



Trastornos genéticos

ÍNDICE DEL CAPÍTULO

Genes y enfermedad humana 141

Mutaciones 142

Trastornos mendelianos 144

Patrones de transmisión de los trastornos monogénicos 144

Trastornos autosómicos dominantes 144

Trastornos autosómicos recesivos 145

Trastornos ligados al cromosoma X 146

Bases moleculares y bioquímicas de los trastornos monogénicos (mendelianos) 147

Defectos enzimáticos y sus consecuencias 147

Defectos en los receptores y sistemas de transporte 148

Alteraciones de la estructura, función o cantidad de proteínas no enzimáticas 148

Reacciones adversas a fármacos determinadas genéticamente 148

Trastornos asociados a defectos en las proteínas estructurales 148

Síndrome de Marfan 148

Síndromes de Ehlers-Danlos (SED) 149

Trastornos asociados a defectos en las proteínas receptoras 151

Hipercolesterolemia familiar 151

Trastornos asociados a defectos enzimáticos 154

Enfermedades por depósito lisosómico 154

Enfermedades por depósito de glucógeno (glucogenosis) 161

Trastornos asociados a defectos en las proteínas que regulan el crecimiento celular 163

Trastornos multigénicos complejos 163

Trastornos cromosómicos 164

Cariotipo normal 164

Alteraciones estructurales de los cromosomas 165

Trastornos citogenéticos que afectan a los autosomas 166

Trisomía 21 (síndrome de Down) 166

Otras trisomías 169

Síndrome por delección del cromosoma 22q11.2 169

Trastornos citogenéticos que afectan a los cromosomas sexuales 170

Síndrome de Klinefelter 170

Síndrome de Turner 171

Hermanfratismo y seudohermanfratismo 173

Trastornos monogénicos de herencia no clásica 173

Enfermedades causadas por mutaciones en secuencias repetidas de trinucleótidos 173

Síndrome del cromosoma X frágil (XPF) 174

Síndrome de temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil e insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil 177

Mutaciones en genes mitocondriales: neuropatía óptica hereditaria de Leber 177

Impronta genómica 178

Síndromes de Prader-Willi y Angelman 178

Mosaicismo gonadal 180

Diagnóstico genético molecular 180

Métodos diagnósticos e indicaciones para la realización de las pruebas 180

Consideraciones analíticas 180

Indicaciones para el análisis de alteraciones genéticas hereditarias 181

Indicaciones del análisis de alteraciones genéticas adquiridas 181

PCR y detección de alteraciones en la secuencia del ADN 181

Análisis molecular de las alteraciones genómicas 182

Hibridación in situ fluorescente (FISH) 183

Tecnología de matrices citogenéticas 183

Marcadores de polimorfismos y diagnóstico molecular 183

Alteraciones epigenéticas 185

Análisis del ARN 185

Secuenciación de próxima generación (NGS) 185

Bioinformática 185

Aplicaciones clínicas de la secuenciación de próxima generación de ADN 186

Futuras aplicaciones 187

GENES Y ENFERMEDAD HUMANA

En el capítulo 1 se analizó la arquitectura del genoma humano normal. En este, nos basaremos en ese conocimiento para presentar las bases genéticas de la enfermedad humana.

Los trastornos genéticos son mucho más frecuentes de lo que se piensa. La frecuencia a lo largo de la vida de enfermedades genéticas se estima en 670 por 1.000. Además, las enfermedades genéticas que se encuentran en la práctica médica solo representan la punta del iceberg, es decir, se trata de los errores genéticos menos graves que permiten un desarrollo embrionario completo y el nacimiento con vida. Se estima que un 50% de los abortos espontáneos durante los primeros meses de la ges-

tación se asocian a una alteración cromosómica demostrable; sin embargo, además, existen numerosos errores más pequeños detectables y muchos otros que solo ahora se están detectando gracias a los avances en la secuenciación del ADN. Un 1% aproximadamente de todos los recién nacidos presentan una alteración cromosómica evidente y 5% de los individuos menores de 25 años desarrollan una enfermedad grave con un componente genético importante. ¿Cuántas mutaciones más siguen ocultas?

Antes de comentar las alteraciones específicas que pueden ocasionar enfermedades genéticas, resultaría útil destacar que los trastornos genéticos humanos se pueden clasificar de forma general en tres categorías.

- *Trastornos relacionados con mutaciones de un gen único con efectos amplios.* Estas mutaciones producen la enfermedad o

predisponen a sufrirla, y con algunas excepciones, como las hemoglobinopatías, no existen en la población normal. Estas mutaciones y sus trastornos asociados son muy penetrantes, de modo que la presencia de la mutación se asocia a la enfermedad en un elevado porcentaje de los pacientes. Dado que estos cuadros se deben a mutaciones de un solo gen, en general siguen el clásico patrón de herencia mendeliana y se llaman también trastornos mendelianos. Unas pocas excepciones a esta regla se analizarán más adelante.

El estudio de genes únicos y mutaciones con efectos amplios ha resultado extremadamente informativo para la medicina, ya que gran parte de nuestros conocimientos sobre varias vías fisiológicas (p. ej., el transporte de colesterol, la secreción de cloruro) se han obtenido a partir del análisis de trastornos monogénicos. Aunque informativos, estos procesos suelen ser infrecuentes, salvo que sean mantenidos en una población por potentes fuerzas selectivas (p. ej., la drepanocitosis en regiones donde el paludismo es endémico; v. capítulo 14).

- **Trastornos cromosómicos.** Se deben a alteraciones estructurales o numéricas de los autosomas y cromosomas sexuales. Igual que las enfermedades monogénicas, son infrecuentes, pero muestran una elevada penetrancia.
- **Trastornos multigénicos complejos.** Son mucho más frecuentes que los dos grupos previos. Se deben a interacciones entre múltiples formas variantes de los genes y factores ambientales. Estas variaciones de los genes son frecuentes en la población y se llaman *polimorfismos*. Cada uno de estos genes variantes confiere un pequeño incremento del riesgo de enfermedad y ningún gen de susceptibilidad es necesario o suficiente para producir la enfermedad. Solo cuando existen varios de estos polimorfismos en un individuo se produce la enfermedad, y por eso se habla de *multigénico* o *poligénico*. Por tanto, a diferencia de los genes mutantes de efectos amplios, que son muy penetrantes y dan lugar a trastornos mendelianos, cada uno de estos polimorfismos tiene un efecto pequeño y tiene una baja penetrancia. Dado que las interacciones ambientales resultan importantes para la patogenia de estos trastornos, se llaman también enfermedades multifactoriales. Dentro de este grupo se incluyen algunos de los procesos más frecuentes en patología humana, como ateroesclerosis, diabetes mellitus, hipertensión y enfermedades autoinmunitarias. Incluso los rasgos normales, como la talla o el peso, vienen controlados por polimorfismos de varios genes.
- **Mutaciones dentro de secuencias no codificantes.** Los efectos deletéreos también se pueden asociar a mutaciones que no afectan a los exones. Recuerde que la transcripción del ADN se inicia y regula mediante unas secuencias promotoras y potenciadoras (v. capítulo 1). Las mutaciones o delecciones puntuales que afectan a estas secuencias reguladoras pueden interferir en la unión de los factores de transcripción y condicionar así una reducción muy importante o incluso la ausencia completa de la transcripción. Esto sucede en algunas formas de anemias hereditarias denominadas talasemias (v. capítulo 14). Además, las mutaciones puntuales dentro de intrones pueden ocasionar una separación defectuosa de las secuencias intermedias. Esto interfiere a su vez en el procesamiento normal de los transcriptos de ARNm iniciales y condiciona un fracaso en la formación del ARNm maduro. Por tanto, no tiene lugar la traducción y no se sintetiza el producto génico.
- **Delecciones e inserciones.** Las pequeñas delecciones o inserciones que afectan a la secuencia codificante tienen dos posibles efectos sobre la secuencia codificada. Si el número de pares

Mutaciones

La mutación se define como un cambio permanente del ADN. Las mutaciones que afectan a las células germinativas se transmiten a la descendencia y dan lugar a trastornos hereditarios. Las mutaciones que se originan en las células somáticas no son causa de enfermedades hereditarias, pero sí tienen importancia en la aparición de cánceres y algunas malformaciones congénitas.

A continuación, revisaremos los principios generales relacionados con los efectos de las mutaciones génicas.

- **Mutaciones puntuales dentro de secuencias codificantes.** Una mutación puntual es un cambio en el que una base única es sustituida por otra diferente. Puede modificar el código de un triplete de bases y condicionar la sustitución de un aminoácido por otro en el producto génico. Dado que estas

mutaciones modifican el significado de la secuencia de la proteína codificada, es frecuente llamarlas *mutaciones de sentido erróneo*. Cuando el aminoácido sustituido es bioquímicamente similar al original, normalmente da lugar a pocos cambios en la función de la proteína, la mutación se llama mutación de sentido erróneo «conservadora». Por otro lado, una mutación de sentido erróneo «no conservadora» sustituye el aminoácido normal por otro muy distinto bioquímicamente. Un ejemplo excelente de este grupo es la mutación drepanocítica que afecta a la cadena de la β -globina de la hemoglobina (v. capítulo 14). En este caso, el triplete de nucleótidos CTC (o GAG en el ARNm), que codifica el ácido glutámico, es sustituido por CAC (o GUG en el ARNm), que codifica la valina. Esta sustitución de un aminoácido único modifica las propiedades fisicoquímicas de la hemoglobina y esto causa la anemia drepanocítica. Además de ocasionar un cambio de aminoácido, una mutación puntual podría cambiar un codón de un aminoácido por otro que termina una cadena o codón de terminación (*mutación sin sentido*). Si se elige de nuevo el ejemplo de la β -globina, una mutación puntual que afecte al codón de la glutamina (CAG) da lugar a un codón de terminación (UAG) cuando se cambia la C por un U (fig. 5.1). Este cambio condiciona la terminación prematura de la traducción del gen de la β -globina y el péptido corto que se genera se degrada con rapidez. La consiguiente deficiencia de cadenas de la β -globina puede dar lugar a una forma grave de enfermedad llamada β^0 -talasemia (v. capítulo 14).

• **Mutaciones dentro de secuencias no codificantes.** Los efectos deletéreos también se pueden asociar a mutaciones que no afectan a los exones. Recuerde que la transcripción del ADN se inicia y regula mediante unas secuencias promotoras y potenciadoras (v. capítulo 1). Las mutaciones o delecciones puntuales que afectan a estas secuencias reguladoras pueden interferir en la unión de los factores de transcripción y condicionar así una reducción muy importante o incluso la ausencia completa de la transcripción. Esto sucede en algunas formas de anemias hereditarias denominadas talasemias (v. capítulo 14). Además, las mutaciones puntuales dentro de intrones pueden ocasionar una separación defectuosa de las secuencias intermedias. Esto interfiere a su vez en el procesamiento normal de los transcriptos de ARNm iniciales y condiciona un fracaso en la formación del ARNm maduro. Por tanto, no tiene lugar la traducción y no se sintetiza el producto génico.

• **Delecciones e inserciones.** Las pequeñas delecciones o inserciones que afectan a la secuencia codificante tienen dos posibles efectos sobre la secuencia codificada. Si el número de pares

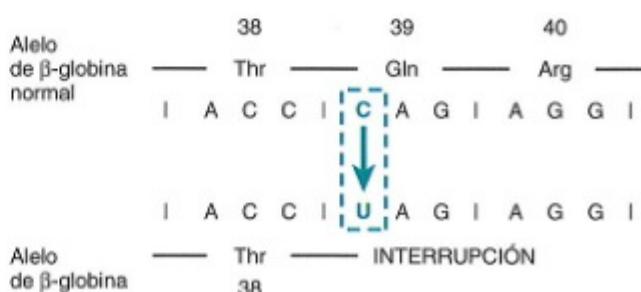


Figura 5.1 Mutación sin sentido causante de terminación de cadena prematura. Secuencia parcial de ARNm de la cadena de β -globina de la hemoglobina que muestra codones para los aminoácidos 38 a 40. Una mutación puntual (C → U) en el codón 39 sustituye un codón de glutamina (Gln) por un codón de terminación y, a continuación, la síntesis de proteínas se detiene en el aminoácido 38.

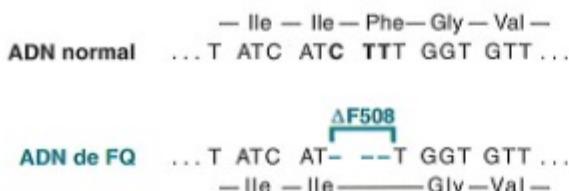


Figura 5.2 La delección de tres bases en el alelo de la fibrosis quística (FQ) común da lugar a la síntesis de una proteína que carece del aminoácido 508 (fenilalanina). Dado que la delección es múltiplo de tres, no se trata de una mutación de la pauta de lectura. (Tomado de Thompson MW, et al: *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*, ed 5, Philadelphia, 1991, WB Saunders, p 135.)

de bases afectados es tres o múltiplo de tres, la pauta de lectura permanece intacta y se sintetiza una proteína anómala que pierda o gane uno o más aminoácidos (fig. 5.2). Si el número de bases codificantes afectadas no es múltiplo de tres, ello dará lugar a una alteración de la pauta de lectura de la cadena de ADN, produciendo lo que se denomina *mutación con desplazamiento de la pauta de lectura* (figs. 5.3 y 5.4). La consecuencia habitual es la incorporación de un número variable de aminoácidos incorrectos, seguido del truncamiento en relación con un codón de terminación prematura.

- *Alteraciones distintas de las mutaciones en genes codificantes de proteínas.* Además de las alteraciones en la secuencia del ADN, los genes codificantes también experimentan variaciones estructurales, como cambios del número de copias (*amplificaciones o delecciones*) o *translocaciones* que generan pérdida o ganancia de función aberrante de las proteínas. Como las mutaciones, los cambios estructurales pueden producirse en la línea germinal o ser adquiridos en tejidos somáticos. En muchos casos, las alteraciones de la línea germinal patógenas afectan a una porción contigua de un cromosoma, más que a un gen aislado, como sucede en el síndrome de microdeleción del cromosoma 22q, tratado más adelante. La disponibilidad generalizada de la tecnología de secuenciación masiva (NGS), que permite valorar la variación del número de copias de ADN en el genoma completo con muy alta resolución, ha permitido describir alteraciones estructurales potencialmente patógenas en trastornos frecuentes, como el autismo. Los cánceres a menudo contienen alteraciones estructurales adquiridas somáticamente, como amplificaciones, delecciones y translocaciones. Un ejemplo clásico lo constituye el llamado cromosoma Filadelfia, una translocación t(9;22) entre los genes BCR y ABL en la leucemia mieloide crónica (v. capítulo 13).
- *Alteraciones en ARN no codificantes.* Cabe recordar que, en el pasado, el principal objetivo de la búsqueda de genes era el descubrimiento de genes que codificaran proteínas.

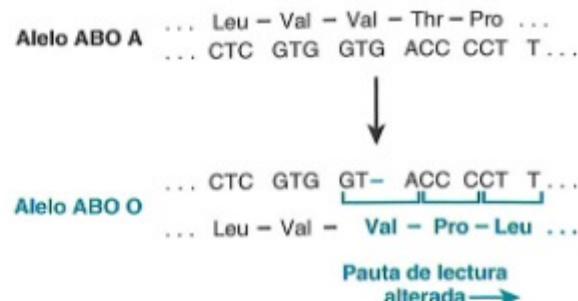


Figura 5.3 Delección de una sola base en el locus ABO (glucosiltransferasa), que determina una mutación de la pauta de lectura responsable del alelo O. (Tomado de Thompson MW, et al: *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*, ed 5, Philadelphia, 1991, WB Saunders, p 134.)

Ahora sabemos que un gran número de genes no codifican proteínas, sino que producen transcriptos, los llamados ARN no codificantes (ARNnc), que realizan importantes funciones reguladoras. Aunque existen numerosas familias de ARNnc, las dos más importantes, los micro-ARN (miARN) y los ARN largos no codificantes (ARNlnc), se abordan en el capítulo 1.

- *Mutaciones de repeticiones de trinucleótidos.* Las mutaciones de repeticiones de trinucleótidos se incluyen dentro de un tipo especial de alteración genética. Estas mutaciones se caracterizan por la amplificación de una secuencia de tres nucleótidos. Aunque la secuencia específica de nucleótidos que se amplifica es distinta en diversas enfermedades, casi todas las secuencias afectadas comparten los nucleótidos guanina (G) y citosina (C). Por ejemplo, el síndrome del cromosoma X frágil (SXF), que es el prototipo de este grupo de procesos, muestra entre 250 y 4.000 repeticiones en tandem de la secuencia CGG dentro de la región reguladora de un gen llamado *retraso mental familiar 1 (FMR1)*. En las poblaciones normales, el número de repeticiones es pequeño, con un promedio de 29. Estas expansiones de las secuencias de trinucleótidos impiden la expresión normal del gen *FMR1*, lo que ocasiona discapacidad intelectual. Otra *característica distintiva de las mutaciones por repetición de trinucleótidos es su carácter dinámico* (es decir, el grado de amplificación aumenta durante la gametogenia). Estas características, que se analizan con mayor detalle a continuación, condicionan el patrón de herencia y las manifestaciones fenotípicas de las enfermedades asociadas a este tipo de mutaciones.

En resumen, las mutaciones pueden interferir en la expresión génica a distintos niveles. La transcripción se puede suprimir por las delecciones génicas y las mutaciones puntuales que afectan a las secuencias promotoras. El procesamiento anormal del ARNm se puede deber a mutaciones que afectan a los intrones, a las uniones de separación o a ambos. La traducción se ve

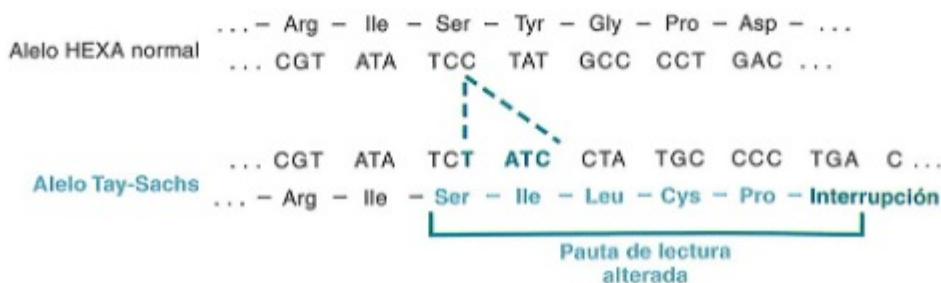


Figura 5.4 Inserción de cuatro bases en el gen de la hexosaminidasa A, que determina una mutación de la pauta de lectura. Esta mutación es la principal causa de la enfermedad de Tay-Sachs entre los judíos asquenazies. (Tomado de Nussbaum RL, et al: *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*, ed 6, Philadelphia, 2001, WB Saunders, p 212.)

afectada cuando una mutación sin sentido crea un codón de terminación (mutación de terminación de la cadena) con un exón. Por último, algunas mutaciones puntuales patógenas dan lugar a la expresión de cantidades normales de una proteína disfuncional.

Con esta base, ahora nos vamos a ocupar de tres grupos fundamentales de trastornos genéticos: 1) trastornos relacionados con genes mutantes de efecto amplio; 2) enfermedades de herencia multifactorial, y 3) trastornos cromosómicos. Además de estas tres categorías tan conocidas, se debe añadir un grupo heterogéneo de *trastornos monogénicos de herencia no clásica*. Dentro de este último grupo se incluyen los procesos secundarios a mutaciones con repetición de tripletes, las secundarias a mutaciones del ADN mitocondrial (ADNm) y los cuadros cuya transmisión viene condicionada por la impronta genómica o el mosaicismo gonadal. Los cuadros que se incluyen dentro de este grupo se deben a mutaciones en un solo gen, pero no siguen un patrón mendeliano de herencia. Se analizarán posteriormente en este capítulo.

Queda fuera del ámbito de esta obra revisar la genética humana normal. Algunos de los fundamentos de la estructura del ADN y de la regulación de las expresiones génicas se describieron en el capítulo 1. Es importante explicar términos que se emplean con frecuencia, como *hereditario, familiar y congénito*. Los trastornos hereditarios, por definición, se originan en los padres de una persona y se transmiten por la línea germinal a través de las generaciones, por lo que son familiares. El término *congénito* solo indica «que se nace con». Algunas enfermedades congénitas no son genéticas (p. ej., la sífilis congénita). Además, no todas las enfermedades genéticas son congénitas; por ejemplo, los pacientes con enfermedad de Huntington empiezan a presentar manifestaciones de este cuadro a partir de la tercera o cuarta década.

TRASTORNOS MENDELIANOS

Prácticamente todos los trastornos mendelianos son consecuencia de mutaciones de genes únicos con efectos extensos. No es preciso recordar ahora las leyes de Mendel, dado que todos los estudiantes de biología (y posiblemente todos los guisantes) las conocen desde sus primeros años. Solo se harán algunos comentarios con importancia médica.

Se estima que todos los individuos portan varios genes deletérios, la mayoría son recesivos y no determinan por ello efectos fenotípicos graves. Un 80-85% de estas mutaciones son familiares y el resto son mutaciones de nueva aparición, adquiridas *de novo* por el individuo afectado.

La mayoría de las mutaciones en genes autosómicos determinan una expresión parcial en el heterocigoto y expresión completa en el homocigoto. La drepanocitosis se debe a una sustitución de la hemoglobina normal (HbA) por la hemoglobina S (HbS). Cuando un individuo es homocigótico para el gen mutante, toda la hemoglobina será del tipo S anormal e incluso con una saturación de oxígeno normal, el trastorno se expresa por completo (es decir, presencia de drepanocitosis en todos los eritrocitos con anemia hemolítica). En los heterocigotos solo un porcentaje de la hemoglobina es de tipo HbS (el resto es HbA) y solo se forman drepanocitos en circunstancias excepcionales, como cuando el paciente se expone a concentraciones de oxígeno bajas. Este cuadro se llama *rasgo drepanocítico* para distinguirlo de la anemia drepanocítica florida.

Aunque los rasgos mendelianos suelen describirse como dominantes o recesivos, en algunos casos los dos alelos de un par de genes contribuyen al fenotipo, proceso llamado *codominancia*.

La histocompatibilidad y los antígenos de los grupos sanguíneos son buenos ejemplos de herencia codominante.

Un solo gen mutante puede ocasionar muchos efectos finales, lo que se llama *pleiotropismo*; por el contrario, las mutaciones en diversos *loci* genéticos pueden dar lugar al mismo rasgo (*heterogeneidad genética*). La anemia drepanocítica es un ejemplo de pleiotropismo. En este cuadro hereditario, la mutación puntual del gen no solo da lugar a una HbS, que predispone a los eritrocitos a la hemólisis, sino que los eritrocitos patológicos suelen producir una obstrucción en los vasos pequeños y dan lugar, por ejemplo, a fibrosis esplénica, infartos orgánicos o cambios óseos. Las numerosas alteraciones distintas en órganos terminales se relacionan todas con el defecto principal en la síntesis de hemoglobina. Por otro lado, la sordera infantil grave, una entidad que clínicamente parece homogénea, se debe a muchos tipos distintos de mutaciones autosómicas recesivas. El reconocimiento de la heterogeneidad genética no solo es importante para el asesoramiento genético, sino también para comprender la patogenia de algunos cuadros frecuentes, como la diabetes mellitus.

Patrones de transmisión de los trastornos monogénicos

Las mutaciones que afectan a genes aislados se heredan por uno de tres mecanismos de herencia: **autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado al cromosoma X**. Las reglas generales que gobiernan la transmisión de los trastornos monogénicos son bien conocidas y solo se comentan unas pocas importantes. Los trastornos monogénicos que siguen patrones de herencia no clásicos se comentan más adelante.

Trastornos autosómicos dominantes

Los trastornos autosómicos dominantes se manifiestan en estado heterocigótico, de forma que al menos un progenitor del caso índice suele estar afectado; se afectan tanto hombres como mujeres y ambos pueden transmitir el cuadro. Cuando una persona afectada tiene descendencia con una no afectada, cada uno de sus hijos tienen una probabilidad del 50% de sufrir la enfermedad. Además de estas reglas básicas, todos los cuadros autosómicos dominantes se caracterizan por:

- *En todos los trastornos autosómicos dominantes, cierto porcentaje de los pacientes no tienen padres afectados.* Estos pacientes deben su enfermedad a mutaciones nuevas en el óvulo o el espermatozoide del que derivan. Sus hermanos no estarán afectados ni tendrán un riesgo aumentado de sufrir la enfermedad. El porcentaje de pacientes que desarrollan la enfermedad por una mutación *de novo* se relaciona con el efecto de la enfermedad sobre la capacidad reproductora. Si una enfermedad reduce de forma importante la capacidad reproductiva, la mayoría de los casos se relacionarán con mutaciones *de novo*. Parece que se producen muchas mutaciones *de novo* en células germinativas de padres relativamente mayores.
- *Las características clínicas se pueden modificar mediante variaciones de la penetrancia y la expresividad.* Algunos individuos heredan el gen mutante, pero su fenotipo es normal. Esto se llama *penetrancia incompleta*. La penetrancia se expresa en términos matemáticos. Por tanto, una penetrancia del 50% indica que un 50% de los portadores de un gen expresan el rasgo. A diferencia de la penetrancia, si un rasgo se encuentra en todos los individuos que son portadores del gen mutante, pero la expresión es distinta en los individuos, se habla de *expresividad variable*. Por ejemplo, las manifestaciones de la neurofibromatosis de tipo 1 varían desde máculas pardas en la piel a múltiples tumoraciones cutáneas con deformidades esqueléticas. Los mecanismos que explican la penetrancia

incompleta y la expresividad variable no se comprenden del todo, pero posiblemente guarden relación con los efectos de otros genes o de factores ambientales que modifican la expresión fenotípica del alelo mutante. Por ejemplo, el fenotipo de un paciente con drepanocitosis (secundaria a una mutación del *locus* de la β -globina) viene condicionado por el genotipo del *locus* de la α -globina, dado que este último condiciona la cantidad total de hemoglobina sintetizada (v. capítulo 14). La influencia de los factores ambientales resulta evidente en los individuos heterocigóticos para la hipercolesterolemia familiar (HF). La expresión de esta enfermedad como ateroesclerosis viene determinada por la ingesta de lípidos en la dieta.

- En muchos cuadros, la edad de aparición se retrasa; los síntomas y signos pueden no aparecer hasta la edad adulta (como en la enfermedad de Huntington).

Los mecanismos moleculares de los trastornos autosómicos dominantes dependen de la naturaleza de la mutación y del tipo de proteína afectada. La mayoría de las mutaciones inducen una disminución de la producción de un producto génico o dan lugar a una proteína disfuncional o inactiva. Que dicha mutación origine una enfermedad dominante o recesiva depende de si la copia remanente del gen es capaz de compensar la pérdida. Así pues, la comprensión de las razones por las que determinadas mutaciones de pérdida de función dan lugar a patrones patológicos dominantes o recesivos requiere el conocimiento de su biología. Muchas enfermedades autosómicas dominantes derivadas de mutaciones perjudiciales se incluyen en un reducido número de patrones familiares:

1. *Enfermedades implicadas en la regulación de las vías metabólicas complejas sometidas a inhibición mediante retroalimentación.* Los receptores de membrana, como los receptores de la lipoproteína de baja densidad (LDL), son un ejemplo de este grupo; en la HF, que se analiza más adelante, una pérdida del 50% de los receptores para LDL determina un incremento secundario del colesterol, que predispone a los heterocigotos afectados a la ateroesclerosis.
2. *Proteínas estructurales esenciales, como el colágeno y los elementos del citoesqueleto de la membrana del eritrocito* (p. ej., espectrina). Los mecanismos bioquímicos mediante los cuales una reducción del 50% de la cantidad de estas proteínas determina un fenotipo anormal no se comprenden por completo. En algunos casos, sobre todo cuando el gen codifica una subunidad de una proteína multimérica, el producto de un alelo mutante puede interferir en el ensamblado de un multímero funcional normal. Por ejemplo, la molécula de colágeno es un trímero en el que las tres cadenas de colágeno se disponen en una configuración helicoidal. Cada una de las tres cadenas de colágeno de la hélice debe ser normal para que se pueda ensamblar la molécula de colágeno y resultar estable. Basta con que una cadena de colágeno aislada esté mutada para que no se puedan formar trímeros de colágeno normales, y esto determina una deficiencia importante de colágeno. En este caso, el alelo mutante se llama *dominante negativo*, porque altera la función de un alelo normal. Este efecto se pone de manifiesto en algunas formas de osteogenia imperfecta, que se caracterizan por una importante deficiencia de colágeno con graves alteraciones esqueléticas (v. capítulo 26).

Menos frecuentes que las mutaciones con pérdida de función son las de *ganancia de función*, que pueden adoptar dos formas. Algunas producen aumento de la función normal de las proteínas, por ejemplo, con un exceso de actividad enzimática. En otros casos, las mutaciones generan una

nueva actividad sin relación alguna con la función normal de las proteínas afectadas. La transmisión de los trastornos generados por las mutaciones con ganancia de función casi siempre es autosómica dominante, como se demuestra en la enfermedad de Huntington (v. capítulo 28). En este proceso, la mutación con repetición de trinucleótidos que afecta al gen de Huntington (v. más adelante) da lugar a una proteína anormal, llamada *huntingtina*, que resulta tóxica para las neuronas y por eso incluso los heterocigotos desarrollan una deficiencia neurológica.

La tabla 5.1 resume algunos trastornos autosómicos dominantes frecuentes. Muchos se comentan en otros capítulos. En este mismo capítulo se comentan unos pocos que no se analizan en otros lugares de la obra para ilustrar algunos principios fundamentales.

Trastornos autosómicos recesivos

Los rasgos autosómicos recesivos representan el grupo más amplio de trastornos mendelianos. Se producen cuando **mutan los dos alelos de un locus genético determinado**. Estos procesos se caracterizan por: 1) el rasgo no suele afectar a los padres del individuo afectado, aunque los hermanos pueden sufrir la enfermedad; 2) los descendientes tienen una probabilidad del 25% de presentar el rasgo (el riesgo de reaparición es del 25% en cada embarazo), y 3) si el gen mutante aparece con baja frecuencia en la población, existe una elevada probabilidad de que el individuo afectado (probando) sea hijo de una pareja consanguínea. Las siguientes características se suelen aplicar a la mayoría de los trastornos autosómicos recesivos y los distinguen de los autosómicos dominantes:

- La expresión del defecto suele ser más uniforme que en los dominantes.
- Es frecuente la penetrancia completa.
- La enfermedad comienza en fases tempranas de la vida.
- Aunque existen mutaciones *de novo* asociadas a trastornos recesivos, es raro detectarlas clínicamente. Dado que el individuo con una mutación *de novo* es un heterocigoto asintomático, pasarán varias generaciones antes de que los descendientes de esta persona se emparejen con otro heterocigoto y tengan descendientes afectados.
- Muchos genes mutados codifican enzimas. En los heterocigotos se producen cantidades similares de enzimas normales y defectuosas. En general, el «margen de seguridad» natural asegura que las células que tienen la mitad de la dotación normal de la enzima puedan funcionar con normalidad.

Tabla 5.1 Trastornos autosómicos dominantes

Sistema	Trastorno
Nervioso	Enfermedad de Huntington Neurofibromatosis Distrofia miotónica Esclerosis tuberosa
Urinario	Poliquistosis renal
Digestivo	Poliposis familiar del colon
Hematopoyético	Esférocitosis hereditaria Enfermedad de von Willebrand
Esquelético	Síndrome de Marfan ^a Síndrome de Ehlers-Danlos (algunas variantes) ^a Osteogenia imperfecta Acondroplasia
Metabólico	Hipercolesterolemia familiar ^a Porfiria intermitente aguda

^aSe comentan en este capítulo. Otros trastornos se analizan en los correspondientes capítulos de esta obra.

Tabla 5.2 Trastornos autosómicos recesivos

Sistema	Trastorno
Metabólico	Fibrosis quística Fenilcetonuria Galactosemia Homocistinuria Enfermedades por depósito lisosómico ^a Deficiencia de α -antitripsina Enfermedad de Wilson Hemocromatosis Glucogenosis ^b
Hematopoyético	Drepanocitosis (anemia drepanocítica) Talasemias
Endocrino	Hiperplasia suprarrenal congénita
Esquelético	Síndrome de Ehlers-Danlos (algunas variantes) ^c Alcaptonuria
Nervioso	Atrofias musculares neurógenas Ataxia de Friedreich Atrofia muscular espinal

^aSe comentan en este capítulo. Muchos otros trastornos se analizan en otros lugares de esta obra.

Los trastornos autosómicos recesivos incluyen casi todos los errores congénitos del metabolismo. Las distintas consecuencias de las deficiencias enzimáticas se analizan más adelante. La tabla 5.2 resume los trastornos más frecuentes de este tipo. La mayoría se explican en otros lugares de la obra y en este capítulo solo se comentan unos pocos prototípicos.

