Hi ha un tractament acceptable per als pacients
- Facilitats diagnòstiques i de tractament
- Reconeixement en una etapa latent o asimptomàtica

3.6 Cribatge en adults

Empreses que fan genotipat de polimorfismes per malalties multifactorials (risc d'Alzheimer, cardiovascular).

La malaltia de Tay Sachs és una malaltia autosòmica recessiva que afecta el metabolisme dels gangliòsids. Els gangliòsids són glicolípidis importants pel sistema nerviós. Patologia per acumulació. Mutació al gen beta-hexosaminidasa A. La malaltia és molt greu, els nens tenen una esperança de vida curta (3-4 anys). No té tractament.

La taca vermell-cirera s'usava com a marcador per la malaltia abans de desenvolupar un diagnòstic molecular.

La HEXA elimina la N-acetilgalactosamina del GM2.

La mutació altera la pauta de lectura i introdueix un codó stop prematur.

És una malaltia molt rara (1/6400) però hi ha poblacions on és més freqüent com la dels jueus Ashkenazi (1/27). També és molt prevalent al Canadà francòfon i a les poblacions d'origen francès (Cajun). Es fan campanyes de cribatges poblacionals per identificar els portadors de la mutació de Tay Sachs.

Abans del diagnòstic molecular es feia assaig enzimàtic HEXA en sang. Els heterozigots tenien el 50% de l'activitat enzimàtica.

En Tay Sachs es pot fer diagnòstic prenatal i preimplantacional.

Per les β -talassèmies també es pot fer cribatge poblacional en adults.

4. Malalties del genoma mitocondrial

Els conceptes de dominància i recessivitat no s'apliquen exactament aquí.

Les malalties del DNA mitocondrial no es consideren diagnosticades fins que es fa el diagnòstic molecular/genètic.

4.1 Biologia del DNA mitocondrial

El DNA mitocondrial representa l'1% del DNA cel·lular total en funció del nombre de mitocondris de la cèl·lula.

El DNA mitocondrial és circular de doble cadena i de 16,7 kb. S'assumeix que tots els mitocondris tenen DNA mitocondrial. S'assumeix que hi ha poques còpies del DNA mitocondrial, entre 3 i 4 per mitocondri i entre 1000 i 10000 còpies per cèl·lula. Els gens del genoma mitocondrial no tenen introns i només una regió no codificant que té els elements reguladors comuns. Hi ha més còpies de gens mitocondrials que de gens nuclears.

Conté 13 mRNA, 22 tRNA i 2 rRNA.

Els 13 mRNA codifiquen per 13 proteïnes components de la cadena respiratòria i fosforilació oxidativa.

Es reparteixen així:

- Complex I (NADH deshidrogenasa): 7 subunitats
- Complex III: 1 subunitat
- Complex IV: 3 subunitats
- Complex V (ATP sintasa): 2 subunitats. Sense el gradient de protons, aquest enzim és una ATPasa.

El genoma mitocondrial es coordina amb el genoma nuclear per sintetitzar els complexos mitocondrials sincrònicament. El mitocondri té un sistema de traducció propi. Els ribosomes mitocondrials són més petits. Els rRNA (12S i 18S) components d'aquests ribosomes estan codificats al genoma mitocondrial. Les proteïnes dels ribosomes mitocondrials estan codificats al genoma nuclear. Els tRNA són menys petits i diversos, amb un codi genètic diferent.

El D-loop és una zona no codificant que té els elements reguladors de la replicació i la transcripció. Les 2 cadenes del genoma mitocondrial s'anomenen H i K (*heavy* i *light*). La que té pocs gens és la L i la H conté molts gens.

El DNA mitocondrial es transcriu en bloc, dóna lloc a un mRNA policistrònic que es processa i produeix els RNA específics. Es fa un transcrit que comença al D-loop i després continua per tota la cadena H. La transcripció es pot aturar fins a la seqüència del tRNA de la Leu. La RNA polimerasa és diferent que la del genoma nuclear.

Hi ha 2 opinions sobre la finalització prematura:

- Factors a l'inici de la transcripció
- Factors al final de la transcripció

La replicació del DNA mitocondrial va desacoblada a la replicació del genoma nuclear. Una cèl·lula proliferativa pot no replicar el DNA mitocondrial i una cèl·lula quiescent pot replicar el DNA mitocondrial. En l'exercici crònic, hi ha una replicació de DNA mitocondrial al múscul esquelètic per reforçar la cadena respiratòria. La replicació del genoma mitocondrial comença al D-loop i es replica només la cadena H fins a una zona reguladora en què comença la cadena L. Es forma un heterotrípex: les 2 cadenes mare i un tros de la cadena nova. La DNA polimerasa és diferent de la nuclear, està codificada al DNA nuclear i es sintetitza al citoplasma.