Trastornos ligados al cromosoma X

Todos los trastornos ligados al sexo se relacionan con el cromosoma X y casi todos son recesivos. Existen varios genes en la región masculina específica del cromosoma Y, todos ellos relacionados con la espermatogénesis. *Los hombres con mutaciones de los genes ligados a Y suelen ser infériles y por eso no existe ninguna herencia ligada al cromosoma Y.* Como se comenta más adelante, unos pocos genes adicionales con homólogos en el cromosoma X se han localizado en el cromosoma Y, pero solo se han descrito unos pocos trastornos raros relacionados con mutaciones en estos genes.

La herencia recesiva ligada al cromosoma X es responsable de un pequeño número de trastornos clínicos bien definidos. El cromosoma Y no es homólogo en su mayor parte del cromosoma X, por lo que los genes mutantes del cromosoma X no tienen alelos correspondientes en el cromosoma Y. Por eso, se dice que los hombres son *hemicigóticos* para los genes mutantes ligados al cromosoma X y estos trastornos se expresan en los hombres. Otras características de estos trastornos son:

- Un hombre afectado no transmite el trastorno a sus descendientes hombres, pero todas sus hijas son portadoras. Los descendientes hombres de mujeres heterocigóticas tienen una probabilidad del 50% de recibir el gen mutante.
- Una mujer heterocigótica no suele expresar las alteraciones fenotípicas francas, porque existe un alelo par normal. Dada la inactivación al azar de uno de los dos cromosomas X en las mujeres, estas tienen un porcentaje variable de células con un cromosoma X mutante activo. Por tanto, existe una posibilidad remota de que el alelo normal esté inactivado en la mayor parte de las células, permitiendo la expresión plena de los trastornos heterocigóticos ligados al cromosoma X en mujeres. Sin embargo, lo más frecuente es que el alelo normal esté inactivado solo en algunas de las células y que una mujer heterocigótica exprese el trastorno de forma parcial. Un trastorno ilustrativo es la *deficiencia*

de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD). Transmitida en el cromosoma X, la deficiencia de esta enzima, que predispone a la hemólisis de los eritrocitos en pacientes tratados con algunos tipos de fármacos (v. capítulo 14), se expresa fundamentalmente en los hombres. En las mujeres, un porcentaje de los eritrocitos puede proceder de células precursoras con inactivación del alelo normal. Estos eritrocitos muestran el mismo riesgo de sufrir hemólisis que los eritrocitos de los hombres hemicigóticos. Por tanto, las mujeres no son solo portadoras del rasgo, sino que pueden sufrir también reacciones hemolíticas asociadas a fármacos. Dado que el porcentaje de eritrocitos defectuosos en las mujeres heterocigóticas depende de la inactivación al azar de uno de los cromosomas X, la gravedad de la reacción hemolítica casi siempre será menor en las mujeres heterocigóticas que en los hombres hemicigóticos. La mayor parte de los trastornos ligados al cromosoma X de la tabla 5.3 se analizan en otros capítulos de la obra.

Son pocos los trastornos *ligados al cromosoma X dominantes*. Se deben a alelos dominantes asociados a enfermedad en el cromosoma X y se transmiten por la mujer heterocigótica afectada a la mitad de sus hijos y la mitad de sus hijas, y por un padre afectado a todas sus hijas y ninguno de sus descendientes masculinos, siempre que la madre no esté afectada. El raquitismo resistente a la vitamina D y el síndrome de Alport son ejemplos de este tipo de herencia.

CONCEPTOS CLAVE

PATRONES DE TRANSMISIÓN DE LOS TRASTORNOS MONOGÉNICOS

- Los trastornos autosómicos dominantes se caracterizan por su expresión en un estado heterocigótico. Afectan igualmente a hombres y mujeres, y ambos sexos pueden transmitirlos.
- Las proteínas enzimáticas no se ven afectadas por los trastornos autosómicos dominantes, que suelen involucrar a los receptores y las proteínas estructurales.
- Las enfermedades autosómicas recesivas se producen cuando las dos copias de un gen están mutadas. Las proteínas enzimáticas se ven implicadas con frecuencia. Hombres y mujeres resultan afectados con igual frecuencia.
- Los trastornos ligados al cromosoma X son transmitidos por mujeres heterocigóticas a sus hijos, que manifiestan la enfermedad. Las portadoras femeninas suelen estar protegidas por la inactivación aleatoria de un cromosoma X.

Tabla 5.3 Trastornos recesivos ligados al cromosoma X

Sistema	Trastorno
Musculoesquelético	Distrofia muscular de Duchenne
Sangre	Hemofilia A y B Enfermedad granulomatosa crónica Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
Inmunitario	Agammaglobulinemia Síndrome de Wiskott-Aldrich
Metabólico	Diabetes insípida Síndrome de Lesch-Nyhan
Nervioso	Síndrome del cromosoma X frágil ^d

^dSe comenta en este capítulo. Otros trastornos se analizan en los correspondientes capítulos de esta obra.

Bases moleculares y bioquímicas de los trastornos monogénicos (mendelianos)

Los trastornos mendelianos se deben a alteraciones de un solo gen. El defecto genético puede condicionar la formación de una proteína anormal o una reducción en la fabricación del producto del gen. Virtualmente, cualquier tipo de proteína se puede afectar en un trastorno monogénico y por diversos mecanismos (tabla 5.4). En cierta medida, el patrón de herencia de la enfermedad se relaciona con el tipo de proteína implicada por la mutación. En este apartado, los mecanismos implicados en los trastornos monogénicos se clasifican en cuatro grupos: 1) defectos enzimáticos y sus consecuencias; 2) defectos de los receptores de la membrana y los sistemas de transporte; 3) alteraciones de la estructura, función o cantidad de las proteínas no enzimáticas, y 4) mutaciones que determinan reacciones infrecuentes frente a fármacos.

Defectos enzimáticos y sus consecuencias

Las mutaciones pueden determinar la síntesis de una enzima con una menor actividad o una cantidad reducida de una enzima normal. En ambos casos se produce un bloqueo metabólico. La figura 5.5 muestra un ejemplo de una reacción enzimática en la que las enzimas intracelulares, que se marcan como 1, 2 y 3, convierten el sustrato en un producto final, generando las sustancias intermedias 1 y 2. En este modelo, el producto final

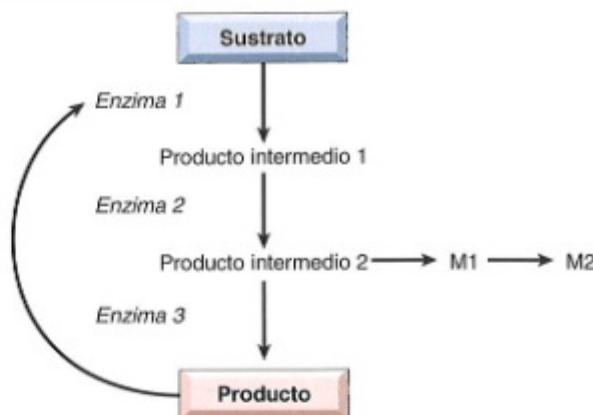


Figura 5.5 Posible vía metabólica en la que un sustrato se convierte en un producto final mediante una serie de reacciones enzimáticas. M1, M2, productos de una vía menor.

ejerce un control de retroalimentación sobre la enzima 1. Existe una vía menor que da lugar a cantidades más pequeñas de M1 y M2. Las consecuencias bioquímicas de un defecto enzimático en este tipo de reacción pueden ser fundamentalmente tres:

- **Acumulación del sustrato**, según el lugar del bloqueo, que se puede asociar a la acumulación de uno o ambos productos intermedios. Además, un aumento de la concentración del

Tabla 5.4 Bases bioquímicas y moleculares de algunos trastornos mendelianos

Tipo de proteína/función	Ejemplo	Lesión molecular	Enfermedad
Enzima	Fenilalanina hidroxilasa	Mutación en el lugar de separación: reducción de la cantidad	Fenilcetonuria
	Hexosaminidasa A	Mutación en el lugar de separación o mutación de la pauta de lectura con codón de interrupción: reducción de la cantidad	Enfermedad de Tay-Sachs
	Adenosina desaminasa	Mutaciones puntuales: proteína anormal con actividad reducida	Inmunodeficiencia combinada grave
Inhibidor de enzimas	α_1 -antitripsina	Mutaciones de sentido erróneo: alteraciones de la secreción del hígado al suero	Enfisema y hepatopatía
Receptor	Receptor de la lipoproteína de baja densidad	Delecciones, mutaciones puntuales, reducción de la síntesis, transporte a la superficie celular o unión a la lipoproteína de baja densidad	Hipercolesterolemia familiar
	Receptor de la vitamina D	Mutaciones puntuales: fallo de la transmisión normal de señales	Raquitismo resistente a la vitamina D
Transporte			
Oxígeno	Hemoglobina	Delecciones: reducción de la cantidad Procesamiento inadecuado del ARNm: reducción de la cantidad Mutaciones puntuales: estructura anormal	α -talasemia β -talasemia
Canales iónicos	Regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística	Delecciones y otras mutaciones: proteínas no funcionales o mal plegadas	Drepanocitosis
Estructural			
	Colágeno	Delecciones o mutaciones puntuales que reducen la cantidad de colágeno normal o provocan cantidades normales de colágeno defectuoso	Osteogenia imperfecta Síndromes de Ehlers-Danlos
	Fibrilina	Mutaciones de sentido erróneo	Síndrome de Marfan
	Distrofina	Delección con reducción de la síntesis	Distrofia muscular de Duchenne/Becker
	Anquirina, espectrina o proteína 4.1	Heterogéneo	Esferocitosis hereditaria
Hemostasia	Factor VIII	Delecciones, inserciones, mutaciones sin sentido y otras: reducción de la síntesis o factor VIII anormal	Hemofilia A
Regulación del crecimiento	Proteína Rb Neurofibromatina	Delecciones Heterogéneo	Retinoblastoma hereditario Neurofibromatosis de tipo I

producto intermedio 2 puede estimular la vía menor y condicionar un exceso de M1 y M2. En estas condiciones, puede aparecer un daño tisular cuando el precursor, los productos intermedios o los productos de las vías alternativas menores resultan tóxicos en concentraciones altas. Por ejemplo, en la galactosemia, la deficiencia de galactosa-1-fosfato uridiltransferasa (v. capítulo 10) condiciona la acumulación de galactosa, con la consiguiente lesión tisular. Una acumulación excesiva de sustratos complejos dentro de los lisosomas como consecuencia de la deficiencia de enzimas responsables de su degradación es responsable de un grupo de trastornos que se suelen denominar *enfermedades por depósito lisosómico*.

- Un defecto enzimático puede ocasionar un bloqueo metabólico con reducción del producto final, que puede ser necesario para una función normal. Por ejemplo, una deficiencia de melanina se puede deber a una ausencia de tirosinasa, necesaria para la síntesis de melanina a partir de su precursor, la tirosina. Esta alteración determina el trastorno clínico llamado *albinismo*. Si el producto final es un inhibidor mediante retroalimentación de las enzimas implicadas en las reacciones iniciales (en la fig. 5.5 se ve que el producto inhibe la enzima 1), la deficiencia del producto final permite la sobreproducción de productos intermedios y de sus productos catabólicos, algunos de los cuales pueden ser dañinos en concentraciones altas. Un ejemplo importante de una enfermedad con este mecanismo es el síndrome de Lesch-Nyhan (v. capítulo 26).
- Incapacidad de inactivar un sustrato lesivo para los tejidos, cuyo mejor ejemplo es la deficiencia de α_1 -antitripsina sérica. Los pacientes con este cuadro hereditario no consiguen inactivar la elastasa de los neutrófilos en los pulmones. La actividad no controlada de esta proteasa destruye la elastina de las paredes de los alvéolos pulmonares, lo que culmina en un enfisema pulmonar (v. capítulo 15).

Defectos en los receptores y sistemas de transporte

Como se comentó en el capítulo 1, las sustancias con actividad biológica tienen que ser transportadas de forma activa a través de la membrana celular. En algunos casos, el transporte se realiza por la endocitosis mediada por receptor. Un defecto genético del sistema de transporte mediado por receptor es la hipercolesterolemia familiar (HF), en la que la reducción de la síntesis o la función de los receptores de LDL alteran el transporte de LDL al interior de las células y provoca de forma secundaria un aumento de la síntesis de colesterol por mecanismos intermedios complejos. En la fibrosis quística, se produce un defecto en el sistema de transporte de los iones cloruro y bicarbonato de las glándulas exocrinas, sudoríparas, pulmones y páncreas. Esta alteración del transporte del anión determina, por mecanismos no bien comprendidos, lesiones graves en los pulmones y el páncreas (v. capítulo 10).

Alteraciones de la estructura, función o cantidad de proteínas no enzimáticas

Los defectos genéticos que determinan alteraciones de las proteínas no enzimáticas suelen tener amplios efectos secundarios, como se puede ver en la drepanocitosis. Las hemoglobinopatías, entre las cuales se incluye la drepanocitosis, se caracterizan todas por defectos en la estructura de la molécula de globina y son los mejores ejemplos dentro de este grupo. A diferencia de las hemoglobinopatías, las talasemias se producen por mutaciones en los genes de la globina que alteran la cantidad de cadenas de la globina que se sintetizan. Las talasemias se asocian a una cantidad reducida de cadenas de α -globina o β -globina de estructura normal (v. capítulo 14). Otros ejemplos de trastornos genéticos que implican proteínas estructurales con alteraciones son osteogenia imperfecta (defecto en el colágeno;

v. capítulo 26), la esferocitosis hereditaria (espectrina; v. capítulo 14) y las distrofias musculares (distrifina; v. capítulo 27).

Reacciones adversas a fármacos determinadas genéticamente

Algunas deficiencias enzimáticas de origen genético solo se ponen de manifiesto cuando el individuo afectado se expone a ciertos fármacos. Este campo especial de la genética, llamado *farmacogenética*, tiene una notable importancia clínica. El ejemplo clásico de lesión secundaria a fármacos en pacientes con una susceptibilidad genética es la deficiencia de la enzima G6PD. En condiciones normales, la deficiencia de G6PD no determina enfermedad, pero cuando se administra, por ejemplo, el antipalúdico primaquina, se desarrolla una anemia hemolítica grave (v. capítulo 14). En estos últimos años se han descrito cada vez más polimorfismos de los genes que codifican enzimas, transportadores y receptores implicados en el metabolismo de los fármacos. En algunos casos, estos hallazgos genéticos influyen mucho sobre la sensibilidad ante el fármaco y los efectos secundarios. Se espera que los avances en farmacogenética consigan desarrollar tratamientos ajustados al paciente, un ejemplo de medicina personalizada.

Tras esta introducción a la base bioquímica de los trastornos monogénicos, vamos a plantear algunos ejemplos elegidos de este grupo según el defecto de base.

Trastornos asociados a defectos en las proteínas estructurales

La tabla 5.4 recoge una serie de enfermedades secundarias a mutaciones de los genes que codifican proteínas estructurales. Muchas se comentan en otros lugares de esta obra y aquí solo se analizarán los síndromes de Marfan y Ehlers-Danlos (SED), porque afectan al tejido conjuntivo, implicando, por ello, a múltiples sistemas orgánicos.

Síndrome de Marfan

El síndrome de Marfan es un trastorno de los tejidos conjuntivos, que cursa con cambios en el esqueleto, los ojos y el aparato cardiovascular. La prevalencia estimada es 1 de cada 5.000 personas. Un 70-85% de los casos son familiares y se heredan de forma autosómica dominante, mientras que el resto son esporádicos y se producen por mutaciones *de novo*.

Patogenia

El síndrome de Marfan se debe a un defecto hereditario de la glucoproteína extracelular llamada *fibrilina 1*. Hay dos mecanismos fundamentales a través de los cuales la reducción de fibrilina da lugar a las manifestaciones clínicas del síndrome de Marfan: pérdida de soporte estructural del tejido conjuntivo rico en microfibrillas y activación excesiva de la transmisión de señales mediada por el factor de crecimiento transformante β (TGF- β). Cada uno de ellos se analiza a continuación.

- La fibrilina es el principal componente de las microfibrillas de la matriz extracelular (v. capítulo 1). Estas fibrillas aportan un andamiaje sobre el cual se deposita tropoelastina para formar las fibras elásticas. Aunque las microfibrillas se distribuyen de forma amplia por el cuerpo, son especialmente abundantes en la aorta, ligamentos y zónulas ciliares que dan soporte al cristalino; estos tejidos son los más afectados en esta enfermedad. La fibrilina existe en dos formas homólogas, la fibrilina 1 y la fibrilina 2, que se codifican en genes separados, *FBN1* y *FBN2*, localizados en los cromosomas 15q21.1 y 5q23.31, respectivamente. Las mutaciones de *FBN1* son la base del síndrome de Marfan, mientras que las mutaciones

del gen *FBN2* relacionado son menos frecuentes y originan la *aracnodactilia contractural congénita*, un trastorno autosómico dominante caracterizado por malformaciones esqueléticas. El análisis mutacional ha demostrado cerca de 1.000 mutaciones diferentes del gen *FBN1* en individuos con síndrome de Marfan. La mayoría son mutaciones de sentido erróneo que determinan la producción de una fibrilina 1 anormal. Ello puede inhibir la polimerización de fibras de fibrilina (efecto negativo dominante). Alternativamente, la reducción del contenido de fibrilina por debajo de un determinado umbral debilita el tejido conjuntivo (haploinsuficiencia).

- **Biodisponibilidad de TGF- β .** Aunque muchas de las manifestaciones del síndrome de Marfan se pueden explicar por cambios en las propiedades mecánicas de la matriz extracelular secundarias a estas alteraciones en la fibrilina, muchas otras, como el sobrecrecimiento óseo y los cambios mixoides en las válvulas mitrales, no se pueden explicar por cambios en la elasticidad tisular. En la actualidad está confirmado que la fibrilina 1 controla la disponibilidad del TGF- β . Las formas reducidas o alteradas de la fibrilina 1 provocan una activación anómala o excesiva del TGF- β , ya que las microfibrillas normales secuestran el TGF- β . La señalización excesiva de TGF- β , a su vez, produce inflamación, tiene efectos nocivos sobre el desarrollo del músculo liso vascular y aumenta la actividad de las metaloproteasas, causando pérdida de matriz extracelular. Esta teoría se ve avalada por dos grupos de observaciones.
- En primer lugar, las mutaciones con ganancia de función en el receptor del TGF- β de tipo II generan un síndrome relacionado, llamado síndrome de Marfan de tipo II (MFS2). Además, los pacientes con mutaciones en la línea germinal en una isoforma de TGF- β , llamada TGF- β 3, presentan una predisposición hereditaria al desarrollo de aneurismas aórticos y otras manifestaciones cardiovasculares, similares a las halladas en el síndrome de Marfan clásico.
- En segundo lugar, los antagonistas de los receptores de la angiotensina II, que inhiben la actividad del TGF- β , reducen significativamente el diámetro de la raíz aórtica en modelos murinos de síndrome de Marfan. Se están desarrollando ensayos clínicos para evaluar la eficacia de los antagonistas de los receptores de angiotensina en pacientes con síndrome de Marfan.

MORFOLOGÍA

Las alteraciones esqueléticas son la característica más llamativa del síndrome de Marfan. Es típico que el paciente sea inusualmente alto, con extremidades exageradamente largas y dedos afilados y largos en manos y pies. Los ligamentos articulares de las manos y pies son laxos, lo que sugiere que el paciente tiene una articulación doble. Es típico que el pulgar se pueda hiperextender hasta la muñeca. La cabeza característica es doliocéfala (larga), con abombamiento de las eminencias frontales y rebordes supraorbitarios prominentes. Pueden aparecer distintas malformaciones vertebrales, como cifosis, escoliosis o rotación o deslizamiento de las vértebras torácicas o lumbares. El tórax muestra clásicamente un aspecto deformado, que puede corresponder a un *pectus excavatum* (esternón deprimido en profundidad) o una deformidad en tórax de paloma.

Los **cambios oculares** son muy diversos. La alteración más característica es una subluxación bilateral o luxación (en general hacia arriba y afuera) del cristalino, que se llama *ectopia lentis*. Esta alteración, secundaria al debilitamiento de las zónulas ciliares, es tan infrecuente en pacientes sin este trastorno que la identificación de una ectopia del cristalino bilateral debería hacer sospechar un síndrome de Marfan.

Las **lesiones cardiovasculares** son las que pueden amenazar la vida de estos pacientes. Las dos lesiones más frecuentes son el prolapse de la válvula mitral, que se produce en el 40-50% de los casos y, con mayor importancia, la dilatación de la aorta ascendente por necrosis quística de la media. A nivel histológico, estos cambios de la media son virtualmente idénticos a los descritos en la necrosis quística de la media no relacionada con el síndrome de Marfan (v. capítulo 12). La pérdida de soporte de la media determina una dilatación progresiva del anillo valvular aórtico y la raíz de la aorta, que da lugar a una insuficiencia aórtica grave. El debilitamiento de la media predispone a los desgarros intimales, que pueden iniciar un hematoma intramural que separa las capas de la media y da origen a la **disección de la aorta**. Tras separar las capas de la aorta en una distancia notable, que en ocasiones puede llegar a la raíz de la aorta e incluso hasta las arterias ilíacas, la hemorragia suele romper la pared aórtica.

Características clínicas

Aunque las lesiones valvulares mitrales son más frecuentes, tienen menos repercusión clínica que las lesiones aórticas. La pérdida del soporte de tejido conjuntivo de las valvas de la válvula mitral las hace blandas y maleables, determinando las llamadas «válvulas fofas» (v. capítulo 12). Las lesiones valvulares, junto con la elongación de las cuerdas tendinosas, suele provocar una insuficiencia mitral. Pueden describirse cambios parecidos en la válvula tricúspide y, en menos casos, en la válvula aórtica. La ecocardiografía aumenta de forma importante la capacidad de detección de estas alteraciones cardiovasculares, por lo que tiene una gran utilidad para el diagnóstico de síndrome de Marfan. La mayoría de las muertes se deben a la rotura de las disecciones aórticas, seguidas en importancia de la insuficiencia cardíaca.

Aunque las lesiones que se acaban de describir son típicas del síndrome de Marfan, se debe recordar la gran variabilidad de la expresión clínica de este trastorno genético. Los pacientes con notables cambios oculares o cardiovasculares pueden presentar escasas alteraciones esqueléticas, mientras que otros desarrollan notables alteraciones del hábito corporal sin trastornos oculares. Aunque la variabilidad en la expresión clínica puede aparecer dentro de una familia, la variabilidad interfamiliar es mucho más común y extensa. Debido a tales variaciones, el diagnóstico clínico de síndrome de Marfan se basa actualmente en los llamados criterios revisados de Gante. En ellos se tienen en cuenta los antecedentes familiares, los signos clínicos cardinales en ausencia de ellos, y la presencia o ausencia de mutación de la fibrilina. En general, se exige una afectación importante de dos de los cuatro sistemas orgánicos implicados (esquelético, cardiovascular, ocular y cutáneo) y menor de otros órganos para establecer el diagnóstico.

La expresión variable del defecto del Marfan se explica mejor sobre la base de las numerosas mutaciones diferentes que afectan al *locus* de la fibrilina, cuyo número es alrededor de 1.000. Tal heterogeneidad genética plantea, además, grandes problemas para el diagnóstico del síndrome de Marfan. Las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento actualmente en evolución, expuestas más adelante en este capítulo, podrían solventar este problema en el futuro.

Síndromes de Ehlers-Danlos (SED)

Los SED comprenden un grupo de trastornos clínica y genéticamente heterogéneos que se deben a algunas mutaciones en los genes que codifican el colágeno, las enzimas modificadoras del colágeno y, con menor frecuencia, otras proteínas presentes en la matriz extracelular. Otros trastornos secundarios a mutaciones que alteran la síntesis de colágeno incluyen la osteogenia imperfecta (v. capítulo 26), el síndrome de Alport (v. capítulo 20) y la epidermolisis ampollosa (v. capítulo 25).

La síntesis de colágeno es un proceso complejo (v. capítulo 1) que se puede alterar por errores genéticos que afectan a uno de los numerosos genes del colágeno estructural o de las enzimas necesarias para la modificación del colágeno tras la traducción. Por tanto, el tipo de herencia del SED incluye los tres patrones mendelianos. Según las características clínicas y moleculares, se describen seis variantes de SED, que se recogen en la tabla 5.5. Más recientemente, la secuenciación masiva ha identificado otros subgrupos hasta llegar a un total de 11 tipos moleculares. Aunque individualmente infrecuentes, la frecuencia colectiva de los SED es de 1 de cada 5.000 nacimientos. Queda fuera del alcance de esta obra comentar cada variante de forma individualizada; se resumen los rasgos clínicos importantes comunes a la mayoría de las variantes y se correlacionan algunas de estas manifestaciones clínicas con los defectos moleculares de base en la síntesis o la estructura del colágeno.

Como cabría esperar, los tejidos ricos en colágeno, como la piel, los ligamentos o las articulaciones, se afectan con frecuencia en la mayoría de las variantes de SED. Dado que las fibras de colágeno anormales no tienen una fuerza de tensión adecuada, *la piel es hiperextensible y las articulaciones son hipermóviles*. Estos rasgos permiten al paciente realizar contorsiones grotescas, como empujar el pulgar hacia atrás hasta alcanzarse el antebrazo o doblar la rodilla hacia delante hasta casi crear un ángulo recto. Se cree que la mayoría de los contorsionistas sufren algún tipo de SED. Sin embargo, uno de los precios que deben pagar por esta capacidad es la tendencia a sufrir luxaciones articulares. *La piel es extremadamente elástica y muy frágil, y en ella aparecen equimosis con facilidad.* Las lesiones menores producen soluciones de continuidad y la reparación o intervención quirúrgica resulta difícil por la falta de fuerza de tensión normal. *El defecto básico del tejido conjuntivo puede ocasionar graves complicaciones internas*, entre otras, rotura del colon y de las arterias de gran calibre (SED vascular), fragilidad ocular con rotura de la córnea y desprendimiento de la retina (SED con cifoescoliosis) y hernia diafragmática (SED clásico).

Las bases bioquímicas y moleculares de estas anomalías se conocen en todas las formas de SED excepto una, la llamada de tipo hipermóvil. Se describen de forma breve algunos tipos de SED, porque aportan algunas explicaciones sobre la sorprendente heterogeneidad clínica de estos trastornos. Quizá el síndrome mejor caracterizado es el de *tipo cifoescoliosis*, la forma autosómica recesiva de SED más frecuente. Se debe a mutaciones del gen *PLOD1* que codifica la lisilo hidroxilasa, una enzima necesaria para la hidroxilación de los residuos de lisina durante la síntesis del colágeno. Los pacientes afectados muestran una notable reducción de las concentraciones de esta enzima. Dado que la hidroxilisina resulta fundamental para la formación de enlaces cruzados inter- e intramoleculares en las fibras de colágeno, la deficiencia de lisilo hidroxilasa se traduce en la síntesis de un colágeno sin la estabilidad estructural normal.

El *SED de tipo vascular* se debe a alteraciones del colágeno de tipo III. Esta variante muestra heterogeneidad genética, porque se han descrito al menos tres mutaciones distintas que afectan al gen *COL3A1* que codifica el colágeno de tipo III como responsables de esta variante. Algunas mutaciones afectan a la velocidad de síntesis de cadenas pro- α 1 (III), otras a la secreción de procolágeno de tipo III y otras determinan la síntesis de un colágeno de tipo III con alteraciones estructurales. Algunos alelos mutantes se comportan como dominantes negativos (v. comentario en «Trastornos autosómicos dominantes») y dan lugar a efectos fenotípicos importantes. Estos estudios moleculares son una base fundada para el patrón de transmisión y las características clínicas propias de esta variante. En primer lugar, dado que el SED de tipo vascular se debe a mutaciones que afectan a una proteína estructural (en lugar de una enzima), cabría esperar un patrón de herencia autosómico dominante. En segundo lugar, dado que se sabe que los vasos y el intestino son ricos en colágeno de tipo III, una alteración en este tipo de colágeno se asocia a trastornos estructurales graves (p. ej., vulnerabilidad a la rotura espontánea) de estos órganos. A diferencia de lo que sucede en muchos otros subtipos de SED, la piel no suele ser hiperextensible.

En dos formas de SED, la artrocalasia y la dermatosparaxis, el defecto fundamental se localiza en la conversión del procolágeno de tipo I en colágeno. Este paso de la síntesis de colágeno consiste en la rotura de los péptidos no colágenos en los extremos N y C terminales de la molécula de procolágeno, proceso que se realiza mediante peptidasas específicas para cada uno de los extremos. El defecto en la conversión de procolágeno a colágeno en la variante de tipo artrocalasia se ha localizado en mutaciones que afectan a los dos genes del colágeno de tipo I, *COL1A1* y *COL1A2*. En consecuencia, se forman cadenas pro- α 1 (I) y pro- α 2 (II) que resisten a la separación de los péptidos N terminales. En los pacientes con un solo alelo mutante, un 50% de las cadenas de colágeno de tipo I son anormales, pero como estas cadenas interfieren en la formación de las hélices de colágeno normales, los heterocigotos manifiestan la enfermedad. Por el contrario, la variante relacionada de tipo dermatosparaxis se debe a mutaciones en el gen *ADAMTS2* que codifica la colágeno-N-peptidasa, esencial para la separación de los procolágenos. Como en este caso la enfermedad es causada por una carencia enzimática, sigue una forma de herencia autosómica recesiva.

En el *tipo clásico de SED*, el análisis molecular indica que pueden estar implicados genes distintos de los que codifican el colágeno. En cerca del 90% de los casos, se detectan mutaciones en los genes del colágeno de tipo V (*COL5A1* y *COL5A2*). Es sorprendente que, a pesar de la similitud clínica con el SED de tipo clásico, no se describan alteraciones del gen del colágeno en los demás casos. Se sospecha que es posible que, en ocasiones, se vean indirectamente implicados los defectos genéticos que afec-

Tabla 5.5 Clasificación de los síndromes de Ehlers-Danlos

Tipo de SED*	Hallazgos clínicos	Herencia	Defectos genéticos
Clásico (I/II)	Hipermovilidad articular y de la piel, cicatrices atróficas, hematomas de aparición rápida	Autosómica dominante	<i>COL5A1</i> , <i>COL5A2</i>
Hipermovilidad (III)	Hipermovilidad articular, dolor, luxaciones	Autosómica dominante	Desconocido
Vascular (IV)	Piel delgada, rotura arterial o uterina, hematomas, hiperextensibilidad de las articulaciones pequeñas	Autosómica dominante	<i>COL3A1</i>
Cifoescoliosis (VI)	Hipotonía, laxitud articular, escoliosis, fragilidad ocular	Autosómica recesiva	Lisilo hidroxilasa
Artrocalasia (VIIa, VIIb)	Hipermovilidad articular importante, cambios cutáneos (leves), escoliosis, hematomas	Autosómica dominante	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i>
Dermatosparaxis (VIIc)	Fragilidad extrema de la piel, piel laxa, hematomas	Autosómica recesiva	N-peptidasa del procolágeno

*Los tipos de SED se clasificaban antes con números romanos. Entre paréntesis se muestran los equivalentes numéricos previos.

tan a la biosíntesis de otras moléculas de la matriz extracelular que influyen en la síntesis de colágeno. Un ejemplo es un trastorno similar al SED clásico causado por una mutación en el gen *TNXB*, que codifica la tenascina X, una proteína multimérica grande que interactúa con los colágenos de tipo fibrilar I, III y V.

En resumen, el hilo conductor en el SED es alguna alteración del colágeno. Sin embargo, estos trastornos resultan extremadamente heterogéneos. A nivel molecular se describen diversos defectos, que van desde mutaciones en los genes estructurales del colágeno a mutaciones en enzimas responsables de las modificaciones del ARNm tras la transcripción. Esta heterogeneidad molecular se traduce en la expresión del SED como cuadros clínicos variables con distintos modos de herencia.

CONCEPTOS CLAVE

SÍNDROME DE MARFAN Y SÍNDROMES DE EHLDERS-DANLOS

Síndrome de Marfan

- El síndrome de Marfan es causado por una mutación en el gen *FBNI* que codifica la fibrilina, proteína necesaria para la integridad estructural de los tejidos conjuntivos y la regulación de transmisión de señales de TGF-β.
- Los principales tejidos conjuntivos afectados son los del esqueleto, ojos y aparato cardiovascular.
- Las características clínicas incluyen talla alta, dedos largos, subluxación bilateral del cristalino, prolapsio de la válvula mitral, aneurisma aórtico y disección aórtica.

Síndromes de Ehlers-Danlos

- Hay varias variantes de SED, todas las cuales se caracterizan por defectos en la síntesis o el ensamblaje de colágeno. Cada variante es causada por una mutación diferente que afecta a uno de los siete genes del colágeno o a los genes que codifican otras proteínas de la MEC, como la tenascina X.
- Entre sus características clínicas se cuentan piel hiperextensible frágil, vulnerable a los traumatismos, hipermovilidad articular y roturas que afectan al colon, la córnea o las grandes arterias. La cicatrización de las heridas es deficiente.

Trastornos asociados a defectos en las proteínas receptoras

Hipercolesterolemia familiar

La hipercolesterolemia familiar (HF) está causada habitualmente por mutaciones en el gen que codifica el receptor de LDL, que inducen una eliminación inadecuada de las LDL plasmáticas por el hígado. Las mutaciones en el gen del receptor de LDL (*LDLR*) son responsables de entre el 80 y el 85% de los casos de HF. Con mucha menor frecuencia, la HF la causan mutaciones en dos genes implicados en la eliminación de LDL plasmáticas. Dichos genes codifican: 1) la apolipoproteína B-100 (ApoB), el ligando para el receptor de LDL en la partícula de LDL (el 5-10% de los casos), y 2) la proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9 (el 1-2% de los casos). Esta enzima, más conocida por su abreviatura *PCSK9*, reduce la expresión de receptores de LDL, regulando a la baja su reciclado y consiguiente degradación en los lisosomas. Cada uno de estos tres tipos de mutaciones altera la eliminación hepática de LDL y aumenta las concentraciones séricas de colesterol, dando lugar a una ateroesclerosis prematura y a un sensible aumento del riesgo de infarto de miocardio. Las funciones de estos genes en el metabolismo del colesterol se tratan más adelante.

La HF causada por mutaciones en el receptor de LDL es uno de los trastornos mendelianos más frecuentes. Los heterocigotos con un gen mutante representan 1 de cada 200 individuos y presentan desde el nacimiento un incremento al doble o el triple de las concentraciones de colesterol plasmático, lo que se traduce en la formación de xantomas tendinosos y ateroesclerosis prematura en la edad adulta (v. capítulo 11). Los homocigotos, que tienen una dosis doble del gen mutante, se afectan de forma mucho más grave y presentan un aumento en 5-6 veces del colesterol plasmático. Estos pacientes desarrollan xantomas cutáneos y ateroesclerosis coronaria, cerebral y vascular periférica en edades tempranas. Pueden sufrir infartos de miocardio antes de los 20 años. Los estudios a gran escala han demostrado que un 3-6% de los pacientes que sobreviven a un infarto de miocardio presentan una HF.

Metabolismo y transporte normales del colesterol

El colesterol puede proceder de la dieta o de la síntesis endógena. Los triglicéridos y el colesterol aportados por la dieta se incorporan a los quilomicrones en la mucosa intestinal y, a través de los vasos linfáticos del intestino, pasan a la sangre. Estos quilomicrones son hidrolizados por una lipoproteína lipasa en los capilares del músculo y la grasa. Los restos de quilomicrones, ricos en colesterol, a continuación se envían al hígado. Parte del colesterol entra en la reserva metabólica (que se describirá más adelante) y parte se excreta como colesterol libre o como ácidos biliares a las vías biliares. La síntesis endógena de colesterol y LDL comienza en el hígado (fig. 5.6). El primer paso de este proceso es la secreción de

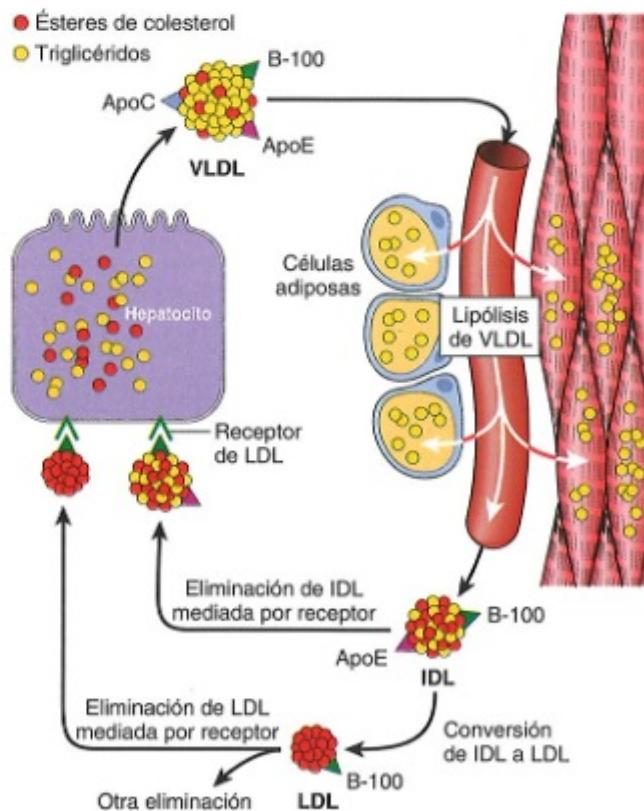


Figura 5.6 Metabolismo de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y papel del hígado en su síntesis y eliminación. La lipólisis de la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) por la lipoproteína lipasa en los capilares libera triglicéridos, que se depositan posteriormente en las células adiposas y se utilizan como fuente energética para los músculos esqueléticos. ApoC, apolipoproteína C; ApoE, apolipoproteína E; B-100, apolipoproteína B-100 (ApoB); IDL, lipoproteína de densidad intermedia.

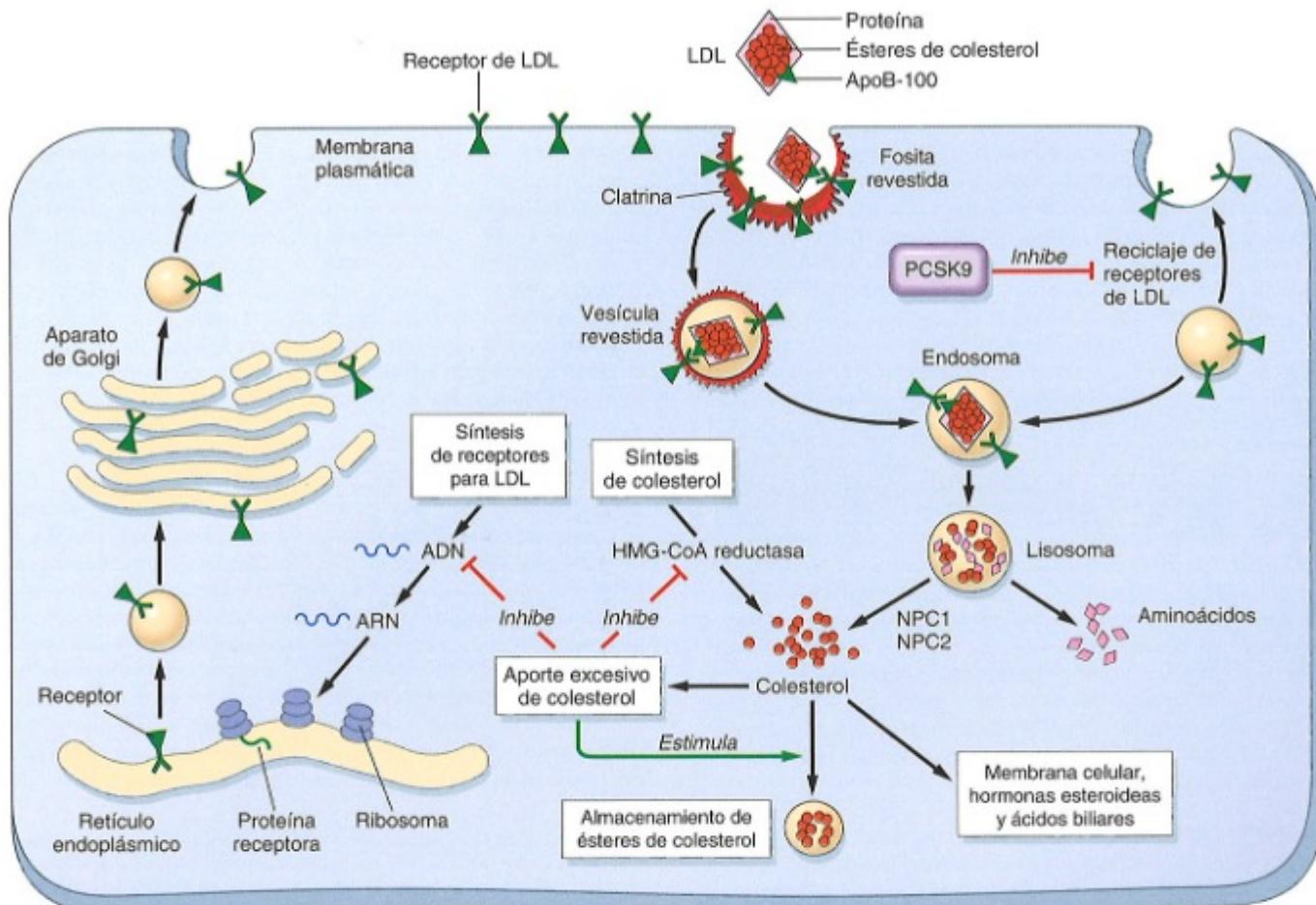


Figura 5.7 Vía del receptor para lipoproteína de baja densidad (LDL) y regulación del metabolismo del colesterol. ApoB-100, apolipoproteína B-100 (ApoB); HMG-CoA, 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A.

lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) del hígado a la sangre. Las partículas de VLDL son ricas en triglicéridos, aunque contienen menos cantidad de ésteres de colesterol. Además, son portadoras de las apolipoproteínas ApoB, ApoC y ApoE en su superficie. En los capilares del tejido adiposo y el músculo, las partículas de VLDL sufren lipólisis y se convierten en restos de VLDL, también llamados lipoproteínas de densidad intermedia (IDL). En comparación con las VLDL, las partículas de IDL tienen un menor contenido en triglicéridos y más ésteres de colesterol. La ApoC se pierde, pero la ApoB y la ApoE se retienen. Tras liberarse del endotelio capilar, las partículas de IDL pueden tener dos destinos distintos. Un 50% de la IDL recién formada es captada por el hígado mediante un transporte mediado por receptor. El receptor responsable de la unión de IDL a la membrana del hepatocito reconoce tanto la ApoB como la ApoE, y se llama ApoB/E o, con más frecuencia, receptor de LDL, porque participa también en la eliminación de LDL por parte del hígado, como se comenta más adelante. En los hepatocitos, la IDL se recicla para generar VLDL. Las partículas de IDL no captadas por el hígado son sometidas a un procesamiento metabólico adicional que elimina la mayoría de los triglicéridos que quedan y la ApoE, dando lugar a ApoB que transporta partículas de LDL ricas en colesterol.

Aunque muchos tipos de células, incluidos fibroblastos, linfocitos, células musculares lisas, hepatocitos y células corti-

cosuprarrenales, presentan receptores de LDL de alta afinidad, un 70% del LDL plasmático se elimina en el hígado, mediante un proceso de transporte bastante sofisticado (fig. 5.7). El primer paso consiste en la unión de LDL a los receptores de superficie celular, que se acumulan en regiones especializadas de la membrana plasmática llamadas *fositas revestidas* (v. capítulo 1). Tras la unión, estas fositas revestidas que contienen la LDL ligada al receptor se internalizan mediante invaginación y dan lugar a las vesículas revestidas, tras lo cual migran dentro de la célula y se fusionan con los lisosomas. En ellos, la LDL se separa de su receptor, que se recicla hacia la superficie. El reciclado de los receptores de LDL es regulado por la PCSK9, que se une a los receptores de LDL en la superficie de los hepatocitos y produce su degradación tras la endocitosis. En los lisosomas, la molécula de LDL sufre una degradación enzimática; la parte apoproteína se hidroliza a aminoácidos, mientras que los ésteres de colesterol se degradan a colesterol libre. Este colesterol libre atraviesa a su vez la membrana lisosómica y entra en el citoplasma, donde se emplea para la síntesis de membrana y como regulador de la homeostasis del colesterol. La salida del colesterol del lisosoma necesita de la acción de dos proteínas, llamadas NPC1 y NPC2 (v. «Enfermedad de Niemann-Pick de tipo C»). El colesterol liberado intracelularmente afecta a cuatro procesos distintos (v. fig. 5.7):

- El colesterol *suprime* la síntesis de colesterol dentro de la célula por inhibición de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril

coenzima A (HMG-CoA) reductasa, que es la enzima limitante de la velocidad en la vía de síntesis.

- El colesterol *activa* la enzima acil-coenzima A: colesterol aciltransferasa, que favorece la esterificación y el depósito del exceso de colesterol.
- El colesterol *suprime* la síntesis de receptores de LDL, lo que protege a las células de una acumulación excesiva de este.
- El colesterol *regula al alza* la expresión de PCSK9, que reduce el reciclado de receptores de LDL y provoca la degradación de los receptores de LDL endocitados. De este modo se consigue un mecanismo adicional de protección de las células frente a la acumulación excesiva de colesterol.

Como se ha mencionado, la HF se debe a mutaciones en el gen que codifica el receptor de LDL o en los dos genes que afectan a su función. El efecto de las mutaciones en estos genes es el siguiente:

- *Mutaciones en el gen LDLR*. Los heterocigotos con HF por mutación en el gen *LDLR* solo tienen un 50% del número normal de receptores de alta afinidad para LDL, porque solo tienen un gen normal. Como consecuencia de este defecto del transporte, se producen alteraciones del catabolismo de LDL por vías dependientes del receptor y se produce un incremento al doble o triple de las concentraciones plasmáticas de LDL. Los homocigotos casi no presentan receptores normales para LDL en sus células y tienen unas concentraciones de LDL circulantes muy superiores. Además del defecto en la eliminación de LDL, tanto los homocigotos como los heterocigotos sintetizan más LDL. El aumento de la síntesis que contribuye a la hipercolesterolemia se debe también a la falta de receptores para LDL (v. fig. 5.6). Como se ha mencionado, la IDL, el precursor inmediato de la LDL plasmática, también emplea los receptores para LDL hepáticos (receptores para la ApoB/E) para ser transportado dentro del hígado. Las alteraciones del transporte de IDL hacia el interior del hígado en la HF derivan de forma secundaria una mayor cantidad porcentual de IDL plasmática hacia el depósito de precursores para la LDL plasmática.
- *Mutaciones en el gen que codifica la ApoB*. Dado que la ApoB presente en la superficie de las partículas de LDL es el ligando de los receptores de LDL, la ApoB mutante reduce la unión de las moléculas de LDL a sus receptores. Esta alteración de la unión de las partículas de LDL a sus receptores aumenta el colesterol LDL sérico.
- *Mutación activadora en el gen PCSK9*. Esta mutación reduce sustancialmente el número de receptores de LDL en la superficie celular, por el aumento de su degradación durante el proceso de reciclado.

El transporte de LDL a través del receptor depurador parece producirse al menos en parte en las células del sistema mononuclear fagocítico. Los monocitos y los macrófagos tienen receptores para el LDL con alteraciones químicas (p. ej., acetilado u oxidado). Normalmente, la cantidad de LDL que se transporta por esta vía del receptor depurador es menor que la que se transporta por mecanismos independientes del receptor de LDL. Sin embargo, cuando existe una hipercolesterolemia, se produce un aumento importante del desplazamiento de colesterol LDL mediado por receptores depuradores al interior de las células del sistema mononuclear fagocítico y posiblemente también en las paredes vasculares (v. capítulo 11). Este aumento es responsable de la aparición de xantomas y también participa en la patogenia de la ateroesclerosis prematura.

La genética molecular de la HF es muy compleja. Se han descrito más de 2.000 mutaciones, incluidas variaciones en el

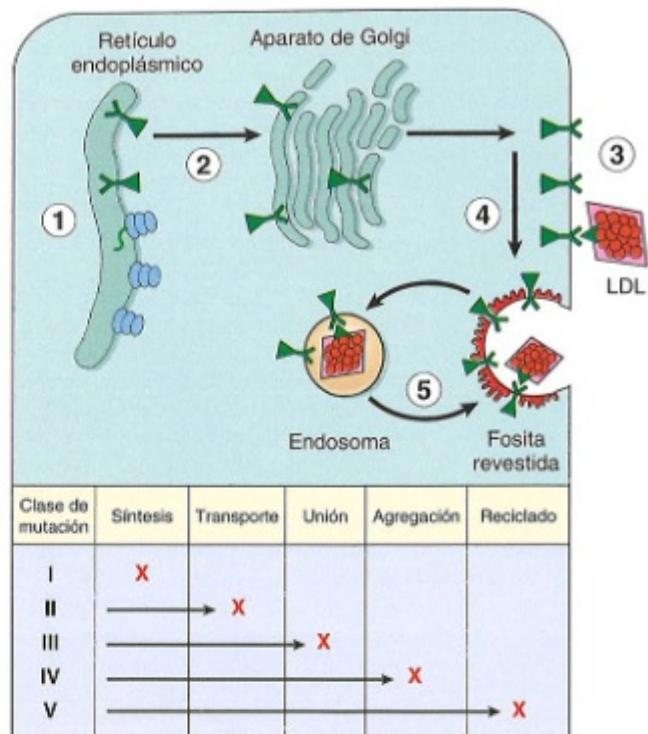


Figura 5.8 Clasificación de las mutaciones del receptor para lipoproteína de baja densidad (LDL) según la función anormal de la proteína mutante. Estas mutaciones alteran la síntesis del receptor en el retículo endoplásmico, su transporte al complejo de Golgi, la unión de los ligandos de apoproteína, la agregación en las fositas revestidas y el reciclado en los endosomas. No se muestra la mutación de clase VI, en la que no se produce direccionamiento inicial del receptor a la membrana basolateral. Cada clase es heterogénea en el ADN. (Modificado con autorización de Hobbs HH, et al: The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein, Annu Rev Genet 24:133–170, 1990. © 1990 by Annual Reviews.)

número de copias de ADN, inserciones, delecciones y mutaciones sin sentido o de sentido erróneo en el gen del receptor para LDL. Estas se pueden clasificar en seis grupos (fig. 5.8). Las *mutaciones de clase I* son relativamente infrecuentes y determinan una falta completa de síntesis de la proteína receptora de LDL (alelo nulo). Las *mutaciones de clase II* son bastante frecuentes y codifican proteínas receptoras de LDL que se acumulan dentro del retículo endoplásmico, porque los defectos de plegamiento que sufren impiden que se transporten al complejo de Golgi. Las *mutaciones de clase III* afectan al sitio de unión a la ApoB del receptor; los receptores de LDL mutantes llegan a la superficie celular, pero no consiguen unirse con LDL o lo hacen mal. Las *mutaciones de clase IV* codifican receptores de LDL que se sintetizan y transportan hacia la membrana celular de forma eficiente. Se unen a LDL con normalidad, pero no se localizan dentro de las fositas revestidas y por esto no se consigue internalizar el LDL unido. Las *mutaciones de clase V* codifican receptores de LDL que se expresan en la superficie celular, que se pueden ligar al LDL y que se pueden internalizar; sin embargo, la disociación dependiente de pH del receptor y la LDL ligada no se produce. Estos receptores quedan atrapados dentro del endosoma, donde se degradan, y por eso no se reciclan hacia la superficie celular. En las *mutaciones de clase VI* no se produce el direccionamiento inicial de los receptores de LDL a la membrana basolateral.

El descubrimiento del importante papel de los receptores de LDL en la homeostasis del colesterol ha permitido diseñar de forma racional fármacos que reducen las concentraciones plasmáticas de colesterol, aumentando el número de receptores para LDL (v. fig. 5.8). Una estrategia se basa en la capacidad de algunos fármacos (estatinas) de suprimir la síntesis de colesterol intracelular mediante la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa. La reducción del colesterol intracelular permite una mayor síntesis de receptores de LDL al eliminar la acción de frenado del colesterol sobre la síntesis de dichos receptores. En otra estrategia, los anticuerpos que inhiben la función de PCSK9 disminuyen la degradación de los receptores de LDL, aumentando su contenido en la membrana celular y la consiguiente eliminación de colesterol LDL de la sangre. Estos agentes tienen pronunciados efectos hipocolesterolemiantes y en extensos ensayos clínicos se han demostrado los beneficios del uso de esta clase de fármacos en pacientes que no responden bien a las estatinas solas. Es interesante reseñar que la PCSK9 se descubrió de manera accidental en personas con colesterol sérico extremadamente bajo, en las que se detectaron variantes de pérdida de unión del gen PCSK9.

CONCEPTOS CLAVE

HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

- La HF es un trastorno autosómico dominante causado por mutaciones en los genes que codifican: 1) el receptor para LDL (el 85% de los casos); 2) la proteína ApoB (el 5-10% de los casos), o 3) mutaciones activadoras de PCSK9 (el 1-2% de los casos).
- Los pacientes desarrollan hipercolesterolemia por alteración del transporte de LDL al interior de las células.
- En los pacientes heterocigóticos para mutaciones en el gen LDLR, el colesterol sérico elevado aumenta el riesgo de ateroesclerosis y de la consiguiente enfermedad arterial coronaria. Los pacientes homocigóticos muestran un aumento todavía más importante del colesterol y registran mayor frecuencia de cardiopatía isquémica. El colesterol se deposita también a lo largo de las vainas tendinosas, produciendo xantomas.

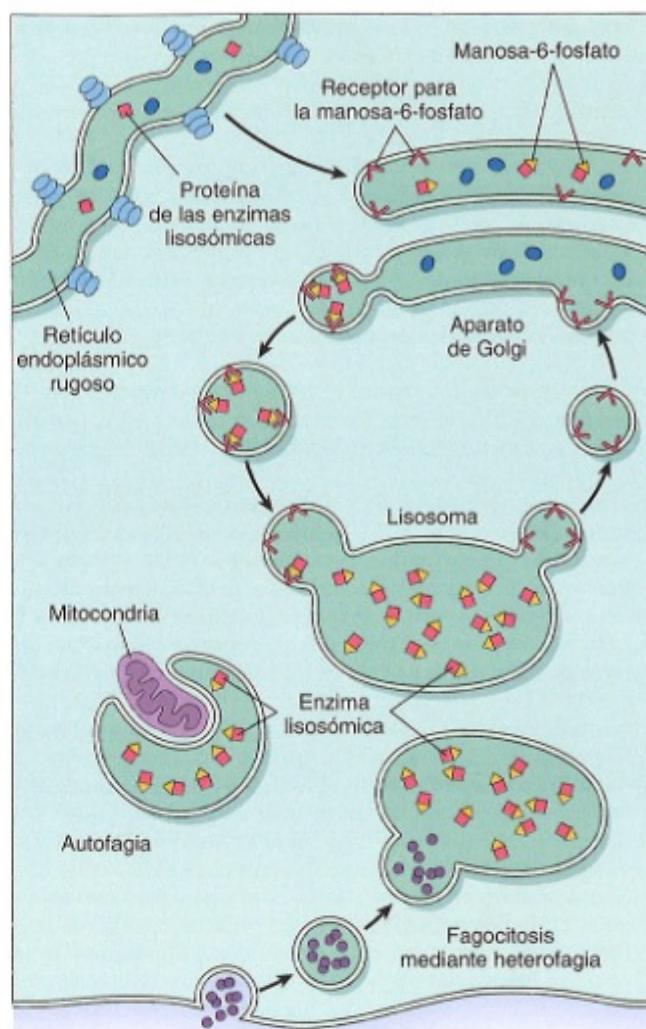


Figura 5.9 Síntesis y transporte intracelular de las enzimas lisosómicas.

Trastornos asociados a defectos enzimáticos

Enfermedades por depósito lisosómico

Los lisosomas son componentes clave del sistema digestivo intracelular. Contienen una batería de enzimas hidrolíticas con dos propiedades especiales. En primer lugar, funcionan en el entorno ácido del lisosoma. En segundo lugar, estas enzimas son una categoría especial de proteínas secretoras destinadas no para los líquidos extracelulares, sino para los orgánulos intracelulares. Esta última característica necesita un procesamiento especial dentro del aparato de Golgi, que se revisa de forma breve.

Igual que todas las proteínas secretoras, las enzimas lisosómicas (o hidrolasas ácidas, como se las llama a veces) se sintetizan en el retículo endoplásmico y se transportan al aparato de Golgi. Dentro de este sufren una serie de modificaciones tras la traducción, como la unión de grupos manosa-6-fosfato terminales a algunas de las cadenas laterales de oligosacáridos. Los residuos de manosa fosforilados sirven como «etiqueta de dirección» reconocida por receptores específicos de la superficie interna de la membrana del Golgi. Las enzimas lisosómicas se ligan a estos receptores y de este modo se separan de las numerosas proteínas secretoras adicionales existentes en el Golgi. En consecuencia, se produce la separación de pequeñas

vesículas de transporte que contienen las enzimas ligadas al receptor del Golgi y se fusionan con los lisosomas. Por tanto, las enzimas están marcadas para llegar a su destino intracelular y las vesículas se recuperan de nuevo hacia el Golgi (fig. 5.9). Como ya se ha comentado, los errores de origen genético de este interesante mecanismo de selección dan lugar a un tipo de enfermedad de depósito lisosómico. Estudios recientes han establecido un estrecho vínculo entre las enfermedades por depósito lisosómico y varios trastornos neurodegenerativos. Los mecanismos celulares y moleculares de dicho vínculo se abordarán a continuación.

Las enzimas lisosómicas catalizan la degradación de diversas macromoléculas complejas. Estas grandes moléculas pueden proceder del recambio metabólico de los orgánulos intracelulares (autofagia) o se pueden adquirir del exterior celular mediante fagocitosis (heterofagia). La carencia hereditaria de una enzima lisosómica funcional tiene dos consecuencias patológicas (fig. 5.10):

- El catabolismo del sustrato de la enzima ausente permanece incompleto, lo que determina la acumulación de metabolito insoluble parcialmente degradado en los lisosomas. Esta es la llamada «acumulación primaria». Llenos de macromoléculas no completamente digeridas, el número y el tamaño de los

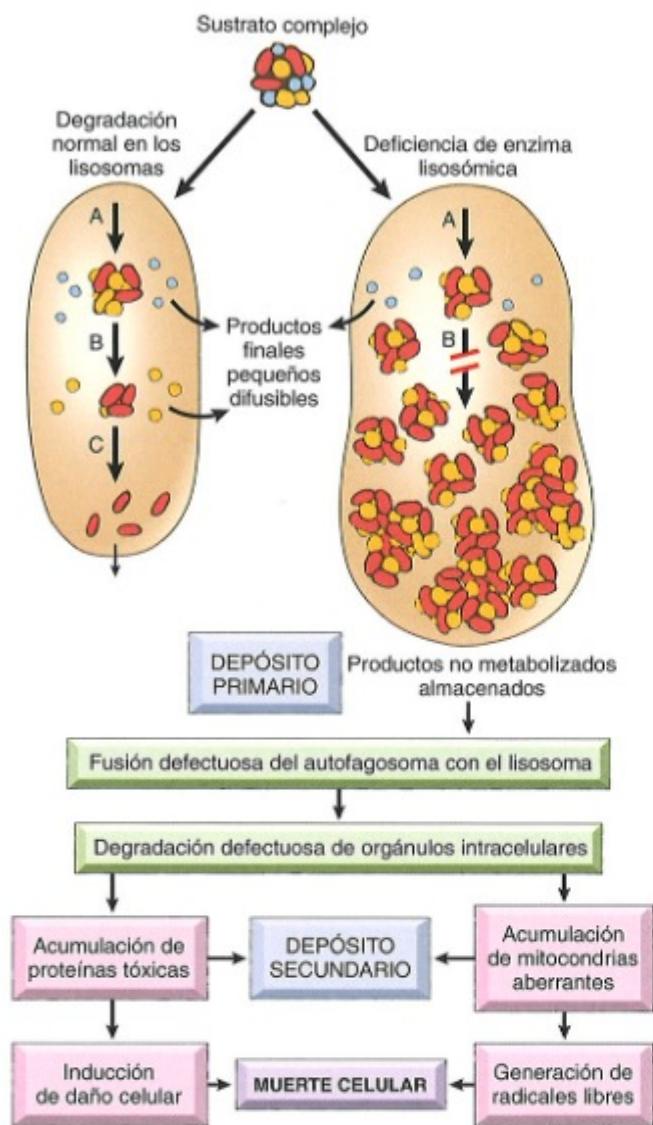


Figura 5.10 Patogenia de las enfermedades por depósito lisosómico. En el ejemplo mostrado, un sustrato complejo se degrada en condiciones normales mediante una serie de enzimas lisosómicas (A, B y C) hasta llegar a unos productos finales solubles. Si se produce una deficiencia o mala función de alguna de las enzimas (p. ej., B), el catabolismo es incompleto y se produce la acumulación de productos intermedios insolubles en los lisosomas. Además de este depósito primario, la autofagia defectuosa induce depósito secundario y efectos tóxicos.

- lisosomas aumentan, en muchos casos lo suficiente como para interferir en las funciones celulares normales.
- Hay una estrecha vinculación entre la autofagia, las funciones mitocondriales y los lisosomas. Como se expuso en el capítulo 2, múltiples orgánulos y moléculas celulares distintos son degradados mediante autofagia, entre ellos los lípidos complejos, las proteínas poliubiquitinadas, las mitocondrias y los fragmentos de retículo endoplásmico. En particular, la autofagia es esencial para el recambio de mitocondrias, mediante un proceso llamado mitofagia, que sirve como sistema de control de calidad a través del cual se degradan las mitocondrias disfuncionales. Debido a la acumulación de macromoléculas no digeridas en los lisosomas, la velocidad a la que dichos lisosomas procesan los orgánulos liberados por las vacuolas autofagocíticas está sensiblemente dis-

minuida. Esto permite la persistencia de mitocondrias disfuncionales y permeables, con escasa capacidad de amortiguación de calcio y potenciales de membrana alterados en los lisosomas. Las mitocondrias dañadas generan radicales libres y liberan moléculas que desencadenan la vía intrínseca de la apoptosis. La alteración de la autofagia da lugar a la acumulación de sustratos autofágicos, como polipéptidos ubicuitinados y propensos a la agregación, como la α -sinucleína y la proteína huntingtina. Ello establece un vínculo molecular entre ciertos trastornos neurodegenerativos y las enfermedades por depósito lisosómico, como la de Gaucher (v. más adelante).

El tratamiento de las enfermedades por depósito lisosómico se puede hacer mediante tres abordajes generales. El más evidente es la sustitución de las enzimas, que actualmente se aplica en varias de estas enfermedades. Otra opción es reducir el sustrato, y esta aproximación se basa en la idea de que, si se puede reducir la cantidad de sustrato que se tiene que degradar por la enzima lisosómica, la actividad residual de la enzima podría ser suficiente para catabolizarlo y evitar la acumulación. Una estrategia más reciente se basa en el conocimiento de la base molecular de la deficiencia enzimática. En muchos trastornos, como, por ejemplo, la enfermedad de Gaucher, la actividad enzimática es baja, porque las proteínas mutantes son inestables y muestran tendencia a plegarse mal, de forma que se degradan dentro del retículo endoplásmico. En estos procesos, un inhibidor competitivo exógeno de la enzima podría, de forma paradójica, ligarse a la enzima mutante y actuar como un modelo para el plegamiento, que ayude a conseguir un plegamiento adecuado de la enzima, evitando así su degradación. Este *tratamiento con chaperonas moleculares* se está investigando de forma activa. Además de las opciones descritas, se está valorando el trasplante de células madre hematopoyéticas y la terapia génica en casos específicos.

Aunque la frecuencia combinada de los trastornos lisosómicos es del orden de 1 caso de cada 5.000 nacidos vivos, la disfunción lisosómica puede estar implicada en la etiología de varias enfermedades frecuentes más. Por ejemplo, un importante factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad de Parkinson es el estado portador de la enfermedad de Gaucher, y prácticamente todos los pacientes que padecen esta última desarrollan Parkinson. La enfermedad de Niemann-Pick de tipo C es otro trastorno por depósito lisosómico que eleva el riesgo, en este caso de enfermedad de Alzheimer. Estas interconexiones son fruto de la multifuncionalidad de los lisosomas. Por ejemplo, los lisosomas desempeñan funciones esenciales en: 1) la autofagia, por su fusión con el autofagosoma; 2) la inmunidad, ya que se fusionan con los fagosomas, y 3) la reparación de membranas, por su fusión con la membrana plasmática.

Se han identificado unas 70 enfermedades por depósito lisosómico. Estas patologías pueden deberse a anomalías de enzimas o proteínas lisosómicas implicadas en la degradación de sustratos, la clasificación endosómica o la integridad de las membranas lisosómicas. Los trastornos por depósito lisosómico se dividen en categorías en función de la naturaleza bioquímica de los sustratos y los metabolitos acumulados (tabla 5.6). En cada grupo hay varias entidades, cada una de ellas debida a deficiencia de una enzima específica.