4.2 Mutacions al genoma mitocondrial

La taxa de mutació és més alta que al genoma nuclear. Això s'explicaria perquè el DNA mitocondrial no està estructurat en cromatina. Es considera que el DNA mitocondrial està més exposat a mutàgens. Al mitocondri es generen moltes ROS, que són potents mutàgens. Si la reducció de l'oxigen és incompleta, es formen ions superòxid.

Les mutacions podran ser polimòrfiques o patològiques. La primera seqüència que es va obtenir es fa servir de referència i s'anomena seqüència Cambridge. Un problema important és discriminar la patogenicitat de la mutació.

4.3 Herència del genoma mitocondrial

El DNA mitocondrial no es recombina i és de transmissió materna.

La ovella Dolly es va obtenir enucleant un oòcit i introduint el nucli d'una cèl·lula somàtica. S'entén que una part del DNA mitocondrial es va transferir de la cèl·lula somàtica a l'oòcit. L'oòcit tindria un sistema de reconeixement i degradació selectiva del DNA mitocondrial exogen.

L'herència de la mutació no serà mendeliana. Moltes vegades són espontànies però.

En el pacient poden existir molècules de mtDNA sanes i mutades. Quan les seqüències de mtDNA són idèntiques hi ha homoplàsmia. Les manifestacions polimòrfiques es consideren en homoplàsmia.

La heteroplàsmia es dona quan hi ha diferents molècules de mtDNA. Es dona la dada en percentatge.

La heteroplàsmia pot presentar diferències entre germans de mare i en funció del teixit. Les cèl·lules sanguínies tenen menys grau d'heteroplàsmia, les cèl·lules en divisió tenen menys heteroplàsmia. Les dades en sang no són informatives i s'ha de fer una biòpsia generalment muscular per diagnosticar la heteroplàsmia a nivell molecular.

Hi ha un efecte llindar en relació als símptomes. A partir de cert grau d'heteroplàsmia es pot no manifestar cap símptoma. Com més heteroplàsmia hi hagi, més greu serà la malaltia. Amb un 30% d'heteroplàsmia no hi ha cap símptoma, p.e.

Són malalties progressives que empitjoren amb l'edat. Els símptomes apareixen de manera molt definida en un òrgan o sistema que és molt dependent de la funció mitocondrial per la obtenció d'energia com el SNC, el múscul, òrgans sensorials, òrgans endocrins...

Amb el pas del temps, hi ha més òrgans afectats. Amb l'edat disminueix l'activitat oxidativa. Els diferents òrgans tenen llindars específics d'activitat oxidativa mínima per funcionar. Com que amb l'edat va disminuint l'activitat oxidativa, amb el temps s'arriba a superar els llindars d'activitat oxidativa per cada teixit i així es van manifestant els símptomes progressivament. En funció del grau d'heteroplàsmia, la malaltia es manifestarà abans.

Es considera que l'òocit té 100.000 còpies de mtDNA. Aquest no es replica fins a l'estadi de blastocist. Cada cèl·lula del blastocist té 1.000 còpies de mtDNA. Les cèl·lules somàtiques tenen entre 1.000 i 10.000 molècules de mtDNA.

4.4 Malalties mitocondrials

5. Seminari. Lipodistròfies congènites

La lipodistròfia és un conjunt de síndromes heterogenis caracteritzats per una disminució del teixit adipós corporal. És una malaltia rara.

Es classifiquen segons el grau de pèrdua de teixit adipós:

- Generalitzada: Manca pràcticament total de dipòsits del teixit adipós.
- Parcial: Disminució regional, sovint a les extremitats, dels dipòsits del teixit adipós.

Segons l'etiologia es poden classificar en:

- Genètica o familiar
- Adquirida
 - Immunològica/Inflamatòria
 - Pacients amb VIH que estan en tractament aniretroviral. És la més freqüent. Es perd greix subcutani de les extremitats, la cara i els glutis.
 - Localitzada: Degudes a l'administració de fàrmacs, com en la diabetis de tipus I. Aquests pacients han de variar el lloc d'injecció d'insulina per evitar la lipodistròfia. També per efectes mecànics.