En general, la distribución del material depositado y los órganos que se afectan viene determinada por dos factores interrelacionados: 1) el tejido en el que se encuentra la mayor parte del material degradado, y 2) la localización en la que suele tener lugar la mayor parte de la degradación. Por ejemplo, el encéfalo es rico en gangliósidos y por eso una hidrólisis defectuosa de gangliósidos, como se produce en las gangliosidosis G_{M1} y G_{M2},

Tabla 5.6 Enfermedades por depósito lisosómico

Enfermedad	Carenza enzimática	Principales metabolitos acumulados
Glucogenosis	Tipo 2: enfermedad de Pompe α-1,4-glucosidasa (glucosidasa lisosómica)	Glúcogeno
Esfingolipidos		
Gangliosidosis G_{M1}	G_{M1} -gangliósido β-galactosidasa	G_{M1} -gangliósido, oligosacáridos que contienen galactosa
Tipo 1: de lactantes, generalizada		
Tipo 2: juvenil		
Gangliosidosis G_{M2}		
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	G_{M2} -gangliósido
Enfermedad de Sandhoff	Hexosaminidasa A y B	G_{M2} -gangliósido, globósido
Gangliosidosis G_{M2} variante AB	Proteína activadora de gangliósido	G_{M2} -gangliósido
Sulfatidos		
Leucodistrofia metacromática	Arlsulfatasa A	Sulfátido
Deficiencia de múltiples sulfatasas	Arlsulfatas A, B y C; sulfatasa de esteroides; iduronato sulfatasa; heparano N-sulfatasa	Sulfátido, sulfato de esteroides, sulfato de heparano, sulfato de dermatano
Enfermedad de Krabbe	Galactosilceramidasa	Galactocerebrósido
Enfermedad de Fabry	α-galactosidasa A	Ceramida trihexósido
Enfermedad de Gaucher	Glucocerebrosidasa	Glucocerebrósido
Enfermedad de Niemann-Pick: tipos A y B	Esfingomielinasa	Esfingomielina
Mucopolisacaridosis (MPS)		
MPS I (Hurler)	α-L-iduronidasa	Sulfato de dermatano, sulfato de heparano
MPS II (Hunter)	Iduronato 2-sulfatasa	
Mucolipidosis (ML)		
Enfermedad de células I (ML II) y polidistrofia seudo-Hurler	Deficiencia de enzimas fosforilantes esenciales para la formación del marcador de reconocimiento de manosa-6-fosfato; las hidrolasas ácidas que carecen del marcador de reconocimiento no se pueden dirigir hacia los lisosomas y se secretan a nivel extracelular	Mucopolisacáridos, glucolípidos
Otras enfermedades de hidratos de carbono complejos		
Fucosidosis	α-fucosidasa	Esfingolípidos que contienen fucosa y fragmentos de glucoproteínas
Manosidosis	α-manosidasa	Oligosacáridos que contienen manosa
Aspartilglucosaminuria	Aspartilglucosamina amida hidrolasa	Aspartil-2-desoxi-2-acetamido-glucosilamina
Otras enfermedades de depósito lisosómico		
Enfermedad de Wolman	Lipasa ácida	Ésteres de colesterol, triglicéridos

determina la acumulación principalmente dentro de las neuronas, lo que condiciona los síntomas neurológicos correspondientes. Los defectos en la degradación de los mucopolisacáridos afectan prácticamente a todos los órganos, dada la amplia distribución de estas sustancias por el organismo. Como las células del sistema mononuclear fagocítico son especialmente ricas en lisosomas y están implicadas en la degradación de diversos sustratos, los órganos ricos en células fagocíticas, como el bazo o el hígado, suelen estar aumentados de tamaño en distintos tipos de enfermedades por depósito lisosómico. El número cada vez mayor de enfermedades por depósito lisosómico se puede clasificar en grupos racionales según la naturaleza bioquímica del metabolito acumulado, de forma que se pueden establecer subgrupos de *glucogenosis*, *esfingolipidosis (lipidos)*, *mucopolisacaridosis (MPS)* y *mucolipidosis* (v. tabla 5.6).

La mayor parte de estas enfermedades son muy poco frecuentes y es preferible remitir a su explicación detallada en textos y revisiones especializados. Solo unas pocas de las patologías más comunes se abordan aquí.

Enfermedad de Tay-Sachs (gangliosidosis G_{M2} : deficiencia de la subunidad α de la hexosaminidasa)

Las gangliosidosis G_{M2} son un grupo de tres trastornos por depósito lisosómico causadas por deficiencia de la enzima β-hexosaminidasa, que impide catabolizar los gangliósidos

G_{M2} . Hay dos isoenzimas de β-hexosaminidasa: Hex A, que consiste en dos subunidades, α y β, y Hex B, un homodímero de subunidades β. La degradación de gangliósidos G_{M2} requiere tres polipéptidos codificados por tres genes distintos, el *HEXA* (en el cromosoma 15), que codifica la subunidad α de la isoenzima Hex A; el *HEXB* (en el cromosoma 5), que codifica la subunidad β de Hex A y Hex B, y el *GM2A* (en el cromosoma 5), que codifica el activador de la hexosaminidasa. Los efectos fenotípicos de las mutaciones que afectan a estos genes son bastante parecidos, porque se deben a la acumulación de los gangliósidos G_{M2} . Sin embargo, el defecto enzimático de base es distinto en cada caso. La enfermedad de Tay-Sachs, que es la forma más frecuente de gangliosidosis G_{M2} , se debe a mutaciones en el *locus* de la subunidad α en el cromosoma 15 y produce una deficiencia grave de hexosaminidasa A. Esta enfermedad resulta especialmente prevalente entre los judíos, sobre todo los procedentes de Europa del este (ashkenazies), en los que se describe una frecuencia de portadores de 1 de cada 30.

La base molecular de la lesión neuronal causada por deficiencia de hexosaminidasa no se conoce por completo. En el gen de la subunidad α de *HEXA* se han descrito más de 100 mutaciones, la mayoría de las cuales afectan al plegamiento de proteínas. Dado que la proteína mutante está mal plegada, induce la llamada respuesta frente a la proteína no plegada

(v. capítulo 2). Si las enzimas mal plegadas no son estabilizadas por chaperonas, sufren una degradación proteosómica, que induce la acumulación de sustratos tóxicos e intermedios en las neuronas. Estos datos han favorecido el desarrollo de ensayos clínicos sobre el tratamiento con chaperonas moleculares para ciertas variantes de inicio tardío de la enfermedad de Tay-Sachs y algunas otras enfermedades por depósito lisosómico. Dicho tratamiento implica el uso de chaperonas sintéticas, que pueden atravesar la barrera hematoencefálica, se unen a la proteína mutada y facilitan su plegamiento apropiado. Una cantidad de enzima funcional suficiente puede recuperarse a continuación para mejorar los efectos del error congénito.

MORFOLOGÍA

La hexosaminidasa A falta de todos los tejidos, de forma que se acumula gangliósido G_{M2} en muchos de ellos (p. ej., corazón, hígado, bazo, sistema nervioso), pero la **afectación neuronal en los sistemas nerviosos central y autónomo y en la retina marca el cuadro clínico**. El estudio histológico muestra neuronas balonizadas con vacuolas citoplásicas, cada una de las cuales corresponde a un lisosoma muy distendido repleto de gangliósidos (fig. 5.11A). El estudio con microscopía electrónica permite visualizar varios tipos de **inclusiones citoplásicas**, de las que las más llamativas son arremolinadas, dentro de los lisosomas, y corresponden a capas a modo de hojas de cebolla de membrana (fig. 5.11B). Con el tiempo se produce una destrucción progresiva de las neuronas, proliferación de la microglía y acumulación de lípidos complejos en los fagocitos de la sustancia cerebral. Las células ganglionares de la retina también aparecen tumefactas por la acumulación de gangliósido G_{M2} , especialmente en los márgenes de la mácula. Esto determina la **aparición de una mancha de color rojo cereza en la mácula**, que se debe a la acentuación del color normal de la coroides macular, que contrasta con la palidez provocada por las células ganglionares tumefactas en el resto de la retina (v. capítulo 29). Este hallazgo es típico de la enfermedad de Tay-Sachs y de otras enfermedades de depósito que afectan a las neuronas.

Características clínicas

Los lactantes afectados pueden parecer normales al nacer, pero hacia los 6 meses de edad manifiestan ya síntomas y signos de la enfermedad. Se produce un deterioro motor y mental imparable, debido a incoordinación motora y discapacidad intelectual que culmina en flacidez muscular, ceguera y demencia progresiva. En algún momento de la evolución de la enfermedad, casi todos los pacientes presentan la mancha ocular de color rojo cereza característica, aunque no patognomónica de la enfermedad. En 1-2 años, estos pacientes quedan en estado vegetativo completo y fallecen a los 2-3 años de edad. Es posible establecer el diagnóstico antenatal y detectar portadores mediante estudios enzimáticos y análisis del ADN.

Enfermedad de Niemann-Pick de tipos A y B

La enfermedad de Niemann-Pick de tipos A y B son dos trastornos relacionados, que se caracterizan por la acumulación en los lisosomas de esfingomielina debida a una deficiencia hereditaria de esfingomielinasa. La enfermedad de tipo A es una forma grave de lactantes, con extensa afectación neurológica, importantes acumulaciones viscerales de esfingomielina y atrofia progresiva con muerte precoz en los 3 primeros años de vida. Por el contrario, la enfermedad de tipo B se asocia a organomegalia, pero en general el sistema nervioso central no se ve afectado y estos enfermos llegan a adultos. Igual que sucede con la enfermedad de Tay-Sachs, la enfermedad de Niemann-Pick de tipos A y B es frecuente en los judíos asquenazies. El gen de la esfingomielinasa ácida se localiza en el cromosoma 11p15.4 y es uno de los genes que se improntan y que se expresan de forma preferente en el cromosoma materno por el silenciamiento epigenético del gen paterno (se comenta más adelante). Aunque es característico que esta enfermedad se herede según un patrón autosómico recesivo, los heterocigotos que heredan el alelo mutante de la madre pueden desarrollar la enfermedad de Niemann-Pick. Se han descrito más de 180 mutaciones del gen de la esfingomielina ácida y parece existir una correlación entre el tipo de mutación, la gravedad de la deficiencia enzimática y el fenotipo.

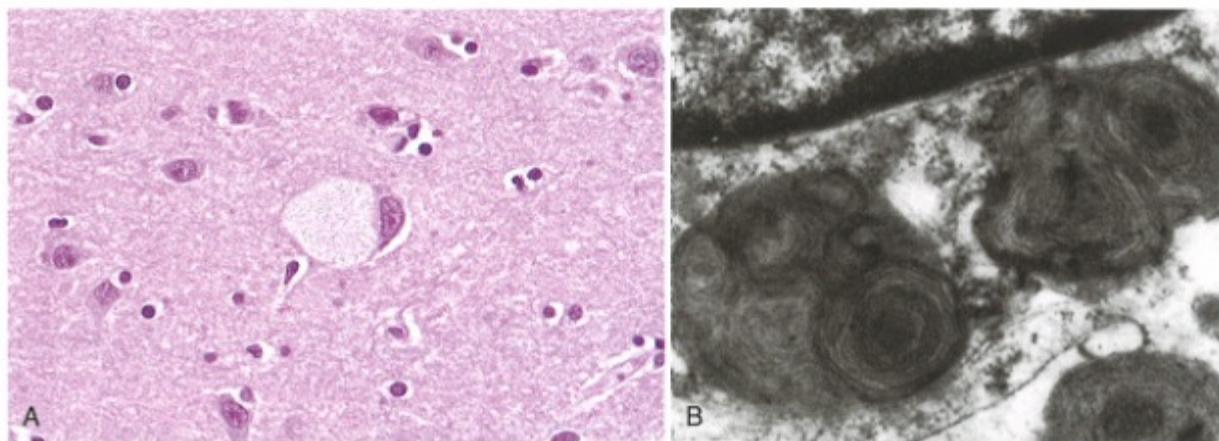


Figura 5.11 Células ganglionares en la enfermedad de Tay-Sachs. A. Con el microscopio óptico, una neurona grande muestra una evidente vacuolización grasa. B. Una parte de la neurona vista con microscopio electrónico muestra prominentes lisosomas de formas arremolinadas. Parte del núcleo se muestra arriba. (A, por cortesía del Dr. Arthur Weinberg, Department of Pathology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Tex.; B, por cortesía del Dr. Joe Rutledge, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Tex.)

MORFOLOGÍA

En la variante clásica de lactantes de tipo A, una mutación de sentido erróneo produce una deficiencia casi completa de esfingomielina. La esfingomielina es un componente ubicuo de las membranas celulares (incluidos los orgánulos) y la deficiencia de enzima bloquea la degradación de este lípido y ocasiona su acumulación progresiva dentro de los lisosomas, sobre todo en células del sistema mononuclear fagocítico. **Las células afectadas aumentan de tamaño y llegan a alcanzar 90 µm de diámetro debido a la distensión de los lisosomas por esfingomielina y colesterol.** Se crean innumerables vacuolas pequeñas de tamaño relativamente uniforme, lo que da un aspecto espumoso al citoplasma (fig. 5.12). La microscopía electrónica confirma que las vacuolas son lisosomas secundarios ingurgitados que, con frecuencia, contienen cuerpos citoplasmáticos membranosos, que recuerdan a las figuras de mielina con láminas concéntricas, llamadas en ocasiones cuerpos de «cebra».

Las células espumosas fagocíticas repletas de lípidos se distribuyen de forma amplia por el bazo, el hígado, los ganglios linfáticos, la médula ósea, las amígdalas, el aparato digestivo y los pulmones. **La afectación esplénica suele producir una esplenomegalia masiva**, de forma que el bazo alcanza hasta 10 veces su peso normal, pero la hepatomegalia no suele resultar tan llamativa. Los ganglios linfáticos muestran, en general, un aumento de tamaño moderado o importante en todo el cuerpo.

La afectación neuronal es difusa e implica a todas las regiones del sistema nervioso. El principal cambio histológico es la **vacuolización con balonización de las neuronas**, que con el tiempo provoca la muerte celular con pérdida de la sustancia cerebral. Se reconoce una **mancha de color rojo cereza en la retina** parecida a la descrita en la enfermedad de Tay-Sachs en un tercio a la mitad de estos enfermos.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de tipo A pueden aparecer desde el nacimiento y casi siempre son evidentes a los 6 meses de vida. Los lactantes presentan un abdomen protuberante, porque tienen hepatoesplenomegalia. Cuando aparecen manifestaciones, el proceso evoluciona con retraso del crecimiento progresivo, fiebre, vómitos y adenopatías generalizadas, además de deterioro progresivo de la función psicomotora. La muerte se produce en general a los 1-2 años de vida.

El diagnóstico se establece con estudios bioquímicos que miden la actividad de la esfingomielinasa en los leucocitos y

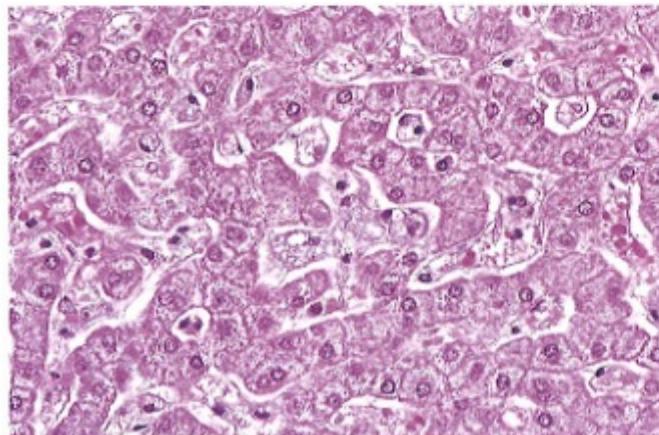


Figura 5.12 Enfermedad de Niemann-Pick hepática. Los hepatocitos y las células de Kupffer muestran un aspecto espumoso vacuulado por depósito de lípidos. (Por cortesía del Dr. Arthur Weinberg, Department of Pathology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Tex.)

la biopsia de médula ósea. Los individuos con la enfermedad de tipos A y B y los portadores se pueden detectar con análisis del ADN.

Enfermedad de Niemann-Pick de tipo C

Aunque antes se consideraba relacionada con las enfermedades de tipos A y B, actualmente se cree que la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C es distinta a nivel genético y bioquímico y es más frecuente que las otras dos juntas. Las mutaciones de dos genes relacionados, *NPC1* y *NPC2*, son responsables de este cuadro, pero *NPC1* es la causa del 95% de los casos. A diferencia de la mayoría de las demás enfermedades por depósito, la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C se debe a un defecto primario del transporte de los lípidos no enzimático. *NPC1* está unida a membrana, mientras que *NPC2* es soluble. Tanto *NPC1* como *NPC2* participan en el transporte del colesterol libre desde los lisosomas al citoplasma. La enfermedad de Niemann-Pick de tipo C es heterogénea a nivel clínico. Puede comenzar con una hidropesía fetal o con muerte neonatal, pero también es causa de hepatitis neonatal o, más frecuentemente, puede adoptar un curso crónico caracterizado por lesiones neurológicas progresivas. El curso clínico está marcado por ataxia, parálisis de la mirada vertical supranuclear, distonía, disartria y regresión psicomotora.

Enfermedad de Gaucher

La enfermedad de Gaucher son un conjunto de trastornos autosómicos recesivos secundarios a mutaciones en los genes que codifican la glucocerebrosidasa. La enfermedad es la forma más frecuente de trastorno por depósito lisosómico. El gen afectado codifica la glucocerebrosidasa, una enzima que normalmente separa el residuo de glucosa de la ceramida. Como consecuencia del defecto enzimático, se acumula glucocerebrósido, principalmente en los fagocitos, pero en algunos subtipos también en el sistema nervioso central. Los glucocerebrósidos se forman de manera continua por catabolismo de los glucolípidos, derivados principalmente de las membranas celulares de los leucocitos y eritrocitos envejecidos. Ahora está claro que los cambios patológicos de la enfermedad de Gaucher no se deben solo a la carga que genera el material de depósito, sino también a la activación de los macrófagos y la secreción de citocinas, como interleucina (IL) 1, IL-6 y factor de necrosis tumoral (TNF).

Se distinguen tres subtipos clínicos de enfermedad de Gaucher:

- El más frecuente, que supone el 99% de los casos, es el de tipo I o forma crónica no neuronopática. En este tipo, la acumulación de glucocerebrósidos se limita a los fagocitos mononucleares de todo el cuerpo, pero no se afecta el encéfalo. La afectación esplénica y esquelética es la predominante en este tipo de enfermedad. Afecta sobre todo a judíos de origen europeo. Los pacientes con este cuadro muestran un grado reducido, aunque detectable, de actividad de glucocerebrosidasa. La longevidad se acorta, aunque no demasiado.
- La enfermedad de tipo II, o enfermedad de Gaucher aguda neuronopática, es la forma cerebral aguda del lactante. Esta forma no afecta preferentemente a los judíos. En estos pacientes no se detecta ninguna actividad glucocerebrosidasa en los tejidos. En esta forma de la enfermedad, también se reconoce hepatosplenomegalia, pero la clínica viene dominada por una afectación progresiva del sistema nervioso central, que culmina con la muerte a temprana edad.
- Se describe un tercer patrón, la enfermedad de tipo III, intermedio entre los tipos I y II. Estos pacientes muestran una afectación sistémica propia del tipo I, pero también sufren una afectación progresiva del sistema nervioso central, aunque comienza en la adolescencia o los primeros años de la edad adulta.

MORFOLOGÍA

Los glucocerebrósidos se acumulan en cantidades masivas dentro de las células fagocíticas de todo el cuerpo en las tres formas de enfermedad de Gaucher. **Las células fagocíticas distendidas, que se llaman células de Gaucher, se reconocen en el hígado, bazo, médula ósea, ganglios linfáticos, amígdalas, timo y placas de Peyer.** Se pueden encontrar células parecidas en los tabiques alveolares y los espacios aéreos pulmonares. A diferencia de otras enfermedades por depósito de lípidos, las células de Gaucher no suelen aparecer vacuoladas, porque tienen un tipo de citoplasma fibrilar, parecido a un papel arrugado (fig. 5.13). Las células de Gaucher suele ser grandes, con diámetros que llegan a las 100 µm, y muestran uno o más núcleos oscuros excéntricos. La tinción con ácido peryódico de Schiff suele ser intensamente positiva. El microscopio electrónico permite ver que el **citoplasma fibrilar se debe a lisosomas distendidos elongados**, que contienen los lípidos almacenados en pilas de bicapas.

En la enfermedad de tipo I, el **bazo está aumentado de tamaño, llegando a pesar 10 kg** en algunos casos. Las aden-

patías son leves a moderadas y se distribuyen por todo el cuerpo. La acumulación medular de células de Gaucher se describe en el 70-100% de los enfermos de tipo I. Provoca áreas de **erosión ósea**, que en ocasiones son pequeñas, pero otras veces adquieren una extensión suficiente para ocasionar fracturas patológicas. La destrucción ósea se produce por la secreción de citocinas en los macrófagos activados. En pacientes con afectación cerebral se reconocen células de Gaucher en los espacios de Virchow-Robin, y las arteriolas se rodean de células de la adventicia edematosas. No se produce almacenamiento de lípidos en las neuronas, pero estas aparecen alteradas y se destruyen de forma progresiva. Se sospecha que los lípidos que se acumulan en las células fagocíticas que rodean los vasos determinan la secreción de citocinas, que lesionan a las neuronas cercanas.

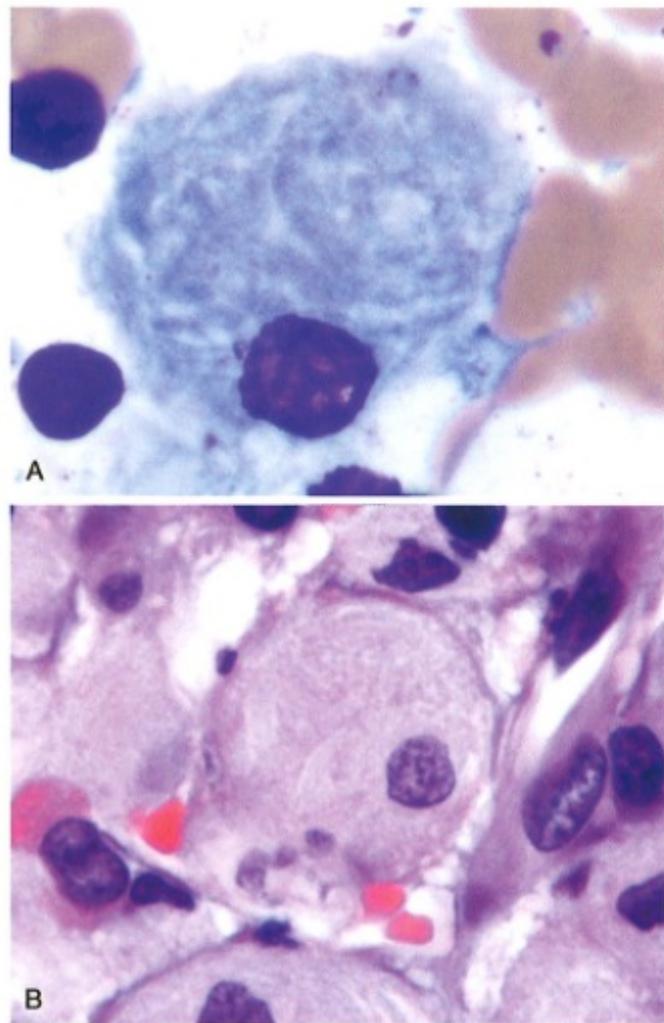


Figura 5.13 Enfermedad de Gaucher que afecta a la médula ósea. A y B. Las células de Gaucher corresponden a macrófagos rechonchos que muestran un aspecto típico del citoplasma que recuerda al papel arrugado por la acumulación de glucocerebrósido. A. Tinción de Wright. B. Hematoxilina y eosina. (Por cortesía del Dr. John Anastasi, Department of Pathology, University of Chicago, Chicago, Ill.)

La mutación del gen de la glucocerebrosidasa es el factor de riesgo genético más conocido para el desarrollo de la enfermedad de Parkinson. Los pacientes con enfermedad de Gaucher tienen un riesgo 20 veces superior de desarrollar Parkinson que los controles, y entre el 5 y el 10% de los afectados por enfermedad de Parkinson tienen mutaciones en el gen que codifica la glucocerebrosidasa. Existe una relación recíproca entre la concentración de esta enzima y la agregación de α -sinucleína, la proteína implicada en la patogenia de la enfermedad de Parkinson (v. capítulo 24). Como se apuntó anteriormente, los pacientes con enfermedades lisosómicas presentan un deterioro de la autofagia, lo que favorece la agregación y la persistencia de proteínas como la α -sinucleína.

La concentración de glucocerebrósidos en leucocitos o fibroblastos cultivados es útil en el diagnóstico y la detección de portadores heterocigóticos. También se dispone de pruebas de ADN para poblaciones seleccionadas.

Características clínicas

La evolución de la enfermedad de Gaucher depende del tipo clínico. En el tipo I, los síntomas y signos aparecen en la edad adulta y se relacionan con la esplenomegalia o la afectación ósea. Es frecuente encontrar pancitopenia o trombocitopenia debidas al hiperesplenismo. Se describe dolor óseo y fracturas patológicas cuando se expande el espacio medular de forma masiva. Aunque la enfermedad es progresiva en los adultos, es compatible con una vida larga. En las variantes de tipos II y III, predominan la disfunción del sistema nervioso central, las convulsiones y un deterioro mental progresivo, aunque también se afectan el hígado, el bazo y los ganglios. Es posible diagnosticar a los homocigotos mediante la determinación de la actividad glucocerebrosidasa en los leucocitos de sangre periférica o en los extractos de fibroblastos de la piel en cultivo. La prueba enzimática no puede identificar heterocigotos, ya que las concentraciones de glucocerebrosidasa son difíciles de distinguir de las presentes en células normales. En principio, los heterocigotos se identifican mediante la detección de mutaciones. Sin embargo, dado que más de 150 mutaciones del gen de la glucocerebrosidasa pueden causar esta enfermedad, actualmente no es posible aplicar una sola prueba genética. Sin embargo, cuando la mutación causal en un paciente es conocida, un heterocigoto puede identificarse con pruebas moleculares. El panorama de las pruebas genéticas está cambiando rápidamente con la aplicación de la secuenciación de próxima generación.

El tratamiento de sustitución con enzimas recombinantes es la base del tratamiento de la enfermedad de Gaucher; es eficaz y los pacientes de tipo I tienen una esperanza de vida normal. Sin embargo, se trata de un tratamiento extremadamente caro.

Dado que el defecto fundamental se localiza en las células mononucleares fagocíticas originadas a partir de células madre medulares, se ha planteado que el trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas puede resultar curativo. Otros trabajos tratan de corregir el déficit enzimático, transfiriendo el gen de la glucocerebrosidasa normal a las células madre hematopoyéticas del paciente. También se está valorando el tratamiento de reducción de sustrato mediante inhibidores de la glucosilceramida sintetasa.

Mucopolisacaridos

Las MPS son un grupo de síndromes muy relacionados que se deben a deficiencias de origen genético en las enzimas implicadas en la degradación de los mucopolisacáridos (glucosaminoglucanos). A nivel químico, estos mucopolisacáridos son hidratos de carbono complejos de cadena larga, que se unen a las proteínas para formar proteoglucanos. Son abundantes en la matriz extracelular, el líquido articular y el tejido conjuntivo. Los glucosaminoglucanos que se acumulan en las MPS incluyen sulfato de dermatano, sulfato de heparano, sulfato de queratano y sulfato de condroitina. Las 11 enzimas implicadas en la degradación de estas moléculas separan los azúcares terminales de las cadenas de polisacáridos dispuestas a lo largo de una proteína central o polipéptido. Cuando no existen estas enzimas, estas cadenas se acumulan dentro de los lisosomas de distintos tejidos y órganos del organismo.

Se describen 11 variantes clínicas de MPS y cada una de ellas se debe a una deficiencia de una enzima específica (algunas variantes tienen subvariantes). Todas las MPS, salvo una, se heredan de forma autosómica recesiva; la excepción es el *síndrome de Hunter*, que es un rasgo ligado al cromosoma X. Dentro de un grupo determinado (p. ej., MPS I), caracterizada por una deficiencia de α -L-iduronidasa, existen subgrupos debidos a alelos mutantes en el mismo locus genético. Por tanto, la gravedad de la deficiencia enzimática y de la clínica suelen ser distintas, incluso dentro de los subgrupos.

En general, las MPS son procesos progresivos, caracterizados por *rasgos faciales toscos, opacidad corneal, rigidez articular y discapacidad intelectual*. La excreción urinaria de los mucopolisacáridos acumulados suele estar aumentada y se utiliza como herramienta diagnóstica.

MORFOLOGÍA

Los mucopolisacáridos acumulados se suelen localizar dentro de las células mononucleares fagocíticas, las células endoteliales, las células del músculo liso íntimal y los fibroblastos de todo el cuerpo. Los lugares de afectación más frecuentes son el bazo, el hígado, la médula ósea, los ganglios linfáticos, los vasos y el corazón.

Microscópicamente, las células afectadas aparecen distendidas y presentan un aparente aclaramiento del citoplasma, que determina el denominado aspecto balonizado. Con el microscopio electrónico se puede ver que el citoplasma claro se corresponde con múltiples vacuolas diminutas, que son lisosomas edematosos que contienen un material finamente granular positivo con el ácido peryódico de Schiff, y que a nivel bioquímico se identifica como mucopolisacáridos. Se encuentran cambios similares en los lisosomas de las neuronas de los síndromes caracterizados por afectación del sistema nervioso central. Sin embargo, además, algunos de los lisosomas de las neuronas se sustituyen por cuerpos laminados en cebra parecidos a los descritos en la enfermedad de Niemann-Pick. **Todas las MPS se caracterizan por hepatosplenomegalia, deformidades esqueléticas, lesiones valvulares y depósitos**

a nivel subendotelial arterial, especialmente en las arterias coronarias, además de por lesiones cerebrales. En muchos de los síndromes de evolución más prolongada, las lesiones subendoteliales miocárdicas acaban provocando isquemia miocárdica y por eso el infarto de miocardio y la descompensación cardíaca son importantes causas de muerte.

Características clínicas

De las 11 variantes reconocidas, solo se describen de forma breve dos síndromes bien definidos. El *síndrome de Hurler*, llamado también MPS I-H, se debe a una deficiencia de α -L-iduronidasa. Es una de las variantes más graves de las MPS. Los niños afectados parecen normales al nacer, pero sufren hepatosplenomegalia a los 6-24 meses. El crecimiento se retrasa y, como sucede en otros tipos de MPS, adquieren rasgos faciales toscos y desarrollan deformidades esqueléticas. Los pacientes mueren hacia los 6-10 años de edad por complicaciones cardiovasculares. El *síndrome de Hunter*, que se llama MPS II, se distingue del síndrome de Hurler en el tipo de herencia (ligada al cromosoma X), la ausencia de opacificación corneal y por una evolución clínica más leve.

CONCEPTOS CLAVE

ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOsómICO

Las mutaciones hereditarias que producen funciones defectuosas de las enzimas lisosómicas dan lugar a la acumulación y el depósito de sustratos complejos en los lisosomas y a defectos de la autofagia, causantes de lesión celular.

- La enfermedad de Tay-Sachs se debe a la incapacidad de metabolizar los gangliósidos G_{M2} por falta de la subunidad α de la hexosaminidasa lisosómica. Los gangliósidos G_{M2} se acumulan en el sistema nervioso central y provocan discapacidad intelectual grave, ceguera, debilidad motora y muerte a los 2 o 3 años de edad.
- La enfermedad de Niemann-Pick de tipos A y B es causada por una deficiencia de esfingomielinasa. En la variante de tipo A, más grave, la acumulación de esfingomielina en el sistema nervioso produce lesión neuronal. Los lípidos también se acumulan en los fagocitos en el hígado, el bazo, la médula ósea y los ganglios linfáticos, induciendo aumento de su tamaño. En el tipo B no hay lesión neuronal.
- La enfermedad de Niemann-Pick de tipo C es causada por una anomalía en el transporte de colesterol y la consiguiente acumulación de este y de gangliósidos en el sistema nervioso. Los niños afectados suelen presentar ataxia, disartria y regresión psicomotora.
- La enfermedad de Gaucher es debida a falta de la enzima lisosómica glucocerebrosidasa y a acumulación de glucocerebrósido en células fagocíticas mononucleares. En la variante más común, la de tipo I, los fagocitos afectados (células de Gaucher) aumentan de tamaño y se acumulan en el hígado, bazo y médula ósea, generando hepatosplenomegalia y erosión ósea. Los tipos II y III se caracterizan por una afectación neuronal variable. La enfermedad de Gaucher presenta una potente asociación con la enfermedad de Parkinson.
- Las MPS provocan acumulación de mucopolisacáridos en numerosos tejidos, incluidos los del hígado, bazo, corazón, vasos sanguíneos, cerebro, córnea y articulaciones. Los pacientes afectados por cualquiera de sus formas presentan rasgos faciales toscos. Entre las manifestaciones del síndrome de Hurler se cuentan opacidad corneal, depósitos en válvulas y arterias coronarias, y muerte en la infancia. La evolución clínica del síndrome de Hunter es menos grave.

Enfermedades por depósito de glucógeno (glucogenosis)

Las enfermedades por depósito de glucógeno se deben a una deficiencia hereditaria de una de las enzimas implicadas en la síntesis o degradación secuencial del glucógeno. Según la distribución normal tisular u orgánica de la enzima específica, el depósito de glucógeno en estos trastornos puede limitarse a unos pocos tejidos, ser difuso, aunque no afectar a todos los tejidos, o ser sistémico.

La importancia de una deficiencia enzimática concreta se puede comprender mejor si se conoce el metabolismo normal del glucógeno (fig. 5.14). El glucógeno es la forma de depósito de la glucosa. La síntesis de glucógeno comienza con la conversión de glucosa a glucosa-6-fosfato por acción de una hexocinasa (glucocinasa). Posteriormente, una fosfoglucomutasa transforma la glucosa-6-fosfato en glucosa-1-fosfato, que se convierte en uridina difosfoglucosa. Despues, se elabora un polímero extenso y muy ramificado (que llega a 100 millones

de peso molecular), que contiene hasta 10.000 moléculas de glucosa unidas mediante enlaces α -1,4-glucósido. La cadena de glucógeno y sus ramas se siguen elongando por adición de moléculas de glucosa, gracias a las glucógeno sintetasas. Durante la degradación, distintas fosforilasas hepáticas y musculares separan la glucosa-1-fosfato del glucógeno hasta que solo quedan unos cuatro residuos de glucosa en cada rama, lo que genera un oligosacárido ramificado llamado dextrina límite. Este solo se puede degradar más mediante la enzima desramificante. Además de estas vías fundamentales, el glucógeno se puede degradar en los lisosomas por la α -glucosidasa ácida. Si los lisosomas no tienen esta enzima, el glucógeno que contienen no resulta accesible a la degradación por las enzimas citoplasmáticas de tipo fosforilasa.

Según la deficiencia de enzima específica y la clínica consiguiente, las glucogenosis se han clasificado clásicamente en una docena de síndromes que se designan con un número romano,

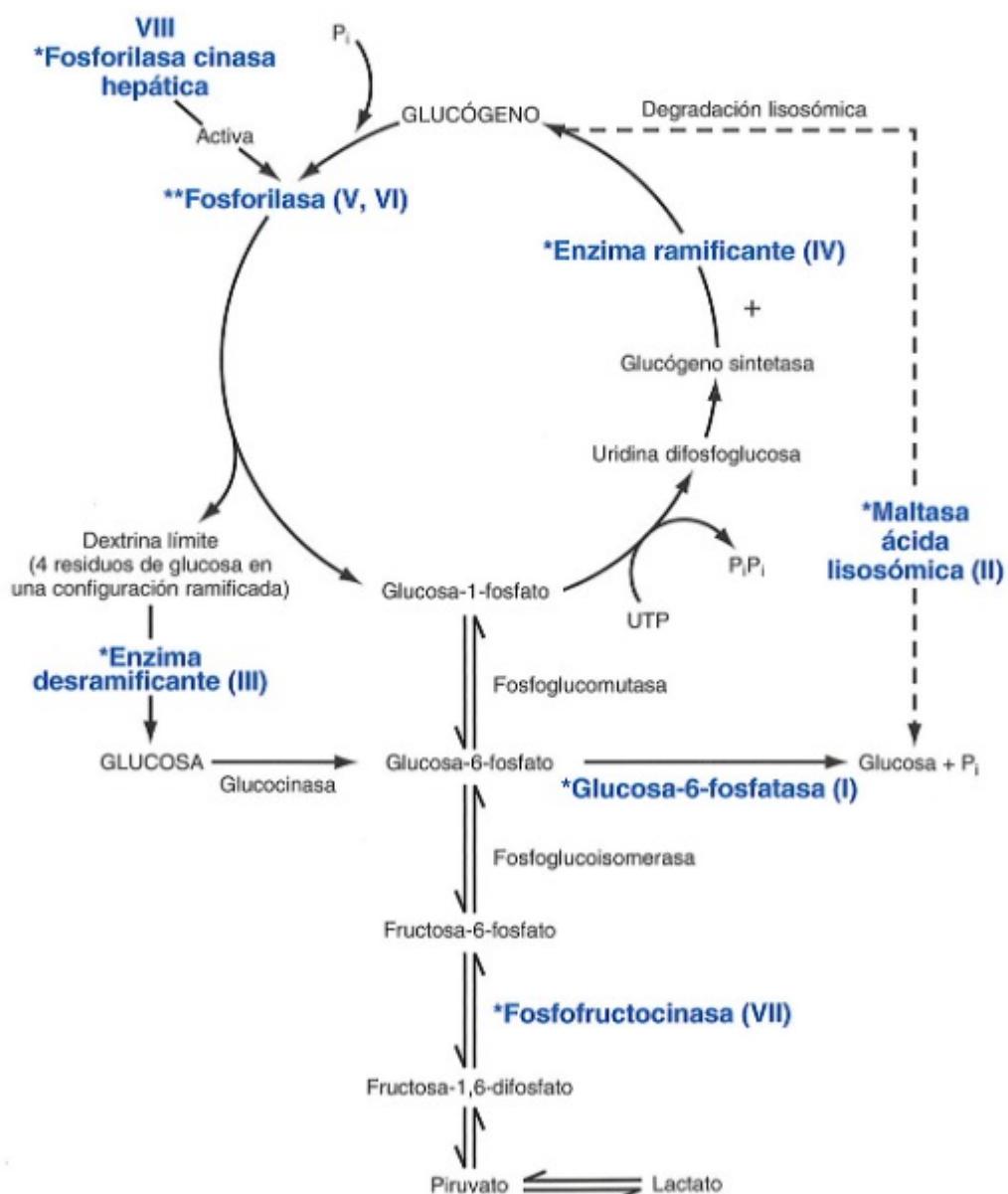


Figura 5.14 Vías de metabolismo del glucógeno. Los asteriscos marcan las deficiencias enzimáticas asociadas a las enfermedades por depósito de glucógeno. Los números romanos indican el tipo de enfermedad del glucógeno asociado a cada deficiencia enzimática concreta. Los tipos V y VI se deben a deficiencias en las fosforilasas muscular y hepática, respectivamente. (Modificado de Hers H, et al: Glycogen storage diseases. In Scriver CR, et al, editors: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, ed 6, New York, 1989, McGraw-Hill, p 425.)

Tabla 5.7 Principales subgrupos de glucogenosis

Categoría clínico-patológica	Tipo específico	Deficiencia enzimática	Cambios morfológicos	Características clínicas
Tipo hepático	Hepatorrenal: enfermedad de von Gierke (tipo I)	Glucosa-6-fosfatasa	Hepatomegalia: acumulación intracitoplásica de glucógeno y pequeñas cantidades de lípidos; glucógeno intranuclear Nefromegalía: acumulación intracitoplásica de glucógeno en las células epiteliales corticales tubulares	En los pacientes no tratados: retraso del crecimiento, baja estatura, hepatomegalia y nefromegalía Hipoglucemía por fallo en la movilización de la glucosa, que con frecuencia produce convulsiones Hiperlipidemia e hiperuricemia secundarias a las alteraciones del metabolismo de la glucosa; muchos pacientes desarrollan gota y xantomas cutáneos Tendencia a hemorragias por disfunción plaquetaria Con tratamiento: la mayoría sobreviven y sufren complicaciones (adenomas hepáticos)
Tipo miopático	Síndrome de McArdle (tipo V)	Fosforilasa muscular	Exclusivamente músculo esquelético: acumulaciones de glucógeno de predominio subsarcolémicas	Calambres dolorosos con el ejercicio agotador; se produce mioglobina en el 50% de los casos; aparición en adultos (> 20 años); el ejercicio muscular no consigue aumentar las concentraciones de lactato en sangre venosa; la creatina cinasa sérica siempre está elevada; compatible con longevidad normal
Otros tipos	Glucogenosis generalizada: enfermedad de Pompe (tipo II)	α -glucosidasa ácida lisosómica	Hepatomegalia leve: balonización de los lisosomas con glucógeno, que genera un patrón en enrejado en el citoplasma Cardiomegalia: glucógeno dentro del sarcoplasma y también rodeado de membrana Músculo esquelético: parecidos a los cambios cardíacos	Cardiomegalia masiva, hipotonía muscular y fracaso cardiorrespiratorio en 2 años; una forma más leve en adultos comienza con afectación exclusiva del músculo esquelético, que cursa con miopatía crónica; tratamiento de reposición enzimática disponible

y la lista sigue creciendo. Según la fisiopatología, es posible clasificar las glucogenosis en tres grandes subgrupos (tabla 5.7):

- **Formas hepáticas.** El hígado es parte clave del metabolismo del glucógeno. Contiene enzimas que sintetizan glucógeno para almacenamiento y que al final lo degradan para generar glucosa libre, que se libera hacia la sangre. Una deficiencia hereditaria de las enzimas hepáticas implicadas en la degradación del glucógeno no solo determina una acumulación de glucógeno a nivel hepático, sino también una reducción de las concentraciones de glucosa en sangre (hipoglucemía) (fig. 5.15). La deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfatasa (enfermedad de von Gierke o glucogenosis de tipo I) es un ejemplo clásico de la forma hepática-hipoglucémica de glucogenosis (v. tabla 5.7). Otros ejemplos son las deficiencias de fosforilasa hepática y enzima desramificante, implicadas ambas en la degradación del glucógeno (v. fig. 5.15). En todos estos procesos se produce acumulación de glucógeno en muchos órganos, pero la clínica viene dominada por la hepatomegalia y la hipoglucemía.
- **Formas miopáticas.** En los músculos esqueléticos, a diferencia de lo que sucede en el hígado, el glucógeno se utiliza principalmente como fuente de energía para la actividad física. El trifosfato de adenosina (ATP) se genera mediante glucólisis, lo que culmina en la formación de lactato (fig. 5.16). Si las enzimas que alimentan la vía glucolítica son defectuosas, se produce depósito de glucógeno en los músculos, lo que se asocia a debilidad muscular por alteraciones en la producción de energía. Dentro de este grupo se incluyen deficiencias de la fosforilasa muscular (enfermedad de McArdle o glucogenosis de tipo V), de la fosfofructocinasa muscular (glucogenosis de tipo VII) y muchos otros. Es habitual que los pacientes con formas miopáticas de la enfermedad pre-

senten calambres musculares tras el ejercicio y que no se produzca el aumento de las concentraciones de lactato en sangre tras el ejercicio por el bloqueo de la glucólisis.

- *Las glucogenosis asociadas a: 1) deficiencia de α -glucosidasa ácida (maltasa ácida), y 2) ausencia de la enzima ramificante* no se incluyen dentro de las formas miopáticas o hepáticas. Se asocian a depósitos de glucógeno en muchos órganos y muerte precoz. La α -glucosidasa ácida es una enzima lisosómica y su deficiencia condiciona el depósito de glucógeno en los lisosomas de todos los órganos (glucogenosis de tipo II o enfermedad de Pompe), pero la característica más llamativa es la cardiomegalia (v. fig. 5.16).

CONCEPTOS CLAVE

ENFERMEDADES POR DEPÓSITO DE GLUCÓGENO (GLUCOGENOSIS)

- La deficiencia hereditaria de enzimas implicadas en el metabolismo del glucógeno da lugar al depósito de formas normales o anómalas de glucógeno, predominantemente en el hígado y los músculos, aunque también en otros tejidos.
- En la forma hepática más frecuente (enfermedad de von Gierke), los hepatocitos acumulan glucógeno por deficiencia de glucosa-6-fosfatasa hepática. El hígado está aumentado de tamaño y los pacientes presentan hipoglucemía.
- Hay varias formas miopáticas, entre ellas la enfermedad de McArdle, en la que la falta de fosforilasa muscular condiciona el depósito en los músculos esqueléticos y calambres después del ejercicio.
- En la enfermedad de Pompe se produce una carencia de α -glucosidasa ácida lisosómica y todos los órganos están afectados, aunque predomina la afectación cardíaca.

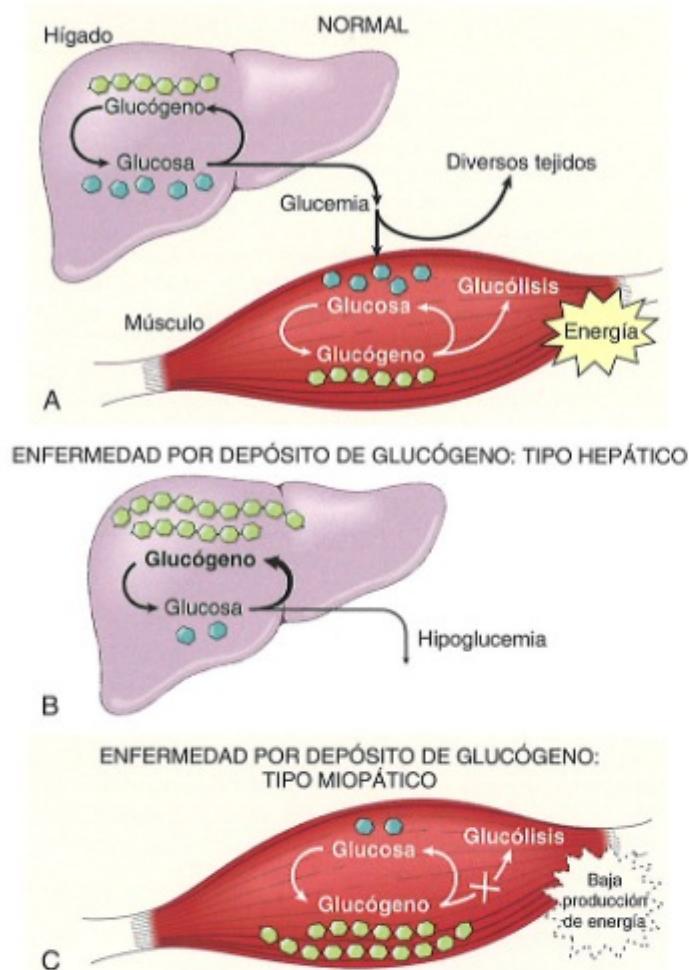


Figura 5.15 A. Metabolismo normal del glucógeno en el hígado y los músculos esqueléticos. B. Efectos de la deficiencia hereditaria de enzimas hepáticas implicadas en el metabolismo del glucógeno. C. Consecuencias de una deficiencia genética de las enzimas implicadas en el metabolismo del glucógeno en los músculos esqueléticos.

Trastornos asociados a defectos en las proteínas que regulan el crecimiento celular

El crecimiento y la diferenciación normal de las células son regulados por dos clases de genes: protooncogenes y genes supresores de tumores, cuyos productos limitan o inducen el crecimiento celular (v. capítulo 7). Se sabe que las mutaciones de estas dos clases de genes son importantes para la patogenia de los tumores. En la mayoría de los casos, las mutaciones causantes de tumores afectan a las células somáticas y no se transmiten a la línea germinal. Sin embargo, en aproximadamente un 5% de los cánceres, las mutaciones transmitidas por la línea germinal contribuyen al desarrollo de los tumores. La mayoría de los cánceres familiares se heredan de un modo autosómico dominante, pero se han descrito unos pocos trastornos autosómicos recesivos. Este tema se comenta en el capítulo 7. En varios capítulos se describen formas específicas de tumores familiares.

TRASTORNOS MULTIGÉNICOS COMPLEJOS

Como ya se ha comentado, estos trastornos se deben a interacciones entre las variantes de genes y los factores ambientales. Un gen que presenta al menos dos alelos, cada uno de los cuales se registra con una frecuencia de al menos el 1% en la población, es polimorfo, y cada variante alélica se designa como polimorfismo. Según la hipótesis variante frecuente/ enfermedad frecuente, los trastornos genéticos complejos se producen cuando se heredan muchos polimorfismos, cada uno de ellos con un efecto modesto y de baja penetrancia. A partir de estudios sobre trastornos complejos frecuentes, como la diabetes de tipo 1, se han obtenido dos datos adicionales:

- Aunque los trastornos complejos se deben a la herencia colectiva de muchos polimorfismos, el significado de los distintos polimorfismos es diferente. Por ejemplo, de los 20-30 genes implicados en la diabetes de tipo 1, 6 o 7 son los más importantes y unos pocos alelos HLA aportan más del 50% del riesgo (v. capítulo 24).

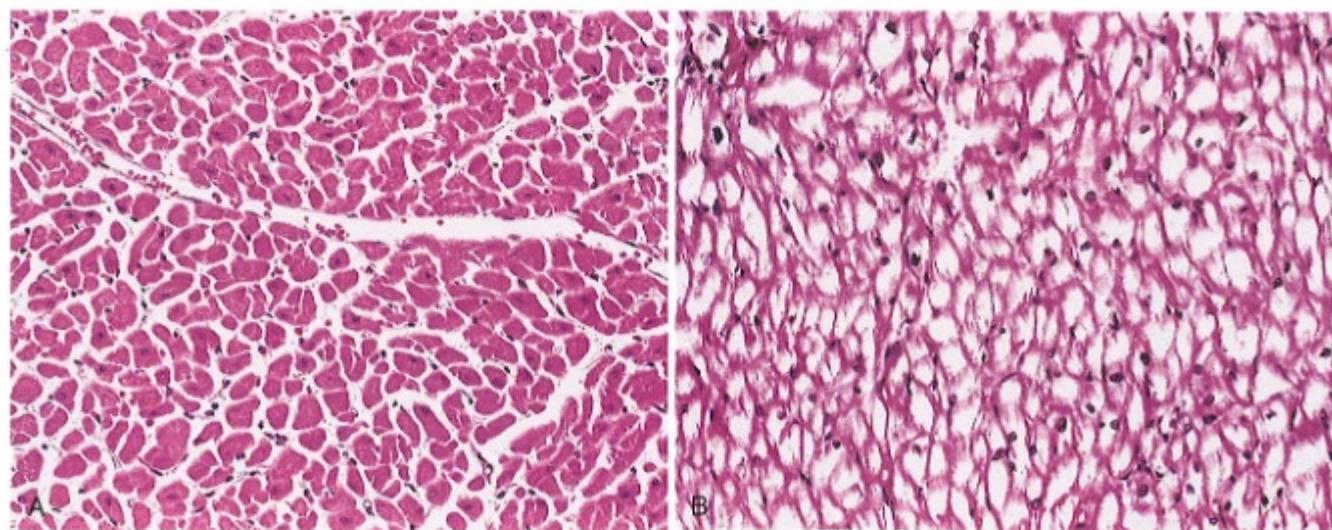


Figura 5.16 Enfermedad de Pompe (glucogenosis de tipo II). A. Miocardio normal con abundante citoplasma eosinófilo. B. Paciente con enfermedad de Pompe (mismo aumento), en el que se observan las fibras miocárdicas llenas de glucógeno que determinan espacios claros. (Por cortesía del Dr. Trace Worrell, Department of Pathology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Tex.)

- Algunos polimorfismos son comunes a múltiples enfermedades del mismo tipo, mientras que otros son específicos. Esto se ilustra mejor a través de las enfermedades autoinmunitarias (v. capítulo 6).

Varias características normales del fenotipo dependen de la herencia multifactorial, como el color del cabello, los ojos o la piel, la talla o la inteligencia. Estas características muestran una variación continua en los grupos de población y dan lugar a una curva de distribución en forma de campana convencional. Sin embargo, las influencias ambientales modifican de forma significativa la expresión fenotípica de los rasgos complejos. Por ejemplo, la diabetes de tipo 2 muestra muchas de las características de un trastorno multifactorial. Se sabe que los individuos suelen presentar por primera vez esta enfermedad cuando aumentan de peso. Por tanto, la obesidad, además de otros factores ambientales, desenmascara el rasgo genético de la diabetes. Las influencias nutricionales pueden incluso condicionar que los gemelos monocigóticos tengan estaturas distintas. Un niño privado de formación cultural no consigue desarrollar toda su capacidad intelectual.

La asignación de una enfermedad a este tipo de herencia se debe realizar con precaución. Depende de muchos factores, pero, en primer lugar, se debe confirmar la agregación familiar y descartar una herencia de tipo mendeliano o cromosómico. La existencia de grados variables de gravedad de la enfermedad sugiere un trastorno multigénico complejo, pero, como ya se ha comentado, los genes de expresividad variable y la penetrancia reducida de genes mutantes aislados pueden explicar también este fenómeno. Dados estos problemas, a veces resulta difícil distinguir las enfermedades mendelianas y multifactoriales.

TRASTORNOS CROMOSÓMICOS

Cariotipo normal

Como bien se sabe, las células somáticas humanas contienen 46 cromosomas (22 pares de autosomas homólogos y dos cromosomas sexuales, que son XX en las mujeres y XY en los hombres). El estudio de los cromosomas (*cariotípido*) es la herramienta básica del citogenetista. La técnica habitual para analizar los cromosomas consiste en parar a las células en división en la metáfase con inhibidores del huso mitótico (p. ej., N-diacetil-N-metilcolchicina) y posteriormente teñir los cromosomas. En una extensión de metáfases, el cromosoma individual adopta la forma de dos cromátidas conectadas a nivel del centrómero. Se obtiene el cariotipo organizando cada par de autosomas según su longitud, para después ordenar los cromosomas sexuales.

Se han desarrollado diversos métodos de tinción que permiten la identificación de los cromosomas individuales según patrones definidos y fiables de bandas claras y oscuras alternantes. La técnica más empleada es la tinción de Giemsa, y por eso se habla de *bandas G*. La figura 5.17 muestra un cariotipo de hombre normal con bandas G. Con el bandeo G convencional se pueden detectar unas 400-800 bandas por conjunto haploide. La resolución obtenida mediante este bandeo se puede mejorar de forma notable obteniendo células en profase. Los cromosomas individuales aparecen muy elongados y permiten reconocer hasta 1.500 bandas por cariotipo. El uso de estas técnicas de bandeo permite la identificación certera de cada cromosoma y define de forma gruesa los puntos de rotura y otras alteraciones macroscópicas (comentadas más adelante).

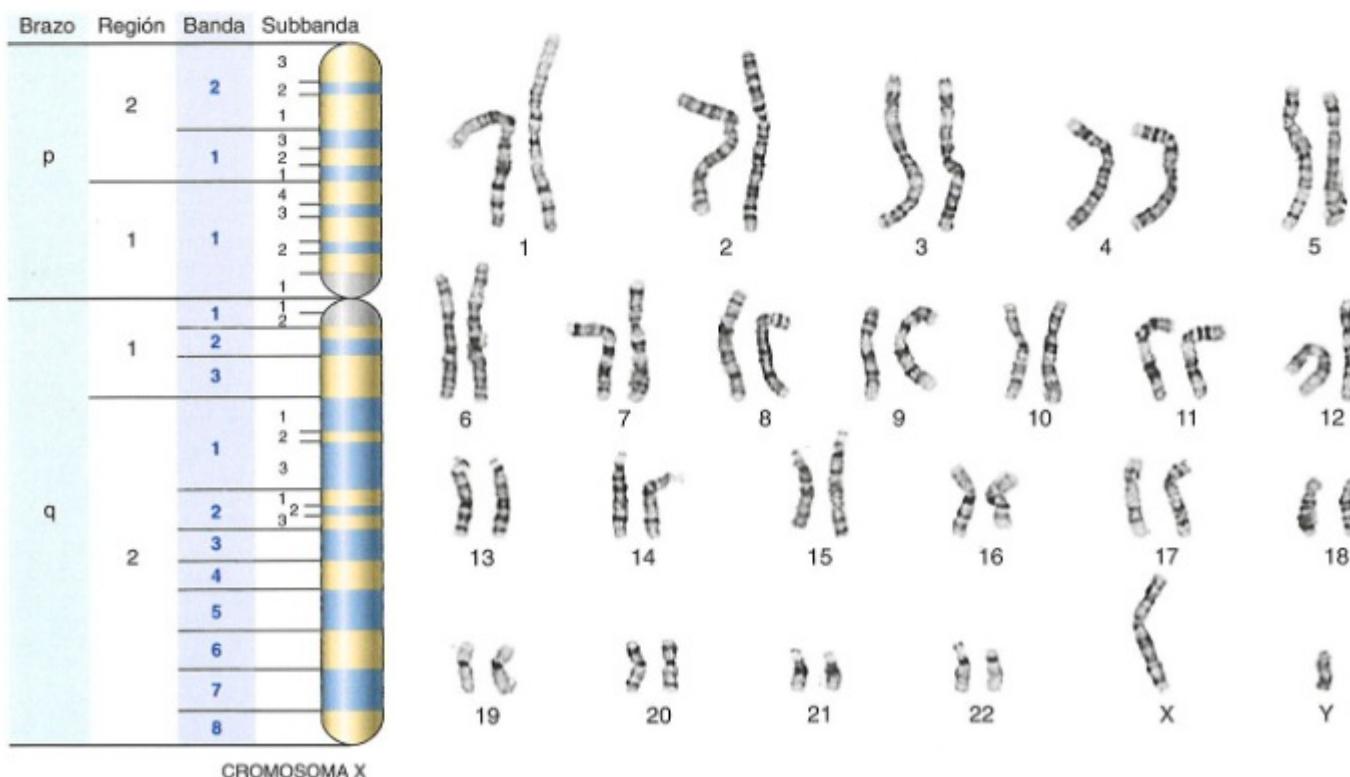


Figura 5.17 Cariotipo de bandas G de un hombre normal (46,XY). Se muestra también el patrón de bandas del cromosoma X con los nombres para los brazos, las regiones, las bandas y las subbandas. (Por cortesía del Dr. Stuart Schwartz, Department of Pathology, University of Chicago, Chicago, Ill.)

Terminología que se suele emplear en citogenética

Los cariotipos se suelen describir con un sistema de notaciones en el siguiente orden: en primer lugar se describe el número total de cromosomas, seguido del tipo de cromosomas sexuales, y por último se describen las alteraciones en orden numérico creciente. Por ejemplo, un hombre con una trisomía 21 se designa 47,XY,+21. Las notaciones que indican alteraciones cromosómicas y sus correspondientes anomalías se describen más adelante.

El brazo corto de un cromosoma se llama *p* (de *petit*) y el brazo largo se llama *q* (que es la siguiente letra del alfabeto). En un cariotipo de bandas, cada brazo del cromosoma se divide en dos o más regiones limitadas por bandas prominentes. Las regiones se numeran (p. ej., 1, 2, 3) desde el centrómero hacia fuera. Cada región se subdivide en bandas y subbandas, y estas también se ordenan de forma numérica (v. fig. 5.17). Por tanto, la notación Xp21.2 alude a un segmento cromosómico localizado en el brazo corto del cromosoma X, en la región 2, banda 1 y subbanda 2.

Alteraciones estructurales de los cromosomas

Las aberraciones asociadas a los trastornos citogenéticos pueden adoptar la forma de una alteración en el número de cromosomas o alteraciones en la estructura de uno o más cromosomas. El complemento cromosómico normal se expresa como 46,XX para mujeres y 46,XY para hombres. Cualquier múltiplo exacto del número haploide de cromosomas (23) se llama *euploide*. Si se produce un fallo en la meiosis o la mitosis y la célula adquiere un complemento cromosómico que no sea múltiplo exacto de 23, se hablará de *aneuploidía*. Las causas habituales de aneuploidía son la *falta de separación* y el *retraso de la anafase*. Cuando se produce una falta de separación durante la gametogénesis, los gametos que se forman tendrán un cromosoma extra ($n + 1$) o un cromosoma menos ($n - 1$). La fecundación de estos gametos por un gameto normal dará lugar a dos tipos de cigotos: trisómicos ($2n + 1$) o monosómicos ($2n - 1$). En el retraso de la anafase, un cromosoma homólogo en meiosis o una cromátida en la mitosis se retrasan y quedan fuera del núcleo celular. El resultado es una célula normal y otra con monosomía. Como se comenta más adelante, las monosomías o trisomías que afectan a los cromosomas sexuales e incluso aberraciones más extrañas aún son compatibles con la vida y se pueden asociar a grados variables de alteración fenotípica. La monosomía que afecta a un autosoma suele provocar la pérdida de una cantidad demasiado importante de información genética para permitir el nacimiento con vida e incluso la embriogénesis, pero varias trisomías autosómicas permiten la supervivencia. Salvo la trisomía 21, todas ellas presentan malformaciones graves y casi siempre mueren a edades tempranas.

En ocasiones, los errores mitóticos en las fases tempranas del desarrollo dan lugar a dos o más poblaciones de células con distintos complementos cromosómicos dentro del mismo individuo, situación que se llama *mosaicismo*. El mosaicismo se puede deber a errores mitóticos durante la separación del óvulo fecundado o en las células somáticas. El mosaicismo que afecta a los cromosomas sexuales es relativamente frecuente. Durante la división del óvulo fecundado, un error puede condicionar que una de las células hijas reciba tres cromosomas sexuales y la otra solo una, lo que podría generar, por ejemplo, un mosaico 45,X/47,XXX. Todas las células descendientes derivadas de cada uno de estos precursores tendrían, por lo tanto, una dotación de 47,XXX o 45,X. Este paciente es un mosaico de síndrome de Turner y la gravedad

de la expresión fenotípica dependerá del número y la distribución de las células 45,X.

Los mosaicismos autosómicos parecen mucho menos frecuentes que los que afectan a los cromosomas sexuales. Un error en una división mitótica precoz que afecte a los autosomas suele generar un mosaico no viable por una monosomía en un autosoma. En raras ocasiones, la población de células no viables se pierde durante la embriogénesis, permitiendo un mosaico viable (p. ej., 46,XY/47,XY,+21). Este paciente sería un mosaico para la trisomía 21 con una expresión variable del síndrome de Down, en función del porcentaje de células que contengan la trisomía.

Un segundo grupo de aberraciones cromosómicas se asocian a cambios en la estructura de los cromosomas. Para poder visualizarlos con las técnicas de bandeo convencionales, deben afectar a una cantidad bastante importante de ADN (aproximadamente 2-4 millones de pb), que contenga muchos genes. La resolución es muy superior con la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH), que permite la detección de cambios de solo kilobases. Los cambios estructurales de los cromosomas suelen deberse a roturas de cromosomas seguidas de una pérdida o reordenamiento del material. En el siguiente apartado se revisan las formas más frecuentes de alteración de la estructura de los cromosomas y la notación que se emplea para representarlas.

La *deleción* es la pérdida de una parte de un cromosoma (fig. 5.18). La mayoría de las delecciones son intersticiales, pero en raras ocasiones son terminales. Las delecciones intersticiales se producen cuando aparecen dos roturas en un brazo de un cromosoma seguidas de la pérdida del material cromosómico situado entre ambas con fusión de los extremos rotos. Se puede especificar en qué regiones y a nivel de qué bandas se han producido las roturas. Por ejemplo, 46,X,Y,*del*(16)(p11.2p13.1) describe puntos de rotura en el brazo corto del cromosoma 16 a nivel de 16p11.2 y 16p13.1, con pérdida del material entre las roturas. Las delecciones terminales se deben a una rotura única en el brazo de un cromosoma, lo que produce un fragmento sin centrómero, que se pierde en la siguiente división celular. El extremo eliminado del cromosoma retenido se protege mediante la adquisición de secuencias teloméricas.

Un *cromosoma en anillo* es una forma especial de delección. Se produce en presencia de una rotura en los dos extremos del cromosoma con fusión de los extremos dañados (v. fig. 5.18). Cuando se pierde una cantidad significativa de material, se producen alteraciones fenotípicas. Esta alteración se puede expresar como 46,XY,r(14). Los cromosomas en anillo no tienen un comportamiento normal durante la meiosis o la mitosis, lo cual suele tener consecuencias graves.

La *inversión* es un reordenamiento que implica dos roturas dentro de un solo cromosoma, con reincorporación del segmento intermedio invertido (v. fig. 5.18). La inversión que afecta solo a un brazo del cromosoma se llama *paracéntrica*. Cuando las roturas se sitúan en extremos opuestos del centrómero, se habla de *pericéntrica*. Las inversiones suelen ser compatibles con un desarrollo totalmente normal.

Se forma un *isocromosoma* cuando un brazo de un cromosoma se pierde y el otro se duplica, lo que genera un cromosoma constituido solo por dos brazos cortos o por dos brazos largos (v. fig. 5.18). Un isocromosoma tiene una información genética idéntica en los dos brazos. El isocromosoma más frecuente en nacidos vivos afecta al brazo largo del cromosoma X y se llama *i(X)(q10)*. El isocromosoma Xq se asocia a monosomía de los genes en el brazo corto de X y trisomía de los genes del brazo largo.