El TAB és un reservori d'energia metabòlica que emmagatzema TAG i altres lípids. El TAB és una font d'hormones i altres factors lipídics que senyalitzen a altres teixits, al SNC... La leptina es produeix al TAB i senyalitza al TAB i indueix la sensació de sacietat. A més, a nivell perifèric té efectes metabòlics antagònics a la insulina.

El teixit adipós es troba:

- Perifèric: subcutani.
- Visceral: A dins de la cavitat abdominal.

Les lipodistròfies afecten sobretot el teixit adipós subcutani.

Els dipòsits de teixit adipós tenen diferent origen embrionari. El del cap té origen ectodèrmic, la resta provenen del mesoderma.

Característiques metabòliques

- Subcutani: Secreten molta leptina, menys resposta a les catecolamines, molta resposta a la insulina.
- Visceral: Molta secreció d'adiponectina, molta resposta a l'acció de les catecolamines, més resistent a la insulina, molta producció de NEFA.

La lipodistròfia fa que els pacients tinguin un dèficit d'adipòcits blancs madurs funcionals. No és el mateix que un pèrdua del contingut de lípids als adipòcits blancs madurs funcionals. Llavors en la lipodistròfia hi ha un mecanisme intrínsec de la cèl·lula que afecta l'adipogènesi o una proteïna no funcional.

5.1 Lipodistròfies congènites

Poden ser:

- Lipodistròfia congènita generalitzada (CGL o síndrome de Berardinelli-Seip-BSCL): 4 tipus
- Lipodistròfies congènites parcials (FPLD): 3 tipus
- Associades a altres síndromes, com la progèria.

Costen de diagnosticar des d'un punt de vista clínic.

5.1.1 Lipodistròfies congènites generalitzades

S'han descrit 4 locus amb transmissió autosòmica recessiva. Es va descriure el 1954 i afecta 1/1-2 milions (1).

Es caracteritza per:

- Absència generalitzada de teixit adipós
- Hipertròfia muscular
- Hepatomegàlia degut a esteatosi hepàtica
- Acromegàlia a mandíbula, mans i peus

Metabòlicament, hi ha:

- Resistència a insulina
- Hiperinsulinèmia
- Hiperlipèmia
- Diabetis de tipus 2

Supervivència limitada.

5.1.2 Lipodistròfies congènites parcials

Hi ha més dones afectades. Apareixen en la pubertat. El síndrome de Köberling va ser la primera a descriure. La transmissió seria autosòmica dominant però no està demostrat. No se saben les bases moleculars.

Clínicament:

- Pèrdua de teixit adipós subcutani a les extremitats i cul
- Acumulació de teixit adipós al tronc

A nivell metabòlic hi ha:

- Resistència a insulina
- Hiperlipèmia
- Diabetis de tipus 2

La síndrome de Dunnigan és la més prevalent. És de transmissió autosòmica dominant i causada per mutacions en el gen LMNA. Prevalença d'1/200.000. Acumulen lípids a la cara i al coll.

La lipodistrofia de tipus 3 té transmissió autosòmica dominant i està causada per una mutació a PPAR γ .

El PPAR γ 2 permet que s'expressin els gens funcionals de l'adipòcit (enzims, adipocines...).

5.2 Bases moleculars de les lipodistrofies congènites generalitzades

5.2.1 Generalitzades

Inicialment es van descriure 2 locus:

- 11q13: mutacions al gen BSLC2 codifica per la SEIPIN que s'expressa a cervell. És una proteïna que uneix el RE i la gota lipídica. És molt important per la formació i manteniment de la gota lipídica. Correspon a la generalitzada de tipus 2.
- 9q34: conté el gen RXR α . Mutacions al gen AGPAT2 (esterificació d'àcids grassos). Correspon a la generalitzada de tipus 1.

A la 3 s'ha descrit la caveolina 1 i a la 4 la PTRF-CAVIN.

Són totes autosòmiques recessives.

5.2.2 Parcial

S'han trobat moltes mutacions a LMNA. També provoca distrofies musculars. Es creu que té funcions en la translocació a nucli de diferents factors de transcripció importants per la diferenciació adipocitària.

PPAR γ mutació puntual en heterzigosi. És un dominant negatiu (de pèrdua de funció).

Les progèries donen lipodistrofies. La progèria provoca envelliment accelerat, on hi ha dèficits a lamines, proteases que processen lamines o enzims de farnesilació de lamines.

Els processos afectats són la formació de la gota lipídica o l'adipogènesi.

La patologia ve donada per la lipotoxicitat. Manca de leptina, sobretot generalitzades.