En la *translocación*, un segmento de un cromosoma se transfiere a otro (v. fig. 5.18). En uno de los tipos, llamado *transloca-*

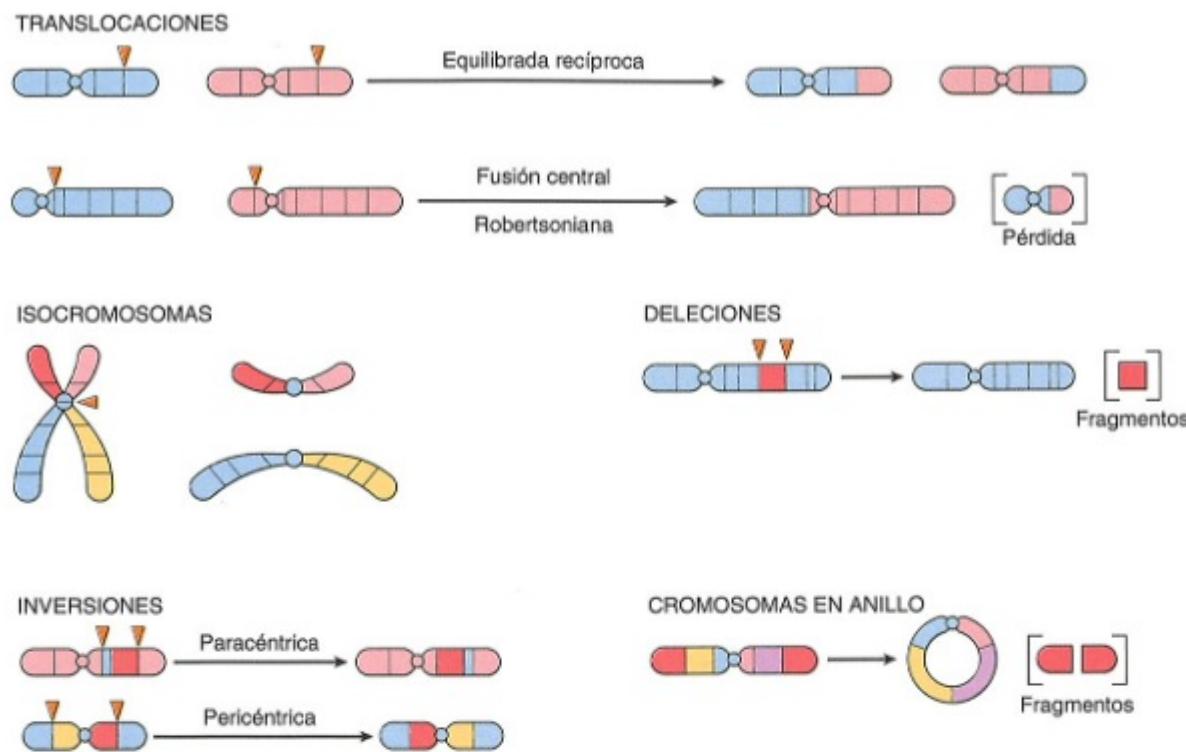


Figura 5.18 Tipos de reordenamientos cromosómicos.

ción equilibrada recíproca, se producen roturas aisladas en cada uno de los dos cromosomas y se intercambia el material. Una translocación equilibrada recíproca entre el brazo largo del cromosoma 2 y el brazo corto del cromosoma 5 se describiría 46,XX,t(2;5)(q31;p14). Este individuo tiene 46 cromosomas con morfología alterada de uno de los cromosomas 2 y otro de los cromosomas 5. Dado que no se pierde material genético (o se pierde muy poco), es probable que este individuo tenga un fenotipo normal. Sin embargo, el portador de una translocación equilibrada tiene riesgo aumentado de producir gametos anormales. Por ejemplo, en el caso anterior, se puede formar un gameto que contenga un cromosoma 2 normal y uno 5 translocado. Este gameto ya no estaría equilibrado, dado que no contendría el complejo normal de material genético. La posterior fecundación por un gameto normal determinaría la formación de un cigoto anormal (no equilibrado), lo que podría condicionar un aborto o el nacimiento de un niño malformado. El otro patrón importante de translocación es la llamada *translocación robertsoniana* (o fusión céntrica), que es una translocación entre dos cromosomas acrocéntricos. Es habitual que las roturas se produzcan cerca de los centrómeros de cada cromosoma. La transferencia de estos segmentos determina un cromosoma muy grande y otro extremadamente pequeño. En general, el producto pequeño se pierde (v. fig. 5.18); sin embargo, dado que solo comprende genes redundantes (p. ej., genes del ARN ribosómico), esta pérdida es compatible con un fenotipo normal. Se encuentran translocaciones robertsonianas entre dos cromosomas aproximadamente en 1 de cada 1.000 individuos con apariencia normal. El significado de este tipo de translocación también es el riesgo de tener una descendencia anormal, como se comenta más adelante en el síndrome de Down.

Como se ha dicho antes, las alteraciones cromosómicas diagnosticadas clínicamente representan solo la «punta del iceberg». Se estima que un 7,5% de todas las concepciones presentan una alteración cromosómica, la mayoría de las cuales no son compatibles con la supervivencia. Incluso entre los recién nacidos vivos la frecuencia aproximada es del 0,5-1,0%. Queda fuera del ámbito de esta obra comentar la mayoría de las alteraciones cromosómicas con repercusión clínica. Nos vamos a centrar en las pocas más frecuentes.

Trastornos citogenéticos que afectan a los autosomas

Trisomía 21 (síndrome de Down)

El síndrome de Down es la alteración cromosómica más frecuente y una de las principales causas de discapacidad intelectual. La incidencia en recién nacidos es 1 de cada 700 en EE. UU. Un 95% de los individuos afectados presentan una trisomía 21, de forma que el recuento de cromosomas es 47. La FISH con sondas específicas para el cromosoma 21 muestra la copia adicional del cromosoma 21 en estos casos (fig. 5.19). Como se ha comentado antes, la causa más frecuente de trisomía y, por tanto, del síndrome de Down es la falta de separación meiótica. Los padres de estos niños tienen un cariotipo normal y son absolutamente normales en todos sus aspectos.

La edad materna influye mucho sobre la incidencia de trisomía 21. Este proceso aparece en 1 de cada 1.550 nacidos vivos en mujeres menores de 20 años frente a 1 de cada 25 en mayores de 45 años. La correlación con la edad materna sugiere que en la mayoría de los casos la falta de separación

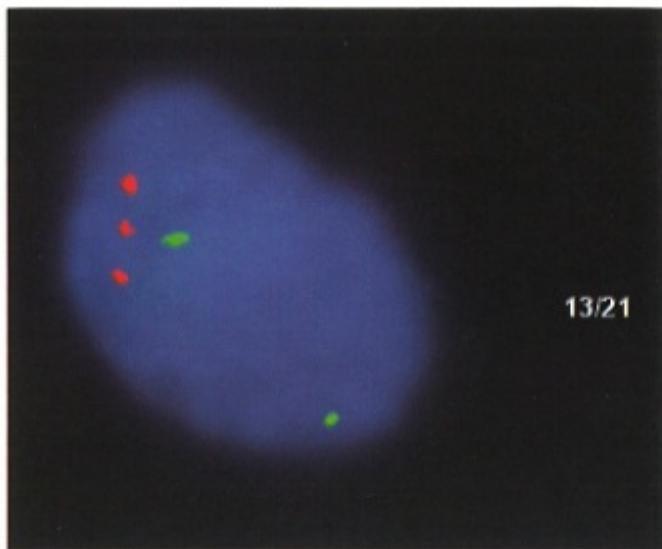


Figura 5.19 Análisis con técnica de hibridación *in situ* fluorescente de un núcleo en interfase, empleando sondas específicas para loci frente al cromosoma 13 (verde) y el cromosoma 21 (rojo), en el que se muestran tres señales rojas compatibles con una trisomía 21. (Por cortesía del Dr. Stuart Schwartz, Department of Pathology, University of Chicago, Chicago, IL.)

meiótica en el cromosoma 21 afecta al óvulo. De hecho, se han realizado estudios que emplearon los polimorfismos del ADN para determinar el origen parental del cromosoma 21, observando que en el 95% de los casos de trisomía de este el cromosoma extra era de origen materno. Aunque se han planteado muchas hipótesis, no se conoce todavía el motivo de este aumento de la susceptibilidad del óvulo a la falta de separación.

En un 4% aproximadamente de los casos de síndrome de Down, el material cromosómico extra se debe a la existencia de una translocación robertsoniana del brazo largo del cromosoma 21 en otro cromosoma acrocéntrico (p. ej., 22 o 14). Dado que el óvulo fecundado muestra dos autosomas 21 normales, el material translocado aporta la misma triple dosis de genes que la trisomía 21. Estos casos son con frecuencia (aunque no siempre) familiares, y el cromosoma translocado se hereda de uno de los padres (en general la madre), que es portador de una translocación robertsoniana, por ejemplo una madre con un cariotipo 45,XX,der(14;21)(q10;q10). En células con translocaciones robertsonianas, el material genético que normalmente se halla en los brazos largos de dos pares cromosómicos se distribuye solo en tres cromosomas. Ello afecta al emparejamiento de cromosomas durante la meiosis y, por consiguiente, los gametos presentan una alta probabilidad de ser aneuploidios.

Un 1% aproximadamente de los pacientes con síndrome de Down son mosaicos, que tienen una mezcla de cromosomas 46 o 47. Este mosaicismo se debe a la falta de separación mitótica del cromosoma 21 durante una fase precoz de la embriogenia. Los síntomas en estos casos son más leves y variables, en función del porcentaje de células anormales. Es evidente que la edad materna no influye en absoluto en los casos de síndrome de Down por translocación o mosaico.

Las características clínicas diagnósticas de este cuadro (perfil aplano de la cara, fisuras palpebrales oblicuas y pliegues epicánticos [fig. 5.20]) se reconocen en general con facilidad, incluso desde el nacimiento. El síndrome de Down

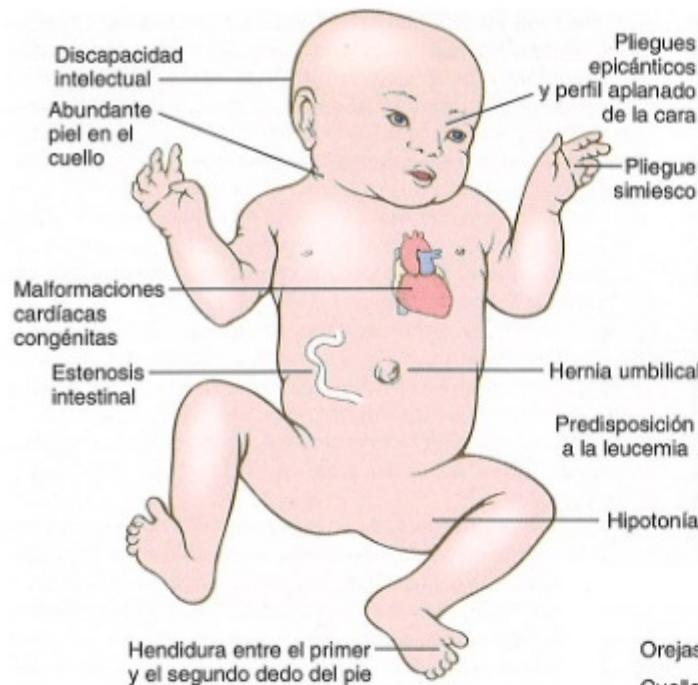
es una causa importante de discapacidad intelectual grave. Se debe destacar que algunos mosaicos con síndrome de Down sufren alteraciones fenotípicas leves y, con frecuencia, tienen una inteligencia normal o casi normal. Además de las alteraciones del fenotipo y la discapacidad intelectual ya comentados, estos pacientes presentan otras características destacadas:

- *Un 40% de los pacientes sufren malformaciones congénitas cardíacas.* Las formas más frecuentes de cardiopatía congénita en el síndrome de Down son las comunicaciones auriculovertriculares, que constituyen el 43% de los casos, mientras que las comunicaciones interventriculares, las interauriculares y la tetralogía de Fallot suponen el 32, el 19 y el 6%, respectivamente. Los problemas cardíacos son responsables de la mayoría de las muertes durante la lactancia y primera infancia. Son frecuentes también varias malformaciones congénitas más, como atresias esofágicas y del intestino delgado.
- *Los niños con trisomía 21 están expuestos a alto riesgo de desarrollo de leucemia:* presentan un riesgo 20 veces mayor de padecer leucemias linfoblásticas B agudas y 500 veces mayor de padecer leucemias mieloideas agudas. Estas últimas suelen ser leucemias megacarioblásticas agudas.
- Todos los pacientes con trisomía 21 mayores de 40 años sufren cambios neuropatológicos característicos de enfermedad de Alzheimer, un trastorno degenerativo cerebral.
- Los pacientes con síndrome de Down presentan respuestas inmunitarias anormales que les predisponen a sufrir infecciones graves, sobre todo pulmonares, y también al desarrollo de procesos autoinmunitarios tiroideos. Aunque se han descrito diversas alteraciones que afectan sobre todo a la función de los linfocitos T, la base de estos trastornos inmunitarios no está clara.

A pesar de todos estos problemas, las mejoras de la asistencia médica han prolongado la supervivencia de los pacientes con trisomía 21. En este momento, la media de edad de la muerte es de 47 años (no superaba 25 años en 1983).

Aunque el brazo largo del cromosoma 21 fue secuenciado en su totalidad en 2000, los avances en el desciframiento de la base molecular del síndrome de Down han sido más bien lentos. Ello se debe, en parte, al hecho de que el síndrome es consecuencia de desequilibrio de la dosis génica, más que de la acción de unos pocos genes. He aquí una muestra de algunas de las observaciones en este contexto.

- *Dosis génica.* La mayoría de los genes que codifican proteínas presentes en el cromosoma 21 están sobreexpresados. Entre ellos se encuentra el gen de la proteína precursora del péptido β-amiloide (APP). Como se indica en el capítulo 28, la agregación de proteínas β-amiloides es el episodio iniciador crítico en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer y puede contribuir al comienzo temprano de dicha enfermedad en personas con síndrome de Down.
- *Disfunción mitocondrial.* Alrededor del 10% de los genes sobreexpresados en el síndrome de Down están directa o indirectamente implicados en la regulación de las funciones mitocondriales. Por eso, las mitocondrias son anómalas tanto morfológica como funcionalmente en diversos tejidos. Por ejemplo, las crestas están rotas o inflamadas; hay evidencia de estrés mitocondrial, con generación de especies reactivas del oxígeno y activación de la apoptosis.
- *ARN no codificantes.* El cromosoma 21 tiene la más alta densidad de ARNlnc cuyas secuencias diana están ampliamente expresadas en otros cromosomas, lo que dificulta sensiblemente la identificación de genes cuyos productos definen el fenotipo de la trisomía 21.



TRISOMÍA 21: SÍNDROME DE DOWN

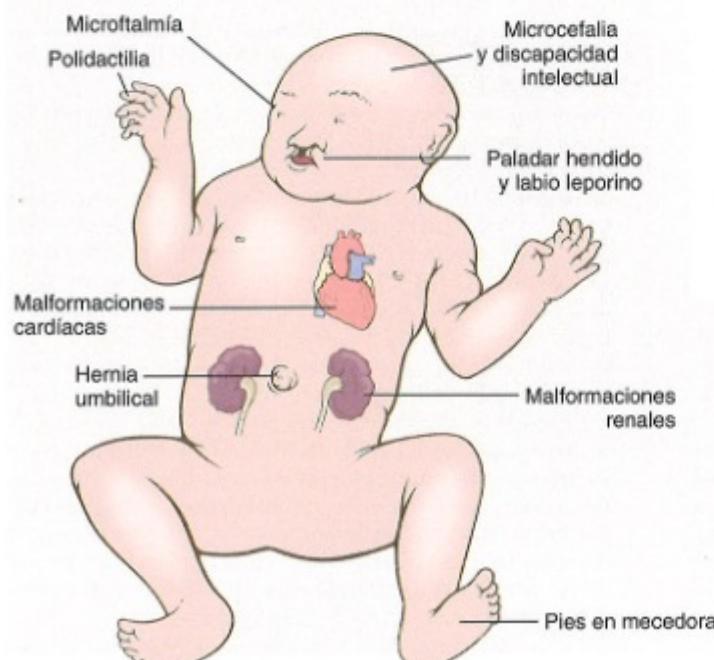
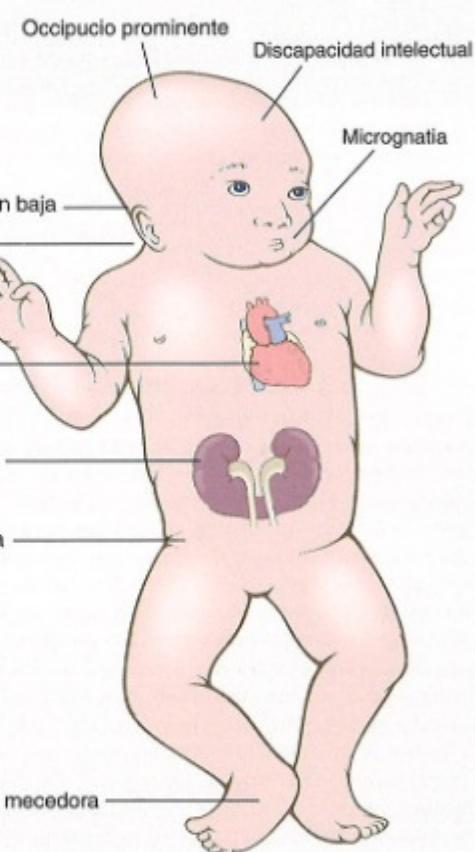
Incidencia: 1 de cada 700 nacimientos

Cariotipos:

Tipo trisomía 21: 47,XX, +21

Tipo translocación: 46,XX,der(14;21)(q10;q10),+21

Tipo mosaico: 46,XX/47,XX, +21



TRISOMÍA 13: SÍNDROME DE PATAU

Incidencia: 1 de cada 15.000 nacimientos

Cariotipos:

Tipo trisomía 13: 47,XX, +13

Tipo translocación: 46,XX,+13,der(13;14)(q10;q10)

Tipo mosaico: 46,XX/47,XX, +13

Figura 5.20 Características clínicas y cariotipos de algunas trisomías autosómicas.

Se han realizado notables progresos en el diagnóstico molecular prenatal del síndrome de Down. Alrededor del 5-10% del ADN de células libres total en la sangre materna deriva del feto y puede ser identificado mediante marcadores genéticos polimórficos. Utilizando técnicas de secuenciación de última generación, es posible determinar con gran precisión en el ADN fetal la dosis génica de genes del cromosoma 21. Esta es una poderosa prueba de detección no invasiva para el diagnóstico prenatal de la trisomía 21, así como de otras trisomías. La mayoría de los laboratorios requieren confirmación de una prueba de detección selectiva positiva con cariotipado convencional.

Otras trisomías

Se han descrito varias trisomías más, como las que afectan a los cromosomas 8, 9, 13, 18 y 22. Solo las trisomías 18 (síndrome de Edwards) y 13 (síndrome de Patau) se producen con suficiente frecuencia para mencionarlas aquí. Como se muestra en la figura 5.20, estos dos procesos comparten varias características cariotípicas y clínicas con la trisomía 21. Por tanto, la mayoría de los casos se producen por una falta de separación en meiosis y se asocian a una copia extra completa de los cromosomas 13 o 18. Al igual que en el síndrome de Down, se describe una asociación con la mayor edad materna, pero a diferencia de lo que sucede en la trisomía 21, las malformaciones son mucho más graves y diversas. En consecuencia, es muy raro que estos lactantes sobrevivan hasta llegar al año de vida. La mayoría fallecen en semanas o meses.

Síndrome por delección del cromosoma 22q11.2

El síndrome por delección del cromosoma 22q11.2 incluye un espectro de trastornos secundarios a una pequeña delección de la banda q11.2 en el brazo largo del cromosoma 22. Este síndrome es bastante frecuente, y afecta a 1 de cada 4.000 nacimientos, pero con frecuencia no se diagnostica porque sus efectos clínicos son variables. Entre ellos destacan malformaciones cardíacas congénitas, alteraciones del paladar, dismorfias faciales, retraso del desarrollo y diversos grados de inmunodeficiencia de linfocitos T e hipocalcemia. Previamente se pensaba que estas características clínicas se correspondían con dos trastornos distintos: *síndrome DiGeorge* y *síndrome velocardiofacial*. En un número muy pequeño de casos hay una delección de 10p13-14.

Los pacientes con síndrome DiGeorge muestran una hipoplasia del timo, con la consiguiente inmunodeficiencia de linfocitos T (v. capítulo 6), una hipoplasia de paratiroides que produce hipocalcemia, diversas malformaciones cardíacas que afectan al tracto de salida y malformaciones faciales leves. También pueden observarse trastornos atópicos (p. ej., rinitis alérgica) y autoinmunidad (p. ej., trombocitopenia). Las características clínicas del llamado síndrome velocardiofacial incluyen dismorfia facial (nariz prominente, retrognatia), paladar hendido, malformaciones cardiovasculares y discapacidad para el aprendizaje. Es menos frecuente que estos pacientes presenten también una inmunodeficiencia.

A pesar del sensible solapamiento de características clínicas (p. ej., malformaciones cardíacas, dismorfología facial), dicho solapamiento solo se hizo patente después de que se observara que estos dos síndromes, aparentemente no relacionados, estaban asociados a una anomalía citogenética similar. Estudios recientes indican que, además de numerosas malformaciones estructurales, los individuos con el síndrome de delección 22q11.2 tienen un riesgo especialmente elevado de enfermedades psicóticas, como *esquizofrenia* y *trastorno bipolar*. De hecho, se estima que un 25% de los pacientes adultos con

este síndrome desarrollan una esquizofrenia. Por el contrario, se detectan delecciones de esta región en un 2-3% de los individuos con esquizofrenia de inicio adulto. Además, un 30-35% de los niños afectados presentan un trastorno por déficit de atención e hiperactividad.

El diagnóstico de este proceso se puede sospechar por la clínica, pero solo se puede confirmar mediante la identificación de la delección con FISH (fig. 5.21). Un 90% de los casos diagnosticados de síndrome de DiGeorge y un 80% de los que tienen un síndrome velocardiofacial presentan esta delección de 22q11.2 cuando se realiza este estudio. Un 30% de los pacientes con malformaciones cardíacas a nivel del tronco-cono tienen delecciones de esta misma región cromosómica, aunque no presenten las demás características de este síndrome.

La base molecular de este síndrome no se comprende del todo. La región deletoriada es amplia (unas 1,5 Mb) e incluye 30-40 genes. La heterogeneidad clínica con predominio en algunos casos de la inmunodeficiencia (síndrome de DiGeorge) y en otros de la dismorfia y las malformaciones cardíacas posiblemente refleje la posición variable y el tamaño del segmento deletoriado en esta región genética. En esta región deletoriada se han localizado unos 30 genes candidatos. De ellos, *TBX1*, un factor de transcripción de la caja T, es el que se asocia de forma más estrecha a las características fenotípicas de este síndrome. Este gen se expresa en el mesénquima faríngeo y el fondo de saco endodérmico de los cuales derivan las estructuras faciales, el timo y las paratiroides. Las dianas de *TBX1* incluyen *PAX9*, un gen que controla el desarrollo del paladar, las paratiroides y el timo. Es evidente que existen otros genes que contribuyen a los trastornos conductuales y psiquiátricos que todavía se tienen que identificar.

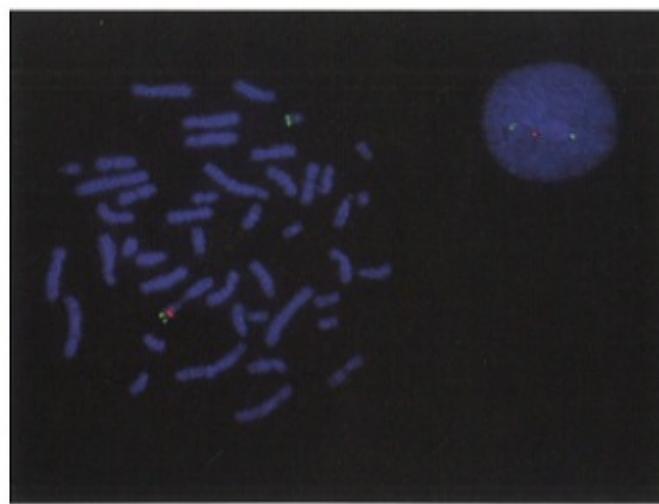


Figura 5.21 Hibridación *in situ* fluorescente de cromosomas en metafase y de una célula en interfase de un paciente con síndrome de DiGeorge que muestra delección de una sonda situada en el cromosoma 22q11.2. La sonda en 22q11.2 aparece en rojo y la sonda control, localizada en 22q, aparece en verde. La difusión de la metafase muestra un cromosoma 22 con señal verde (sonda control) y señal roja (sonda de 22q11.2). El otro cromosoma 22 muestra hibridación con la sonda control (verde), pero no la señal roja de 22q11.2, puesto que en este cromosoma hay una delección. Las células en interfase también presentan un patrón de hibridación compatible con la delección del cromosoma 22q11.2. (Por cortesía del Dr. Stuart Schwartz, Department of Pathology, University of Chicago, Chicago, IL.)

CONCEPTOS CLAVE

TRASTORNOS CITOGÉNÉTICOS QUE AFECTAN A LOS AUTOSOMAS

- El síndrome de Down se asocia a una copia adicional de genes en el cromosoma 21, habitualmente por trisomía 21 y, con menor frecuencia, por translocación de material cromosómico extra del cromosoma 21 a otros o por mosaicismo.
- Los pacientes con síndrome de Down presentan discapacidad intelectual grave, perfil aplano de la cara, pliegues epicánticos, malformaciones cardíacas, y elevado riesgo de leucemia e infecciones y de desarrollo prematuro de enfermedad de Alzheimer.
- La delección de genes en el locus cromosómico 22q11.2 da lugar a malformaciones que afectan a la cara, corazón, timo y paratiroides. Los trastornos que provoca son síndrome de DiGeorge (hipoplasia tímica con disminución de la inmunidad mediada por linfocitos T e hipoplasia paratiroidea con hipocalcemia) y síndrome velocardiofacial (cardiopatía congénita que afecta a los infundíbulos, dismorfia facial y retraso del desarrollo).

Trastornos citogenéticos que afectan a los cromosomas sexuales

Las enfermedades genéticas asociadas a cambios de los cromosomas sexuales son mucho más frecuentes que las relacionadas con aberraciones de autosomas. Además, los desequilibrios (exceso o pérdida) de los cromosomas sexuales se toleran mucho mejor que desequilibrios parecidos en los autosomas. En gran medida, esta diferencia se relaciona con dos factores propios de los cromosomas sexuales: 1) la ionización o inactivación de todos los cromosomas X, salvo uno, y 2) la modesta cantidad de material genético que comprende el cromosoma Y. Estas características se comentarán de forma breve en relación con los trastornos ligados a los cromosomas sexuales.

En 1961, Mary Lyon planteó la hipótesis de la inactivación de un cromosoma X, conocida como hipótesis de Lyon. Se afirma en ella que: 1) solo uno de los cromosomas X está activo a nivel genético; 2) el otro cromosoma X de origen paterno o materno sufre una heteroplasia y se vuelve inactivo; 3) la inactivación del cromosoma X materno o paterno se produce de forma aleatoria entre todas las células del blastocisto el día 5,5 de vida embrionaria, aproximadamente, y 4) la inactivación del mismo cromosoma X persiste en todas las células derivadas de cada célula precursora. Por tanto, la inmensa mayoría de mujeres normales son en realidad mosaicos y tienen dos poblaciones de células, una con un cromosoma X materno inactivado y la otra con un cromosoma X paterno inactivado. Este fenómeno explica por qué las mujeres tienen la misma dosis de genes activos ligados al cromosoma X que los hombres. El cromosoma X inactivo se puede ver en el núcleo en interfaz como una pequeña masa de coloración oscura en contacto con la membrana nuclear y que se llama *corpúsculo de Barr* o cromatina X. La base molecular de la inactivación del X depende de un gen único, llamado *XIST*, cuyo producto es un ARN no codificante largo (ARNlnc; v. capítulo 1) que se conserva en el núcleo donde «recubre» al cromosoma X a partir del cual se transcribe y que inicia un proceso de silenciamiento de genes mediante la modificación de la cromatina y la metilación del ADN. El alelo *XIST* está apagado en el cromosoma X activo.

Aunque inicialmente se pensaba que todos los genes del cromosoma X inactivo estaban «apagados», ahora se sabe que muchos genes escapan a esta inactivación del X. Los estudios moleculares indican que un 30% de los genes de Xp y un número

menor (3%) en Xq escapan de la inactivación del X. Al menos algunos de los genes que se expresan de ambos cromosomas X son importantes para el crecimiento y desarrollo normales. Este concepto viene confirmado por el hecho de que los pacientes con una monosomía del cromosoma X (síndrome de Turner, cromosoma 45,X) presentan alteraciones somáticas y gonadales graves. Si fuera suficiente con una sola dosis de los genes ligados al cromosoma X, no cabría esperar efecto pernicioso alguno en estos casos. Además, aunque un cromosoma X se inactiva en todas las células durante la embriogenia, se reactiva de forma selectiva en las ovogonias antes de la primera división meiótica. Por tanto, parece que el crecimiento y la ovogenia normales necesitan ambos cromosomas X. Los extremos de los brazos largos y cortos de los cromosomas X e Y tienen regiones de homología que se recombinan durante la meiosis y que, en consecuencia, se heredan como *loci* autosómicos. Por este motivo, se denominan regiones seudoautosómicas. Estos genes también evaden la inactivación de X. Estos mecanismos aseguran que hombres y mujeres tienen dosis equivalentes de genes en los cromosomas X e Y.

En relación con el cromosoma Y, se sabe que este cromosoma es suficiente y necesario para el desarrollo de un hombre. **Independientemente del número de cromosomas X, la existencia de un solo cromosoma Y condiciona el sexo masculino.** El gen que condiciona el desarrollo testicular (*SRY* [región determinante del sexo de Y]) está localizado en el brazo corto distal. Durante mucho tiempo se pensó que este era el único gen importante del cromosoma Y. No obstante, estudios recientes han identificado una amplia diversidad de varias familias génicas en la región llamada específica masculina del cromosoma Y, o *MSY*, que alberga 75 genes codificantes de proteínas. Se cree que todos ellos son específicos de los testículos y están implicados en la espermatogenia. En relación con ello, todas las delecciones del cromosoma Y están asociadas a azoospermia. En comparación, el cromosoma X tiene 840 genes codificantes. Las siguientes características son comunes a todos los trastornos de los cromosomas sexuales.

- En general, los trastornos de los cromosomas sexuales producen problemas crónicos sutiles relacionados con el desarrollo sexual y la fertilidad.
- Los trastornos de los cromosomas sexuales son a menudo de difícil diagnóstico al nacer y muchos se diagnostican en la pubertad.
- En general, cuantos más cromosomas X haya, tanto en hombres como en mujeres, mayor riesgo de discapacidad intelectual.

A continuación se resumen los dos trastornos más importantes por aberraciones de los cromosomas sexuales.

Síndrome de Klinefelter

El síndrome de Klinefelter se define como un hipogonadismo masculino que se produce cuando existen dos cromosomas X o más y un cromosoma Y o más. Se trata de uno de los tipos más frecuentes de enfermedad genética que afectan a los cromosomas sexuales y es una de las causas más habituales de hipogonadismo en hombres. La incidencia aproximada de este trastorno es de 1 por cada 660 hombres nacidos vivos. Este valor es una estimación a la baja, ya que el síndrome de Klinefelter tiene diversas manifestaciones fenotípicas y los afectados con rasgos poco manifiestos no llegan a recibir atención médica por ellas. Las características clínicas del síndrome de Klinefelter pueden atribuirse a dos factores principales: 1) aneuploidía y efecto de la dosis de genes aumentada por el gen X supernumerario, y 2) presencia de hipogonadismo. El síndrome de Klinefelter rara vez se diagnostica antes de la pubertad, sobre todo porque las

manifestaciones del hipogonadismo no se hacen patentes antes del inicio de dicha pubertad.

La mayoría de los pacientes muestran una constitución corporal típica que se caracteriza por aumento de la longitud entre las plantas y el hueso púbico, que condiciona un aspecto elongado del cuerpo. Otro rasgo típico es el aspecto eunucoides, con piernas anormalmente largas; testículos pequeños atróficos asociados a menudo a un pene pequeño; y ausencia de características sexuales masculinas secundarias, como voz ronca, barba o distribución masculina del vello púbico. Puede aparecer ginecomastia. Las funciones cognitivas son medias o por debajo de la media, con un moderado déficit de las capacidades verbales, en especial las relacionadas con la lectura o el lenguaje. Los pacientes con síndrome de Klinefelter desarrollan varios trastornos concomitantes. Hay una mayor incidencia de diabetes de tipo 2 y de síndrome metabólico, que producen resistencia a la insulina. Los pacientes están expuestos a mayor riesgo de cardiopatía congénita, en especial de prolapsio de la válvula mitral, que se registra en el 50% de los adultos. Además, hay una mayor prevalencia de comunicaciones intraauriculares e intraventriculares. Hay también una mayor incidencia de osteoporosis y de fracturas, por desequilibrio de las hormonas sexuales. Los pacientes con síndrome de Klinefelter presentan un riesgo aumentado en 20-30 veces de desarrollo de tumores de células germinativas extragonadales, en su mayoría teratomas mediastínicos. Además, el cáncer de mama y enfermedades autoinmunitarias como el lupus eritematoso sistémico son más frecuentes. Conviene puntualizar que los atributos físicos descritos son ciertamente variables, y el hipogonadismo es el único detectado con regularidad.

El síndrome de Klinefelter es una causa genética importante de reducción de la espermatogenia e infertilidad masculina. En algunos pacientes se observa una atrofia completa de los túbulos seminíferos, que se sustituyen por sombras colágenas hialinas rosadas. En otros casos se observan túbulos normales mezclados con otros atróficos. En algunos pacientes, todos los túbulos son primitivos y muestran un aspecto embrionario, porque están constituidos por cordones de células que nunca desarrollan una luz central ni consiguen una espermatogenia madura. Las células de Leydig aparecen muy prominentes, por la atrofia y apilamiento de los túbulos y el aumento de las concentraciones de gonadotropinas. Las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas, en particular las de hormona estimulante del folículo (FSH), están elevadas de manera sistemática, mientras que las de testosterona están reducidas en términos variables. La correlación entre estrógenos y testosterona determina el grado de feminización en casos individuales.

El síndrome de Klinefelter clásico se asocia a un cariotipo 47,XXY (el 90% de los casos). El complemento de cromosomas se debe a la falta de separación durante las divisiones meióticas en las células germinativas de uno de los progenitores. La falta de separación materna y paterna en la primera división meiótica se ven implicadas de forma similar. No se encuentran diferencias fenotípicas entre los pacientes que reciben el cromosoma X extra del padre o de la madre. La edad materna avanzada (> 40 años) es un factor de riesgo. Además de este cariotipo clásico, aproximadamente un 15% de los pacientes con síndrome de Klinefelter muestran diversos patrones de mosaico, de los que la mayoría son 46,XY/47,XXY; en algunos hay una línea celular con un cromosoma X estructuralmente anómalo (p. ej., 47, iXq, Y). Al igual que sucede en las mujeres normales, todos los cromosomas X menos uno se inactivan en los pacientes con síndrome de Klinefelter. Si esto es así, ¿por qué presentan los pacientes con este trastorno hipogonadismo y las alteraciones asociadas? La explicación estriba en los genes del cromosoma X

que escapan a la ionización, y en el patrón de inactivación de dicho cromosoma.

- Un mecanismo patógeno se relaciona con la compensación de dosis no uniforme durante la inactivación del X. En la actualidad, se sabe que alrededor del 35% de los genes ligados al cromosoma X eluden la inactivación. Así pues, hay una cantidad adicional de estos genes, en comparación con la de los hombres normales, en los que solo una copia del cromosoma X es activa y, según parece, la «sobreexpresión» de uno o más de estos genes provoca hipogonadismo. Un mecanismo similar puede determinar también ciertos rasgos somáticos. El gen *homeocaja (homeobox) de la talla baja (SHOX)*, situado en la región seudoautosómica de Xp, es uno de los genes que no está sujeto a inactivación de X. Una copia adicional de este gen relacionado con el crecimiento es probablemente responsable de la alta estatura y las piernas largas típicas del síndrome de Klinefelter. Cabe destacar que la mayoría de los genes cuya expresión está regulada al alza en el síndrome de Klinefelter se sitúan fuera del cromosoma X. Esto implica que el cromosoma X supernumerario puede regular la expresión génica en autosomas.
- Un segundo mecanismo implica al gen que codifica el receptor de andrógenos, a través del cual la testosterona media sus efectos. El gen del receptor de andrógenos se localiza en el cromosoma X y contiene repeticiones CAG (trinucleótidos) altamente polimorfas. La respuesta funcional del receptor ante cualquier cantidad de andrógenos es determinada, en parte, por el número de repeticiones CAG, ya que los receptores con repeticiones CAG más cortas son más sensibles a los andrógenos que los que presentan repeticiones CAG largas. En los pacientes con síndrome de Klinefelter se produce una inactivación preferencial del cromosoma X que es portador del alelo del receptor de andrógenos con la repetición CAG más corta. En hombres XXX con bajas concentraciones de testosterona, la expresión de receptores de andrógenos con repeticiones CAG largas exacerba el hipogonadismo y parece responsable de ciertos aspectos del fenotipo, como el pequeño tamaño del pene.

Síndrome de Turner

El síndrome de Turner se debe a una monosomía completa o parcial del cromosoma X y se caracteriza por el hipogonadismo en pacientes con fenotipo femenino. Es la alteración de los cromosomas sexuales más frecuente en las mujeres y afecta aproximadamente a una de cada 2.000 recién nacidas vivas.

Con los métodos citogenéticos convencionales, se describen tres tipos de alteraciones del cariotipo en individuos con síndrome de Turner:

- *Aproximadamente un 57% muestran la ausencia de todo el cromosoma X, lo que genera un cariotipo 45,X.* Del 43% restante, un tercio (14%) presentan alteraciones estructurales de los cromosomas X y dos tercios (29%) son mosaicos.
- *La característica común de las alteraciones estructurales es que producen una monosomía parcial del cromosoma X.* En orden de frecuencia, las alteraciones estructurales del cromosoma X incluyen: 1) un isocromosoma del brazo largo 46,X,i(X) (q10), que determina la pérdida del brazo corto; 2) delección de porciones de los dos brazos, el corto y el largo, que determina la formación de un cromosoma en anillo, 46,X,r(X), y 3) delección de porciones del brazo corto o largo, 46X,del(Xq) o 46,X,del(Xp).
- *Los pacientes con mosaicos muestran una población de células 45,X junto con uno o dos tipos más de células de cariotipo normal o anormal.* Ejemplos de cariotipos de las mujeres con un

Turner de tipo mosaico son los siguientes: 1) 45,X/46,XX; 2) 45,X/46,XY; 3) 45,X/47,XXX, o 4) 45,X/46,X,i(X)(q10). Los estudios indican que la prevalencia de mosaicismos en el síndrome de Turner puede ser muy superior al 30% detectado con estudios citogenéticos convencionales. El uso de técnicas más sensibles, hace que la prevalencia de síndrome de Turner por mosaico aumente hasta un 75%. Dado que el 99% de los fetos con un cariotipo aparente 45,X no son viables, muchos autores consideran que realmente no existen síndromes de Turner no mosaicos. Aunque este tema se discute, es importante darse cuenta de la heterogeneidad cariotípica ligada al síndrome de Turner, porque es responsable de notables variaciones en el fenotipo. En los pacientes en los que existe una elevada proporción de células 45,X, los cambios fenotípicos son más graves que en los pacientes que tienen un mosaicismo detectable. Estos últimos pueden mostrar un fenotipo casi normal y cursar solo con amenorrea primaria. Un número muy reducido de pacientes puede concebir.

Entre el 5 y el 10% de los pacientes con síndrome de Turner presentan secuencias del cromosoma Y, bien como cromosoma completo (p. ej., cariotipo 45,X/46,XY) o como fragmentos de cromosomas Y translocados en otros cromosomas. Estos pacientes están expuestos a mayor riesgo de sufrir un tumor gonadal (gonadoblastoma).

Los pacientes afectados de forma más grave suelen consultar durante la lactancia por edema del dorso de las manos y pies secundario a estasis venosa y en ocasiones por *edema de la nuca*.

Este último se explica por la existencia de linfáticos muy distendidos, que dan lugar al denominado higroma quístico (v. capítulo 10). Conforme estos lactantes se van desarrollando, el edema desaparece, pero suele determinar un *cuello alado* bilateral con laxitud persistente de la piel de la nuca. También son frecuentes las *malformaciones cardíacas congénitas*, que se describen en un 25-50% de los casos. Las malformaciones cardiovasculares izquierdas, sobre todo coartación preductal de la aorta y válvula aórtica bicúspide, son las alteraciones más frecuentes. Alrededor del 5% de las mujeres jóvenes inicialmente diagnosticadas de coartación de la aorta tienen un síndrome de Turner. La dilatación de la raíz aórtica está presente en el 30% de los casos y el riesgo de disección aórtica está aumentado en 100 veces. Las malformaciones cardiovasculares son la causa más frecuente de mortalidad aumentada en los niños con síndrome de Turner.

Las características clínicas más importantes en los adolescentes y adultos se muestran en la figura 5.22. En la pubertad no se desarrollan las características sexuales secundarias normales. Los genitales externos siguen siendo infantiles, el desarrollo mamario resulta inadecuado y el paciente tiene poco vello púbico. La situación mental de los pacientes suele ser normal, pero se han descrito defectos sutiles del procesamiento de información no verbal de tipo visual y espacial. Para establecer el diagnóstico en un adulto, resulta especialmente importante la talla baja (no suele superar 150 cm de altura) y la amenorrea. El síndrome de Turner es la causa más importante de amenorrea primaria, siendo responsable de un tercio de todos los casos. Por motivos no aclarados, un 50% de los

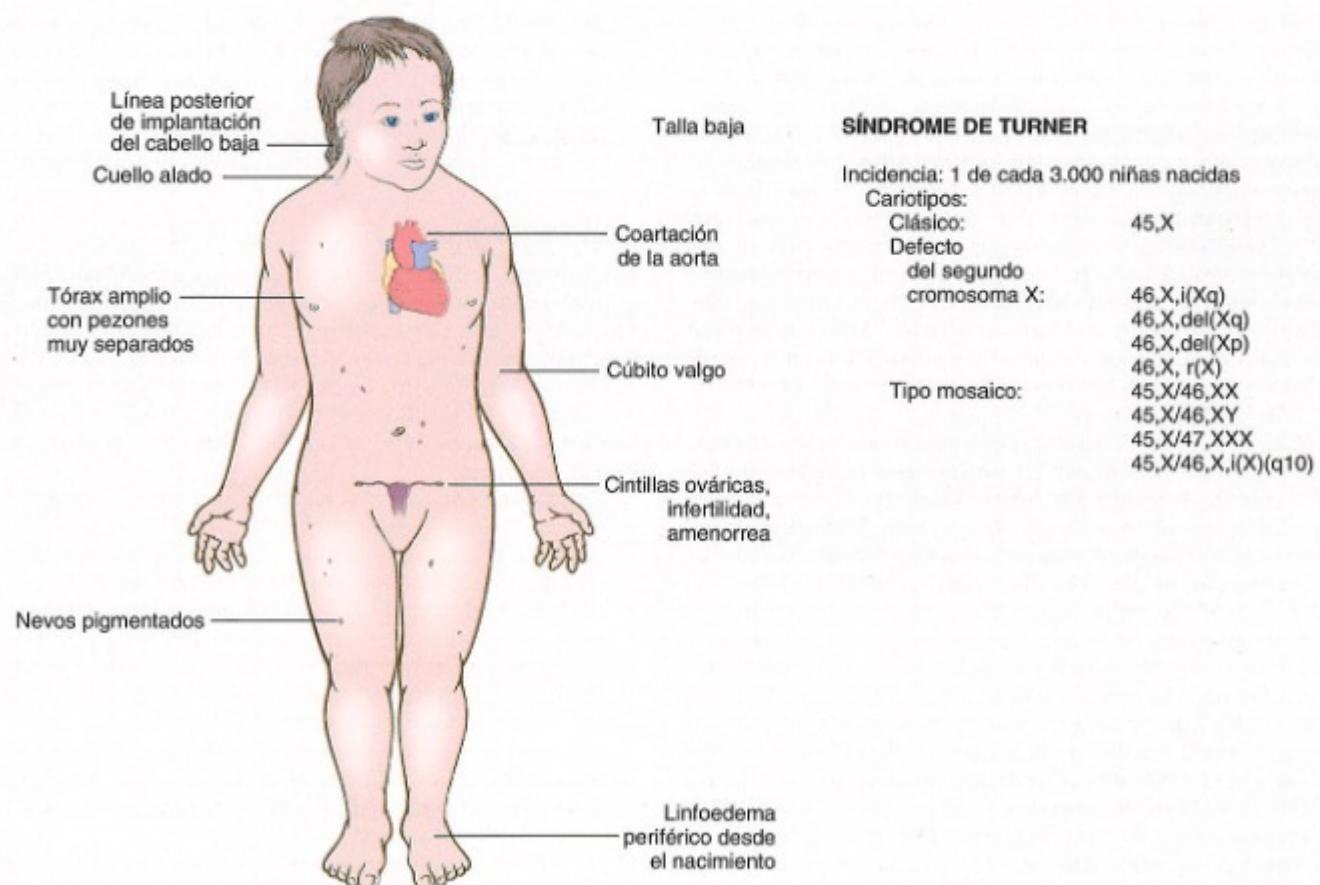


Figura 5.22 Características clínicas y cariotipos del síndrome de Turner.

pacientes desarrollan autoanticuerpos que reaccionan frente al tiroides, y hasta la mitad sufren un hipotiroidismo clínico. También resulta misteriosa la existencia de intolerancia a la glucosa, obesidad, esteatosis hepática no alcohólica y resistencia a la insulina en un subgrupo de pacientes. Algunos presentan un síndrome metabólico plenamente desarrollado. La presencia de resistencia a la insulina resulta de importancia, porque la resistencia a la insulina empeora con la hormona del crecimiento, usada con frecuencia dentro del tratamiento de estos enfermos.

La patogenia molecular del síndrome de Turner no se comprende del todo, pero los estudios han empezado a aclararla. En alrededor del 80% de los casos, el cromosoma X es de origen materno, lo que indica que hay una anomalía en la gametogenia paterna. Como se comentó antes, los dos cromosomas X se encuentran activos durante la ovogenia y resultan esenciales para el desarrollo ovárico normal. Durante el desarrollo fetal normal, los ovarios llegan a contener hasta 7 millones de ovocitos. Los ovocitos desaparecen de forma gradual y en el momento de la menarquía solo quedan unos 400.000, y en la menopausia menos de 10.000. En el síndrome de Turner, los ovarios fetales se desarrollan con normalidad al principio durante las primeras 18 semanas de gestación, pero la ausencia del segundo cromosoma X condiciona una pérdida acelerada de ovocitos, que llega a ser completa a los 2 años de edad. En cierto sentido, «la menopausia se produce antes de la menarquía», y los ovarios quedan convertidos en unas hebras fibrosas atróficas sin óvulos ni folículos (*cintillas ováricas*). Estudios de pacientes afectados de síndrome de Turner con delecciones que afectan al brazo corto o al brazo largo han revelado que muchos de los rasgos somáticos son determinados por genes del brazo corto, mientras que los genes situados en el brazo largo afectan a la fertilidad y la menstruación. Entre los genes implicados en el fenotipo de Turner se cuenta el gen *SHOX* en Xp22.33. Como ya se ha mencionado, el *SHOX* se sitúa en la región seudoautosómica de los cromosomas X e Y y evita la inactivación de X. Así pues, los hombres y mujeres normales tienen dos copias de este gen. Se cree que la haploinsuficiencia de *SHOX* en el síndrome de Turner da lugar a talla baja. De hecho, las delecciones del gen *SHOX* se describen en un 2-5% de los niños normales de talla baja. De acuerdo con su papel como regulador crítico del crecimiento, *SHOX* se expresa durante la vida fetal en las placas de crecimiento de varios huesos largos, como el radio, el cúbito, la tibia y el peroné. También se expresa en el primer y segundo arcos faríngeos. Igual que la pérdida de *SHOX* se asocia siempre a talla baja, el exceso de copias de este gen (en el síndrome de Klinefelter) se asocia a talla alta. Aunque la haploinsuficiencia de *SHOX* puede explicar la falta de crecimiento en el síndrome de Turner, no puede explicar otras características clínicas, como las malformaciones cardíacas y los trastornos metabólicos. Es evidente que deben estar implicados otros genes localizados en el brazo corto del cromosoma X. La hormona del crecimiento y el estradiol se utilizan con un grado razonable de éxito para tratar el síndrome de Turner.

Hermafroditismo y seudohermafroditismo

El problema de la ambigüedad sexual resulta extremadamente complejo y solo es posible realizar aquí algunas observaciones limitadas; si se desean más detalles, consulten fuentes especializadas. El estudiante de medicina no se sorprenderá de la afirmación de que el sexo de un individuo se puede definir a varios niveles. El sexo genético viene determinado por la presencia o ausencia del cromosoma Y. Independientemente del número de cromosomas X de un individuo, un cromosoma Y

único determina el desarrollo testicular y el sexo genético masculino. Las gónadas inicialmente indiferentes de los embriones femeninos y masculinos tienen una tendencia inherente a la feminización, salvo que se vean influidas por factores masculinizantes dependientes del cromosoma Y. El *sexo gonadal* depende de las características histológicas de las gónadas. El *sexo ductal* depende de la existencia de derivados de los conductos de Müller o Wolff. El *sexo genital o fenotípico* se basa en el aspecto de los genitales externos. Se dice que existe ambigüedad sexual cuando hay discrepancia entre estos distintos criterios de determinación del sexo.

El término *hermafrodita verdadero* alude a la existencia de tejido testicular y ovárico. Por el contrario, el *seudohermafrodita* es un desacuerdo entre el *sexo fenotípico y gonadal* (es decir, un seudohermafrodita femenino tiene ovarios y genitales externos masculinos y uno masculino tiene tejido testicular con genitales de tipo femenino). Las bases genéticas de estos trastornos son muy variables y transcienden el ámbito de este análisis.

CONCEPTOS CLAVE

TRASTORNOS CITOGENÉTICOS QUE AFECTAN A LOS CROMOSOMAS SEXUALES

- En las mujeres, un cromosoma X, materno o paterno, se inactiva aleatoriamente durante el desarrollo (hipótesis de Lyon).
- En el síndrome de Klinefelter, hay dos o más cromosomas X con un cromosoma Y por falta de separación de los cromosomas sexuales. Los pacientes presentan atrofia testicular, esterilidad, reducción del vello corporal, ginecomastia y constitución eunucoides. Es la causa más común de esterilidad masculina.
- En el síndrome de Turner, hay monosomía parcial o completa de los genes del brazo corto del cromosoma X, generalmente por ausencia de un cromosoma X (45,X), mosaicismo o delecciones que afectan al brazo corto del cromosoma X. Los rasgos clínicos característicos son talla baja, cuello alado, cúbito valgo, malformaciones cardiovasculares, amenorrea, ausencia de características sexuales secundarias y ovarios fibróticos.

TRASTORNOS MONOGÉNICOS DE HERENCIA NO CLÁSICA

Cada vez resulta más evidente que la transmisión de algunos trastornos monogénicos no sigue los principios mendelianos clásicos. Este grupo de cuadros se pueden clasificar en cuatro tipos:

- Enfermedades causadas por mutaciones en repeticiones de trinucleótidos.
- Trastornos causados por mutaciones en los genes mitocondriales.
- Trastornos asociados a la impronta genómica.
- Trastornos asociados a mosaicismo gonadal.

A continuación, se describen las características clínicas y moleculares de los trastornos monogénicos, que representan ejemplos de estos patrones de herencia no clásicos.

Enfermedades causadas por mutaciones en secuencias repetidas de trinucleótidos

La expansión de las repeticiones de trinucleótidos es una importante causa genética de enfermedad humana, particularmente de trastornos neurodegenerativos. El descubrimiento

Tabla 5.8 Ejemplos de trastornos por repeticiones de trinucleótidos

Enfermedad	Gen	Locus	Proteína	Repetición	Número de repeticiones	
					Normal	Enfermedad
Expansiones que afectan a regiones no codificantes						
Síndrome del cromosoma X frágil	FMR1 (FRAXA)	Xq27.3	Proteína FMR-1 (FMRP)	CGG	6-55	55-200 (pre); > 230 (completa)
Ataxia de Friedreich	FXN	9q13.1	Frataxina	GAA	7-34	34-80 (pre); > 100 (completa)
Distrofia miotónica	DMPK	19q13.3	Proteína cinasa de la distrofia miotónica (DMPK)	CTG	5-37	34-80 (pre); > 100 (completa)
Expansiones que afectan a regiones codificantes						
Atrofia espinobulbar muscular (enfermedad de Kennedy)	AR	Xq12	Receptor de andrógenos (RA)	CAG	5-34	37-70
Enfermedad de Huntington	HTT	4p16.3	Huntingtina	CAG	6-35	39-250
Atrofia dentadorubral palidoluísina (síndrome Haw River)	ATNL	12p13.31	Atrofina 1	CAG	7-35	49-88
Ataxia espinocerebelosa de tipo 1	ATXN1	6p23	Ataxina 1	CAG	6-44	> 39
Ataxia espinocerebelosa de tipo 2	ATXN2	12q24.1	Ataxina 2	CAG	13-33	> 31
Ataxia espinocerebelosa de tipo 3 (enfermedad de Machado-Joseph)	ATXN3	14q21	Ataxina 3	CAG	12-40	55-84
Ataxia espinocerebelosa de tipo 6	Ataxina 6	19p13.3	Subunidad α_{1A} de los canales del calcio dependientes de voltaje	CAG	4-18	21-33
Ataxia espinocerebelosa de tipo 7	Ataxina 7	3p14.1	Ataxina 7	CAG	4-35	37-306

en 1991 de las repeticiones de trinucleótidos en expansión como causa del síndrome del cromosoma X frágil (SXF) marcó un hito en la genética humana. Desde aquel momento, se ha conseguido determinar que el origen de unas 40 enfermedades humanas (tabla 5.8) se relaciona con repeticiones de nucleótidos inestables, y este número sigue aumentando. Todos los trastornos descubiertos hasta la fecha se asocian a cambios neurodegenerativos. Algunos principios generales que se aplican a este tipo de enfermedades son:

- Las mutaciones causantes se asocian a la expansión de una serie de trinucleótidos que suelen compartir los nucleótidos G y C. En todos los casos, el ADN es inestable y la expansión de estas repeticiones por encima de un determinado umbral altera la función del gen en distintos aspectos, según se comenta más adelante. En los últimos años, se han observado enfermedades asociadas a tetra-, penta- y hexanucleótidos inestables, estableciéndose como mecanismos fundamentales de los trastornos neuromusculares.
- La tendencia a expandirse depende en gran medida del sexo del parente transmisor. En el síndrome del cromosoma X frágil, las expansiones se producen durante la ovogenia, mientras que en la enfermedad de Huntington la enfermedad se produce en la espermatogénesis.
- Hay tres mecanismos clave a través de los cuales las repeticiones inestables provocan enfermedad: 1) *Pérdida de función* del gen afectado, normalmente por silenciamiento de la transcripción, como en el SXF. En estos casos, las repeticiones se localizan, en general, en regiones no codificantes. 2) *Ganancia de función tóxica*, por alteraciones de estructura de las proteínas, como en la enfermedad de Huntington y las ataxias espinocerebelosas. En esos casos, las expansiones se encuentran en regiones codificantes de los genes. 3) *Ganancia de función tóxica mediada por ARN*, como la que se observa en el síndrome de temblor y ataxia asociado al cromosoma X frágil. Al igual que en el SXF, se ven afectadas las partes no codificantes del gen (fig. 5.23).

Los mecanismos patogénicos de los trastornos causados por mutaciones que afectan a las regiones codificantes parecen distintos de los asociados a las expansiones de regiones no codificantes. En las primeras se suelen implicar tripletes CAG repetidos que codifican tractos de poliglutamina en las proteínas correspondientes. Estas enfermedades de poliglutaminas se caracterizan por una degeneración neurológica progresiva, que aparece de forma sorprendente en edades medias de la vida. Las expansiones de poliglutamina determinan una ganancia de función tóxica, de forma que la proteína anormal puede interferir en la función de la proteína normal (una actividad negativa dominante) o adquirir una nueva actividad tóxica fisiopatológica. No se comprende del todo el mecanismo mediante el cual las proteínas con expansión de poliglutamina producen la enfermedad. En la mayor parte de los casos, las proteínas están mal plegadas y tienden a agregarse; los agregados pueden suprimir la transcripción de otros genes, provocando disfunción mitocondrial o activar la respuesta de estrés ante proteínas no plegadas, con la consiguiente apoptosis (v. capítulos 1 y 2). Una característica morfológica de estas enfermedades es la acumulación de proteínas mutantes agregadas en grandes inclusiones intranucleares. Mientras que la formación de agregados es común a numerosas enfermedades de la poliglutamina, la evidencia de la función tóxica directa de los agregados no es generalizada. De hecho, algunos observadores consideran que la agregación puede resultar protectora por secuestro de las proteínas mal plegadas. Otros modelos de patogenia implican efectos anterógrados mediados por fragmentos proteolíticos del fragmento de poliglutamina. Aún es necesario saber mucho más antes de poder desarrollar estrategias terapéuticas.

Síndrome del cromosoma X frágil (SXF)

El SXF es la causa más común de discapacidad intelectual en hombres y, en términos globales, la segunda causa genética más frecuente después del síndrome de Down. Lo produce una mutación de expansión de trinucleótidos en el gen del

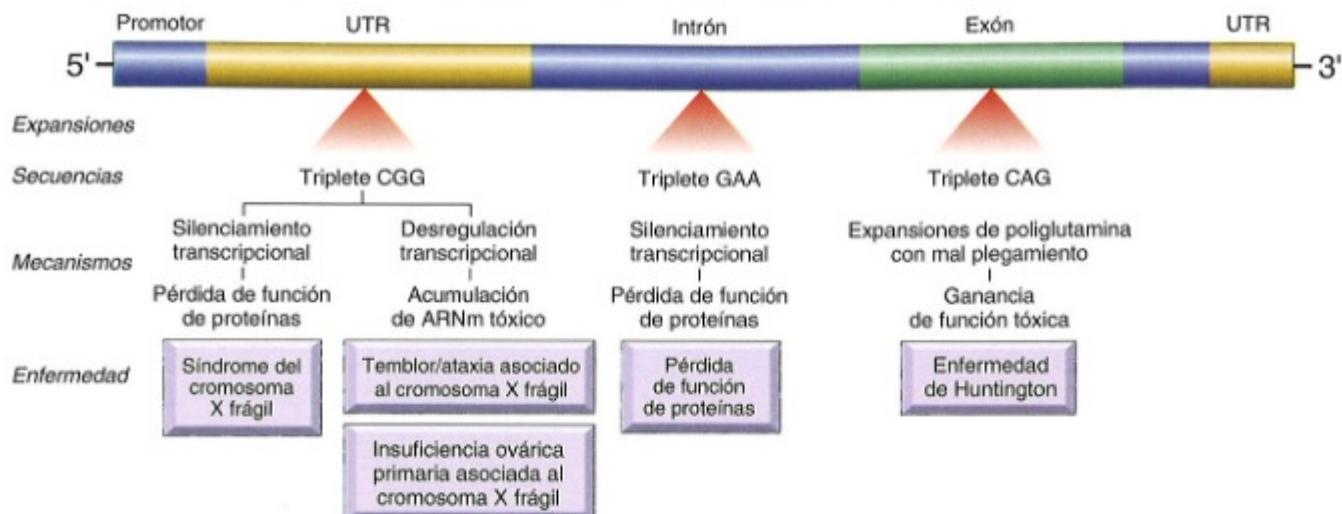


Figura 5.23 Lugares de expansión y secuencia afectada en algunas enfermedades seleccionadas debidas a mutaciones por repetición de nucleótidos. UTR, región no traducida.

retraso mental familiar 1 (FMR1). Aunque inicialmente descubiertas como causa del SXF, actualmente se sabe que las mutaciones con expansión que afectan al gen *FMR1* están presentes en otros dos trastornos bien definidos, el síndrome de temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil y la insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil. Iniciaremos el análisis de estos trastornos considerando primero el SXF.

Tiene una frecuencia de 1 por cada 1.550 hombres afectados y 1 por cada 8.000 mujeres. Su nombre deriva de una anomalía citogenética inducible del cromosoma X en el área del gen *FMR1*. La alteración citogenética fue descubierta como discontinuidad de la tinción o como constricción en el brazo largo del cromosoma X cuando se cultivan las células en un medio con carencia de folato. Dado que parece que el cromosoma estuviera «roto» en este punto, se le llama *sitio frágil* (fig. 5.24). Este método de detección ha sido reemplazado en la actualidad por el análisis basado en el ADN del tamaño de las repeticiones de tripletes.

Los hombres con SXF muestran *una discapacidad intelectual* importante. Expresan un fenotipo característico que incluye cara larga con mandíbula grande, orejas grandes evertidas y testículos grandes (macrorquidia). Las articulaciones hiperextensibles, el paladar alto ojival y el prolapsio de la válvula mitral descrito en algunos pacientes se parece a los trastornos del tejido conjuntivo. Sin embargo, estas alteraciones físicas y otras descritas en este cuadro no se reconocen siempre, y en algunos casos son muy sutiles. La característica más distintiva es la *macrorquidia*, que se observa al menos en un 90% de los hombres pospuberales afectados.

Además de la discapacidad intelectual, en pacientes con SXF se han identificado varias manifestaciones neurológicas y neuro-psiquiátricas. Entre ellas se cuentan la epilepsia, en el 30% de los casos, un comportamiento agresivo, en el 90% de los casos, trastornos del espectro autista (incluidas diversas alteraciones, como autismo y síndrome de Asperger) y trastorno de ansiedad/hiperactividad. Los dos últimos afectan al 50-75% de los hombres con SXF. Entre el 2 y el 5% de los diagnosticados previamente como autismo no sindrómico tienen una mutación en el gen *FMR1*.

Igual que sucede en otros trastornos ligados al cromosoma X, el SXF afecta predominantemente a los hombres. Sin embargo, el análisis de varias familias muestra algunos patrones de transmisión que no se asocian normalmente a otros trastornos recesivos ligados al cromosoma X (fig. 5.25).

- **Hombres portadores:** un 20% de los hombres que son portadores conocidos mediante el análisis del árbol genealógico y las pruebas moleculares de la mutación del cromosoma X frágil son normales a nivel clínico. Dado que los hombres portadores transmiten este rasgo a través de todas sus hijas (que tienen un fenotipo normal) a los nietos afectados, se llaman *hombres normales transmisores*.
- **Mujeres afectadas:** afecta a un 30-50% de las mujeres portadoras (es decir, tienen discapacidad intelectual, así como otras características descritas aquí), un número muy superior al que se encuentra en los demás trastornos recesivos ligados al cromosoma X.
- **Riesgo de efectos fenotípicos:** el riesgo depende de la posición del individuo dentro del árbol genealógico. Por ejemplo, los hermanos hombres de un hombre transmisor tienen un riesgo de sufrir discapacidad intelectual del 9%, mientras que los nietos de los hombres transmisores tienen un riesgo del 40%.
- **Anticipación:** este fenómeno consiste en que las características clínicas del SXF empeoran con cada generación sucesiva, como si la mutación fuera cada vez más grave cuando se transmite de un hombre a sus nietos y bisnietos hombres (a través de las hijas).

El primer avance en la resolución de estos fenómenos poco frecuentes fueron los estudios de ligamiento, que localizaron la mutación responsable de esta enfermedad en el Xq27.3, dentro de una región alterada a nivel citogenético. En esta región se encuentra el gen *FMR1*, caracterizado por múltiples secuencias CGG repetidas en la región 5', que no se traduce. En la población normal, el número de repeticiones CGG es pequeño, entre 6 y

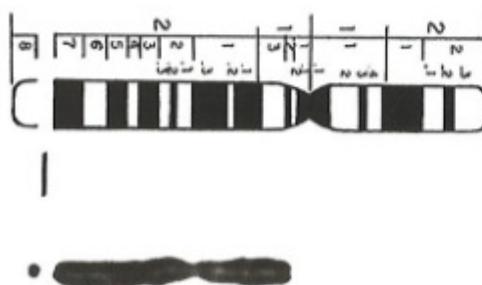


Figura 5.24 Cromosoma X frágil, que se reconoce como una solución de continuidad en la tinción. (Por cortesía de la Dra. Patricia Howard-Peebles, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Tex.)

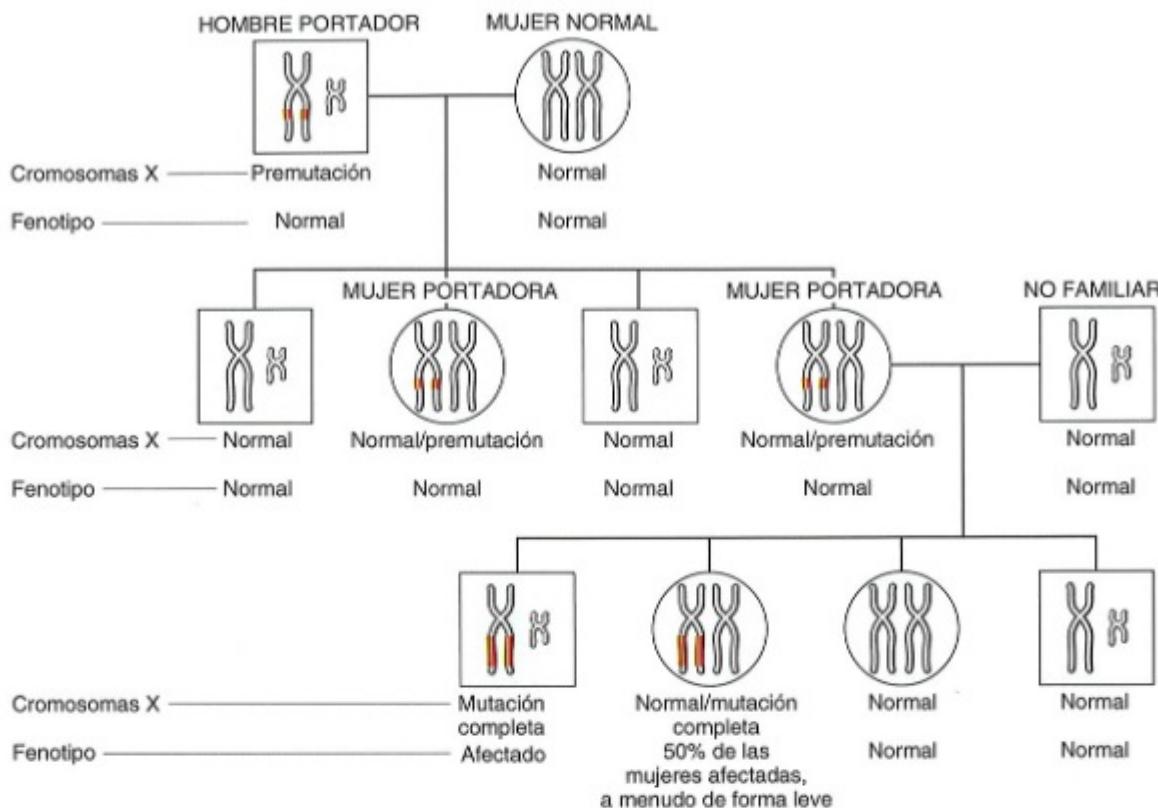


Figura 5.25 Árbol genealógico de síndrome del cromosoma X frágil. Obsérvese que en la primera generación todos los hijos hombres son normales y todas las mujeres son portadoras. Durante la ovogenia, en la mujer portadora se produce una expansión de la premutación a una mutación completa; por tanto, en la generación siguiente todos los hombres que heredan el cromosoma X con la mutación completa se afectan. Sin embargo, solo el 50% de las mujeres que heredan la mutación completa se ven afectadas y de forma leve. No se muestran el síndrome de temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil ni la insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil, que pueden registrarse en portadores de premutaciones. (Por cortesía de la Dra. Nancy Schneider, Department of Pathology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Tex.)

55 (media, 29). La existencia y gravedad de síntomas clínicos se relacionan con la amplificación de estas repeticiones CGG. Por tanto, los valores transmisores normales y las mujeres portadoras tienen entre 55 y 200 repeticiones CGG. Las expansiones de este tamaño se llaman *premutaciones*. Por el contrario, los individuos afectados muestran una expansión muy grande de esta región (200-4.000 repeticiones, o *mutaciones completas*). Se cree que las mutaciones completas se deben a una mayor amplificación de las repeticiones CGG observadas en la premutación. El desarrollo de este proceso es bastante peculiar. Los hombres portadores transmiten estas repeticiones a sus descendientes con pequeños cambios en el número de estas. Cuando se transmite la premutación por una mujer portadora, se produce una gran probabilidad de una amplificación espectacular de las repeticiones CGG, que es responsable de la discapacidad intelectual en la mayoría de los descendientes hombres y un 50% de las mujeres. Por tanto, *parece que durante el proceso de la ovogenia, pero no durante la espermatogenia, las premutaciones pueden convertirse en mutaciones por amplificación de las repeticiones de tripletes*. Esto explicaría el patrón extraño de herencia, de forma que existe un riesgo mucho mayor de discapacidad intelectual en los nietos de los hombres transmisores que en sus hermanos, porque los nietos tienen riesgo de heredar una premutación de su abuelo que se amplifica a una mutación completa en los óvulos de sus madres. En comparación, los hermanos de los hombres transmisores, que ocupan estratos más altos en el árbol genealógico, tienen un riesgo menor de sufrir una mutación completa. Estos detalles moleculares también explican de forma satisfactoria la anticipación, un fenómeno que no tuvo explicación hasta que se descubrieron las mutaciones de repeticiones de tripletes. No está claro por qué solo un 50% de las mujeres con la mutación

completa sufren la enfermedad clínica. Parece posible que en las afectadas se observe una lionización desfavorable (es decir, una frecuencia de células con actividad del cromosoma X portador de la mutación más alta).

La base molecular de la discapacidad intelectual y otros cambios somáticos se relaciona con la pérdida de función de la proteína del retraso mental del X frágil (FMRP), el producto del gen *FMR1*. Como se ha comentado antes, el gen *FMR1* normal contiene hasta 55 repeticiones CGG en su extremo 5' no traducido. Cuando las repeticiones de trinucleótidos en el gen *FMR1* superan 230, el ADN de toda la región 5' del gen se metila de forma anormal. La metilación se extiende en sentido proximal hasta afectar a la región promotora del gen, y esto se traduce en una supresión de la transcripción de *FMR1*. La ausencia consiguiente de FMRP se considera responsable de los cambios fenotípicos.

FMRP es una proteína citoplasmática expresada de forma amplia, sobre todo en el encéfalo y el testículo, que son los dos órganos más afectados por este cuadro. Las funciones propuestas para ella en el encéfalo son las siguientes:

- *FMRP se une selectivamente al ARNm asociado a polisomas y regula su transporte intracelular a las dendritas.* A diferencia de lo que sucede en otras células, en las neuronas, la síntesis de proteínas se produce tanto en el citoplasma perinuclear como en las espinas dendríticas. FMRP de nueva formación se transloca al núcleo, donde se ensambla en un complejo que contiene transcritos de ARNm que codifican proteínas pre- y postsinápticas. Los complejos FMRP-ARNm son, a continuación, exportados al citoplasma, desde donde son transportados a las dendritas, cerca de las sinapsis neuronales (fig. 5.26).

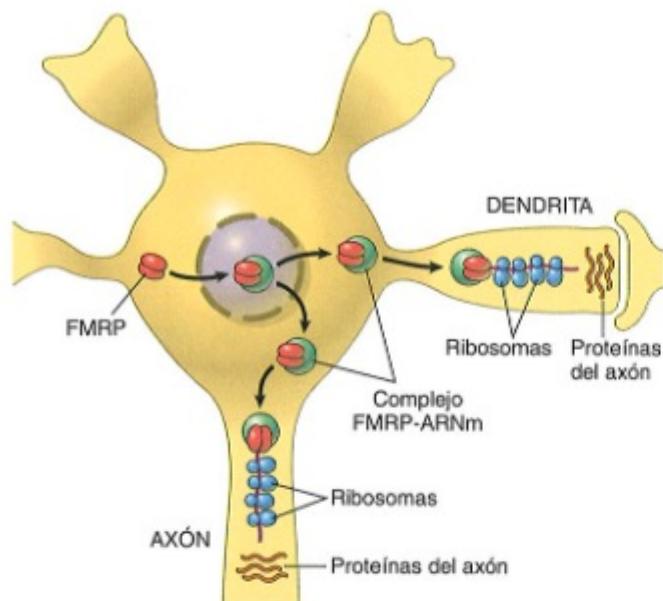


Figura 5.26 Modelo para la acción de la proteína de retraso mental familiar (FMRP) en las neuronas. (Modificado de Hin P, Warren ST: New insights into fragile X syndrome: from molecules to neurobehavior, Trends Biochem Sci 28:152, 2003.)

- **FMRP es un regulador de la traducción.** En las uniones sinápticas, FMRP suprime la síntesis de proteínas a partir de los ARNm ligados en respuesta a la transmisión de señales a través de los receptores del glutamato metabótropos de tipo I (mGlu-R). Así pues, en el SXF, una reducción de FMRP da lugar a aumento de la traducción de los ARNm unidos a nivel de las sinapsis. Esto da lugar a un desequilibrio de la producción de proteínas en las sinapsis, que determina una pérdida de la plasticidad sináptica, es decir, de la capacidad de las sinapsis para cambiar y adaptarse en respuesta a señales específicas. La plasticidad sináptica es esencial para el aprendizaje y la memoria.

Aunque la constatación de un cariotipo anormal permitió identificar este trastorno, la detección mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de las repeticiones es actualmente el método de elección para el diagnóstico.

Síndrome de temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil e insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil

Aunque inicialmente se presumieron inocuas, las mutaciones CGG en el gen *FMR1* pueden causar dos enfermedades fenotípicamente diferenciadas del SXF mediante un mecanismo distinto que implica una ganancia de función tóxica. Una década después del descubrimiento de que las expansiones de las repeticiones de CGG causan el SXF, se confirmó que alrededor del 20% de las mujeres portadoras de mutación (mujeres portadoras) padecen insuficiencia ovárica prematura (antes de los 40 años). Esta patología se denomina *insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil*. Las mujeres afectadas presentan irregularidades menstruales y fertilidad reducida. Las concentraciones de FSH están elevadas, y las de hormona antimülleriana, reducidas, datos sugestivos ambos de deterioro de la función ovárica. Desarrollan la menopausia unos 5 años antes que las mujeres control. Aproximadamente el 50% de los hombres portadores (hombres transmisores) experimentan un síndrome neurodegenerativo progresivo, que comienza en la

sexta década de vida. Dicho síndrome, conocido como de *temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil*, se caracteriza por temblores intencionales y ataxia cerebelosa, y puede evolucionar a parkinsonismo.

¿Cómo provocan la enfermedad las mutaciones? En estos pacientes, el gen *FMR1*, en vez de ser metilado y silenciado, se sigue transcribiendo. Los ARNm de *FMR1* que contienen CGG así formados son «tóxicos». Reclutan proteínas de unión y alteran su función por secuestro en sus localizaciones normales. El ARNm de *FMR1* y las proteínas de unión a ARN secuestradas se agregan en el núcleo y forman inclusiones intranucleares en los sistemas nerviosos central y periférico. Como en el SXF, los hombres se afectan con mucha más frecuencia y más gravemente que las mujeres portadoras de mutaciones. La patogenia de la insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil se conoce peor. Los agregados que contienen ARNm de *FMR1* se han detectado en células de la granulosa y en células del estroma ovárico. Tal vez estos agregados provocan muerte prematura de folículos ováricos.

CONCEPTOS CLAVE

SÍNDROME DEL CROMOSOMA X FRÁGIL (SXF)

- La ampliación patológica de las repeticiones de trinucleótidos causa pérdida de función (SXF) o mutaciones con ganancia de función (enfermedad de Huntington). La mayoría de ellas provocan trastornos neurodegenerativos.
- El SXF es consecuencia de pérdida de función del gen *FMR1* y se caracteriza por discapacidad intelectual grave y diversas alteraciones neuropsiquiátricas, como los trastornos del espectro autista.
- En la población normal hay de 29 a 55 repeticiones de CGG en el gen *FMR1*. Los genomas de los hombres y mujeres portadores contienen mutaciones con entre 55 y 200 repeticiones de CGG, que pueden expandirse hasta 4.000 (mutaciones completas) durante la ovogenia. Cuando las mutaciones completas se transmiten a la descendencia, se produce el SXF.
- Los portadores de mutaciones desarrollan síndrome de temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil e insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil, por ganancia de función tóxica debida a ARNm de *FMR1* anómalo.

Mutaciones en genes mitocondriales: neuropatía óptica hereditaria de Leber

La mayoría de los genes se localizan dentro de los cromosomas en el núcleo celular y se heredan siguiendo el patrón mendeliano clásico. Sin embargo, existen varios genes mitocondriales, que se heredan mediante un mecanismo bastante distinto. *Un rasgo propio del ADNmt es la herencia materna*. Este rasgo se explica porque los óvulos contienen numerosas mitocondrias dentro de su abundante citoplasma, mientras que los espermatozoides contienen pocas o ninguna. Por eso, el complemento de ADNmt del cigoto deriva por completo del óvulo. Las madres transmiten el ADNmt a todos sus descendientes, tanto hombres como mujeres; solo las hijas, y no los hijos, lo transmiten a su propia descendencia (fig. 5.27). La herencia mitocondrial tiene otras características.

- *El ADNmt humano contiene 37 genes*, de los que 22 se transcriben en ARN de transferencia y dos en ARN ribosómico. Los otros 13 genes codifican subunidades de enzimas de la cadena respiratoria. Como el ADNmt codifica enzimas implicadas en la fosforilación oxidativa, las mutaciones que afectan a estos genes tienen un efecto negativo, sobre todo

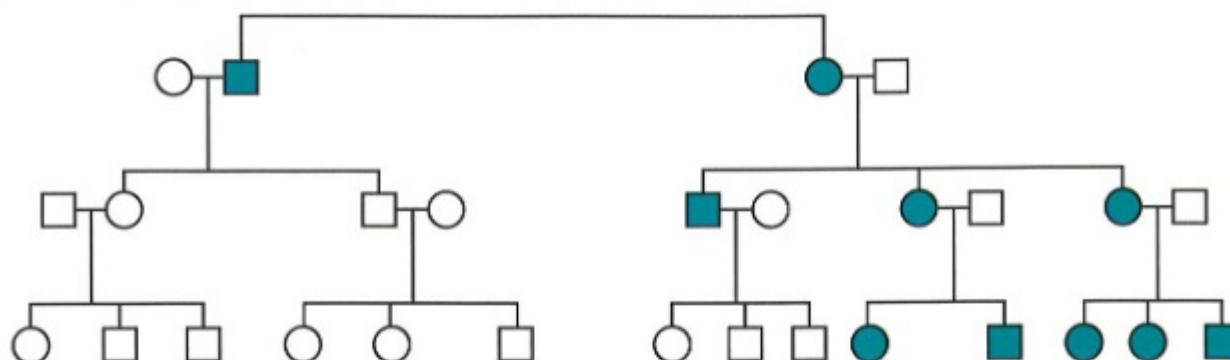


Figura 5.27 Árbol genealógico de la neuropatía hereditaria óptica de Leber; un trastorno asociado a una mutación del ADN mitocondrial. Obsérvese que todos los descendientes del hombre afectado (cuadros sombreados) son normales, mientras que todos los hijos (hombres y mujeres) de la mujer afectada (círculos sombreados) sufren la enfermedad en un grado variable, como se ha comentado en el texto.

en órganos muy dependientes de la fosforilación oxidativa, como el sistema nervioso central, el músculo esquelético, el músculo cardíaco, el hígado y los riñones.

- Cada mitocondria dispone de miles de copias de ADNmt y, normalmente, las mutaciones perniciosas de ADNmt afectan a algunas de estas copias, pero no a todas. Por tanto, los tejidos y los individuos pueden ser portadores de un ADNmt mutante y de tipo silvestre, una situación llamada *heteroplasmia*. Una cantidad mínima de ADNmt mutante en una célula o tejido antes de que la disfunción oxidativa determine una enfermedad. Esto se llama «efecto umbral». No es sorprendente que este umbral se alcance más fácilmente en los tejidos con actividad metabólica mencionados antes.
- Durante la división celular, las mitocondrias y el ADN que contiene se distribuyen de forma aleatoria a las células hijas. Por tanto, cuando una célula que contiene ADNmt normal y mutante se divide, el porcentaje de ADNmt mutante y normal en estas células hijas será muy variable. Por tanto, la expresión de los trastornos asociados a mutaciones del ADNmt es muy variable.

Las enfermedades asociadas a herencia mitocondrial son infrecuentes y, como se ha comentado antes, muchas de ellas afectan al sistema neuromuscular. La *neuropatía óptica hereditaria de Leber* es un prototipo de este tipo de procesos. Se trata de una enfermedad neurodegenerativa que se manifiesta con una pérdida bilateral y progresiva de la visión central. La alteración visual se percibe por vez primera entre los 15 y 35 años y al final produce ceguera. En algunas familias se identifican también defectos de la conducción cardíaca y alteraciones neurológicas menores.

Impronta genómica

Todos heredamos dos copias de cada gen autosómico, que se transportan en los cromosomas paternos y maternos homólogos. Antes se asumía que existían pocas diferencias funcionales entre los alelos de origen materno y paterno. En la actualidad, los estudios realizados han aportado pruebas definitivas de que, al menos en algunos genes, existen diferencias funcionales importantes entre el alelo materno y paterno. Estas diferencias se deben a procesos epigenéticos, que se llaman *impronta*. En la mayoría de los casos, la impronta inactiva de forma selectiva el alelo paterno o materno. Por tanto, se llama *impronta materna* al silenciamiento transcripcional del alelo materno e *impronta paterna* a la inactivación del alelo paterno.

La impronta tiene lugar en el óvulo o el espermatozoide antes de la fecundación, y se transmite de forma estable a todas

las células somáticas durante la mitosis. Como sucede con otros casos de regulación epigenética, la impronta se asocia a patrones diferenciales de metilación del ADN a nivel de nucleótidos CG. Otros mecanismos incluyen la desacetilación y metilación de la histona H4 (v. capítulo 1). Independientemente del mecanismo, se cree que este marcado de los cromosomas paternos y maternos tiene lugar durante la gametogenia, y parece que desde el momento de la concepción, algunos cromosomas «recuerdan» de dónde proceden. Se ignora el número exacto de genes imprimados, pero se estima que existen entre 200 y 600. Aunque los genes imprimados pueden aparecer aislados, es más frecuente que aparezcan en grupos que se regulan mediante elementos comunes que actúan en *cis* y que se llaman «regiones de control de la impronta». La impronta genómica se puede comprender mejor analizando dos trastornos genéticos poco frecuentes, los síndromes de Prader-Willi y Angelman, de los que originalmente se pensaba que no guardaban relación, y en los que esta no se confirmó hasta que las lesiones genéticas responsables se ubicaron en la misma localización. Dichos síndromes se describen a continuación.

Síndromes de Prader-Willi y Angelman

El síndrome de Prader-Willi se caracteriza por discapacidad intelectual, talla baja, hipotonía, profunda hiperfagia, obesidad, manos y pies pequeños e hipogonadismo. En un 65-70% de los casos, se reconoce una delección intersticial de la banda q12 en el brazo largo del cromosoma 15, del(15)(q11.2q13). En la mayoría de los casos, la rotura se produce en el mismo lugar y da origen a una delección de 5 Mb. Resulta sorprendente que en todos los casos la delección afecte al cromosoma 15 de origen paterno. A diferencia de lo que sucede en el síndrome de Prader-Willi, los pacientes que presentan el fenotipo del síndrome de Angelman nacen con una delección de la misma región cromosómica, pero de origen materno. Los pacientes con síndrome de Angelman sufren también discapacidad intelectual, pero, además, desarrollan microcefalia, ataxia, convulsiones y risa inapropiada. Dadas sus risas y su ataxia, se les suele llamar «payasos felices». La comparación de estos dos síndromes confirma de forma clara los efectos del progenitor de origen sobre la función de los genes.

La base molecular de estos dos síndromes es el proceso de la impronta genómica (fig. 5.28). Están implicados tres mecanismos:

- *Delecciones*. Se sabe que un gen o conjunto de genes del cromosoma materno 15q12 se impriman (y, por tanto, se silencian), de forma que los únicos alelos funcionales vienen aportados por el cromosoma paterno. Cuando estos se pierden como consecuencia de una delección, la persona desarrolla el síndrome de Prader-Willi. Por el contrario, un gen distinto que

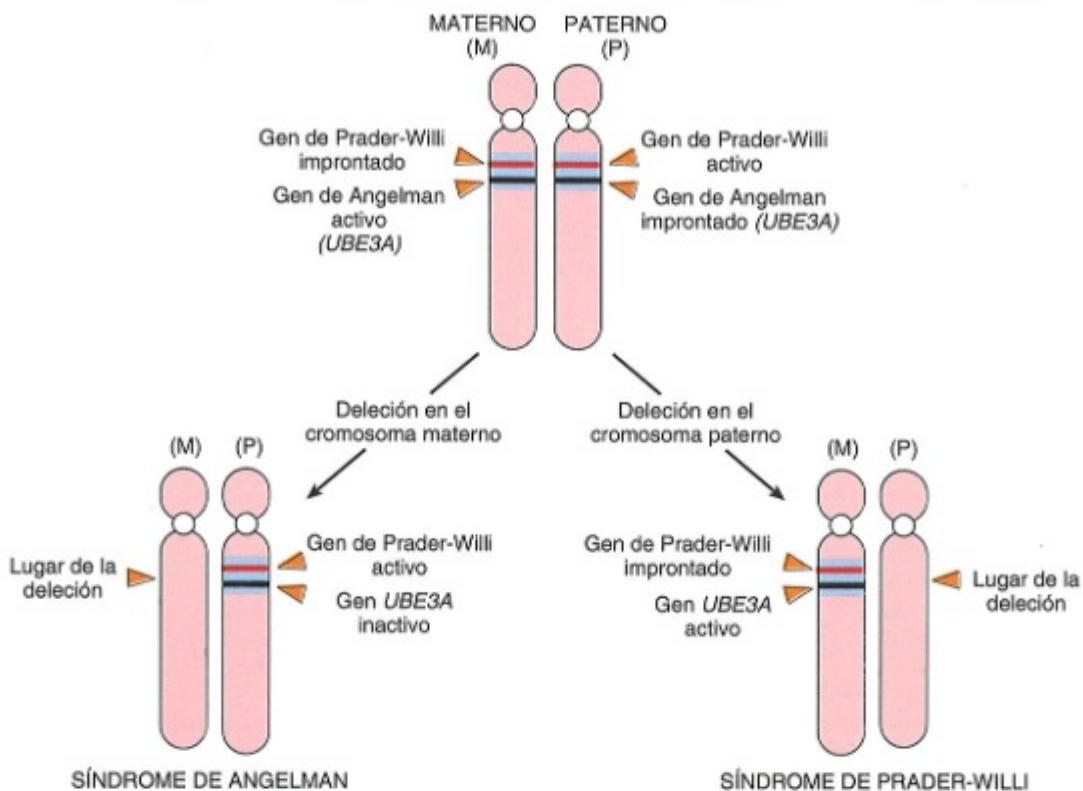


Figura 5.28 Representación esquemática de los síndromes de Prader-Willi y Angelman.

también se localiza en la misma región del cromosoma 15 se impronta en el cromosoma paterno. Solo el alelo de origen materno de este gen está activo en condiciones normales. La delección de este gen materno del cromosoma 15 da lugar al síndrome de Angelman. Se producen delecciones en el 70% de los casos.

- **Disomía uniparental.** Los estudios moleculares sobre pacientes normales a nivel citogenético con síndrome de Prader-Willi (es decir, los que carecen de delección) han demostrado que tienen dos copias del cromosoma 15 de origen materno. La herencia de los dos cromosomas de una pareja de un solo progenitor se llama *disomía uniparental*. El efecto neto es el mismo (es decir, el paciente no tiene un conjunto funcional de genes de los cromosomas 15 paternos no improntados). El síndrome de Angelman, como cabía esperar, se puede producir también por una disomía uniparental del cromosoma 15 paterno. Este es el segundo mecanismo más frecuente, responsable del 20-25% de los casos.
- **Impronta defectuosa.** En una reducida minoría de pacientes (del 1 al 4%) hay un defecto de la impronta. En algunos de los afectados por síndrome de Prader-Willi, el cromosoma paterno es portador de la impronta materna, mientras que en el síndrome de Angelman, los cromosomas maternos portan la impronta paterna (por lo que no hay alelos funcionales).

La base genética de estos dos trastornos de la impronta se está empezando a identificar.

- En el síndrome de Angelman, el gen afectado es una ubicutina ligasa, que participa en el control de la transferencia de una ubicutina activada a las proteínas diana. El gen, llamado *UBE3A*, se localiza dentro de la región 15q12, se impronta en el cromosoma paterno y se expresa a partir del alelo materno principalmente en regiones específicas del encéfalo. La ausencia de *UBE3A* inhibe la formación de

sinapsis y la plasticidad sináptica. La impronta es específica de cada tejido, de forma que *UBE3A* se expresa a partir de los dos alelos en la mayor parte de los tejidos.

- A diferencia de lo que sucede en el síndrome de Angelman, en el síndrome de Prader-Willi no ha resultado posible implicar un gen concreto. Se cree que participan un conjunto de genes localizados en el intervalo 15q11.2-q13 (improntados en el cromosoma materno y expresados a partir del cromosoma paterno). Entre ellos se cuentan la familia de genes SNORP, que codifican pequeños ARN nucleolares. Estos ARN son moléculas no codificantes implicadas en modificaciones postranscripcionales de los ARN ribosómicos y de otros pequeños ARN nucleares. Se cree que la pérdida de funciones de SNORP contribuye al síndrome de Prader-Willi, si bien no están claros los mecanismos exactos.

El diagnóstico molecular de estos síndromes se basa en la valoración del estado de metilación de los genes marcadores y la FISH. La importancia de la impronta no queda limitada a estos infrecuentes trastornos cromosómicos. Los efectos del progenitor de origen se han descrito en diversos procesos hereditarios, como la enfermedad de Huntington o la distrofia miotónica y en la carcinogénesis.

CONCEPTOS CLAVE

IMPRONTA GENÓMICA

- La impronta implica el silenciamiento transcripcional de copias paternas o maternas de ciertos genes durante la gametogenia. Para esos genes solo existe una copia funcional en la persona. La pérdida del alelo funcional (no improntado) por delección induce enfermedades.

- En el síndrome de Prader-Willi, se produce delección de la banda q12 en el brazo largo del cromosoma 15 paterno. Los genes de esta región del cromosoma 15 materno están improntados, por lo que se registra pérdida completa de sus funciones. Los pacientes presentan discapacidad intelectual, talla baja, hipotonía, hiperfagia, manos y pies pequeños, e hipogonadismo.
- En el síndrome de Angelman se encuentra una delección de la misma región del cromosoma materno y los genes de la región correspondiente del cromosoma 15 paterno están improntados. Estos pacientes presentan discapacidad intelectual, ataxia, convulsiones y risa inapropiada.

Mosaicismo gonadal

Se ha comentado que algunos pacientes con trastornos autosómicos dominantes tienen padres no afectados. En estos pacientes, la enfermedad se debe a una mutación *de novo* en el óvulo o espermatozoide del cual derivan; como tal, los hermanos no están afectados ni tienen un riesgo mayor de sufrir la enfermedad. Sin embargo, esto no siempre sucede así. *En algunos trastornos autosómicos dominantes, como la osteogenia imperfecta, unos padres de fenotipo normal tienen más de un hijo afectado.* Esto violaría de forma clara las leyes de la herencia de Mendel. Los estudios indican que el mosaicismo gonadal es la base de estos árboles genealógicos peculiares. Este mosaicismo se debe a una mutación que tiene lugar durante el desarrollo embrionario precoz, superada la fase del cigoto. Si la mutación afecta solo a las células destinadas a formar las gónadas, los gametos portan la mutación, pero las células somáticas del individuo serán totalmente normales. Un padre de fenotipo normal que muestra un mosaicismo gonadal puede transmitir la mutación responsable de una enfermedad a su descendencia a través de sus gametos mutantes. Como las células progenitoras de los gametos son portadoras de la mutación, existe un riesgo de que más de un descendiente de este progenitor resulte afectado. Es evidente que el riesgo de que esto suceda dependerá del porcentaje de células germinativas que portan la mutación.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO MOLECULAR

El campo del diagnóstico molecular comenzó a gestarse en la segunda mitad del siglo XX, con la aplicación de trabajos métodos de bajo rendimiento, como la determinación convencional del cariotipo para el diagnóstico de trastornos citogenéticos (p. ej., el síndrome de Down), y las pruebas basadas en el ADN, como la inmunotransferencia de Southern para el diagnóstico de la enfermedad de Huntington. Con el tiempo, una continuada serie de avances tecnológicos hizo que se desarrollasen metodologías de capacidad cada vez mayor, particularmente en el área de la secuenciación de ácidos nucleicos. Tales avances se iniciaron con el desarrollo de la secuenciación de ADN con técnica de Sanger, en 1977, y la PCR, en 1983, y se aceleraron con rapidez con la introducción de las estrategias de secuenciación paralela masiva de alto rendimiento (a menudo englobadas dentro del término secuenciación masiva [NGS]) a finales de la década de los noventa. La NGS ha continuado mejorando en términos de velocidad de aplicación y de coste, y, en la actualidad, es posible secuenciar un genoma completo por menos de 1.000 dólares en pocos días. En consecuencia, las pruebas basadas en ácidos nucleicos están asumiendo una posición destacada en el diagnóstico y el tratamiento de numerosas enfermedades.

En la actualidad, asistimos a un período de transición, durante el cual muchas pruebas monogénicas simples que utilizan tecnologías «antiguas» están siendo reemplazadas, poco a poco, pero de manera constante, por abordajes más globales basados en la NGS. Dicho esto, cabe puntualizar que ciertos tipos de anomalías genéticas son difíciles de detectar mediante NGS, por lo que en el futuro próximo las tecnologías antiguas continuarán desempeñando un importante papel en el ámbito de las pruebas de las enfermedades genéticas. El análisis exhaustivo de los diagnósticos moleculares va más allá del área de cobertura de este libro. En él destacamos algunos de los enfoques más útiles y profusamente utilizados.

Al considerar las pruebas genéticas moleculares, es importante recordar que los marcadores genéticos pueden ser constitucionales (es decir, presentes en todas las células de la persona afectada, como en el caso de la mutación en CFTR en un paciente con fibrosis quística) o somáticas (cuando están restringidas a tipos de tejidos específicos, como en las mutaciones en el RAS en varios cánceres humanos). De forma similar, en casos de sospecha de infección, los ácidos nucleicos específicos del agente infeccioso pueden estar confinados en determinadas células o localizaciones corporales. Tales consideraciones determinan la naturaleza de la muestra usada en la prueba (p. ej., células de sangre periférica, tejido tumoral, frotis nasofaringeo).

Métodos diagnósticos e indicaciones para la realización de las pruebas

El número de técnicas y de indicaciones para realizar pruebas diagnósticas de genética molecular en muestras de pacientes es abrumador. La elección de las más adecuadas resulta problemática, tanto para los patólogos que diseñan las pruebas como para los médicos que necesitan optar por la prueba óptima para sus pacientes.

Consideraciones analíticas

Los patólogos que desarrollan pruebas se centran en aspectos como la sensibilidad, especificidad, exactitud y reproducibilidad de los métodos, así como en factores prácticos, como coste, mano de obra, fiabilidad y tiempo de obtención de resultados. Para elegir la técnica diagnóstica más apropiada, se debe tener un conocimiento profundo del espectro de las anomalías genéticas responsables de una enfermedad en la población de pacientes en estudio. Las anomalías genéticas causantes de enfermedad pueden variar desde sustituciones de una sola base hasta pérdida o ganancia de cromosomas enteros, siendo a menudo muy variable la frecuencia según los grupos étnicos. El diseño idóneo de pruebas requiere considerar minuciosamente estos factores. Por ejemplo, las pruebas estándar de fibrosis quística para las mutaciones patógenas en CFTR tienen una sensibilidad del 94% en judíos asquenazies, pero identifican a menos del 50% de los afectados en poblaciones asiáticas. En casos de resultados negativos de las pruebas convencionales, pero con una alta sospecha clínica, son necesarias otras pruebas. No obstante, incluso con una secuenciación extensa de CFTR, aproximadamente en el 10% de los pacientes con fibrosis quística clásica no se identifican mutaciones patógenas. Ello se debe probablemente a que las pruebas de NGS pasan por alto determinadas lesiones genéticas (p. ej., delecciones de escala de kilobases y reordenamientos génicos), que se detectan mejor con otros métodos. Cuestiones como estas se plantean frecuentemente en las pruebas genéticas, por lo que se requiere una estrecha comunicación entre los médicos de atención primaria, los especialistas en genética y los responsables del diagnóstico, para poder seleccionar la estrategia más adecuada a los distintos casos.

Indicaciones para el análisis de alteraciones genéticas hereditarias

Aunque no es habitual que los trastornos genéticos hereditarios se presenten en la edad adulta, la mayoría de las pruebas se realizan en los períodos prenatal o posnatal/infantil. Los trastornos mendelianos causados por mutaciones en genes específicos son miles, y el diagnóstico definitivo de la mayor parte de ellos es posible por pruebas de secuenciación de ADN.

Otros trastornos hereditarios son consecuencia de aberraciones cromosómicas que suelen estar presentes prenatalmente o en el nacimiento. Las pruebas prenatales han de plantearse en todos los fetos con riesgo de anomalía citogenética. Posibles indicaciones son:

- Edad avanzada de la madre.
- Progenitor portador conocido de un reordenamiento cromosómico equilibrado que aumenta sensiblemente la frecuencia de la segregación cromosómica anómala durante la meiosis y el riesgo de aneuploidía en el óvulo fecundado.
- Anomalías fetales observadas en la ecografía.
- Pruebas sanguíneas de rutina maternas que indiquen riesgo aumentado de síndrome de Down (trisomía 21) u otra trisomía.

Las pruebas prenatales también se han de considerar en fetos con riesgo conocido de trastornos mendelianos (p. ej., fibrosis quística, atrofia muscular espinal) basado en antecedentes familiares. Actualmente se suele realizar en células obtenidas por amniocentesis, biopsia de vellosidades coriónicas o sangre de cordón umbilical. Sin embargo, hasta el 10% del ADN libre en la sangre de una madre gestante es de origen fetal y, en tal contexto, los avances tecnológicos en la secuenciación están dando paso a una nueva era de diagnóstico prenatal no invasivo en la que se empleará esta fuente de ADN.

Tras el nacimiento, las pruebas deben efectuarse en cuanto se plantee el posible diagnóstico de enfermedad genética constitucional. Es habitual realizarlas en ADN de sangre periférica y dirigirlas en virtud de las sospechas clínicas. En recién nacidos o niños, las indicaciones son las siguientes:

- Malformaciones congénitas múltiples.
- Sospecha de un síndrome metabólico.
- Discapacidad intelectual y/o retraso del desarrollo no explicados.
- Sospecha de aneuploidía (p. ej., rasgos de síndrome de Down) u otra anomalía cromosómica sindrómica (p. ej., delecciones, inversiones).
- Sospecha de enfermedad monogénica, previamente descrita en la familia o nueva.

Lógicamente, en pacientes de más edad, las pruebas se orientan hacia las enfermedades genéticas que se manifiestan en épocas tardías de la vida. También en este caso, las posibilidades son muchas, aunque entre las indicaciones más comunes cabe citar las siguientes:

- Síndromes de cáncer hereditario (en función de antecedentes familiares o de una presentación de cáncer inhabitual, como múltiples tipos de cáncer o una edad inusualmente joven en el momento del diagnóstico).
- Enfermedades monogénicas anormalmente leves (p. ej., fibrosis quística atenuada).
- Trastornos neurodegenerativos (enfermedad de Alzheimer familiar, enfermedad de Huntington).

Indicaciones del análisis de alteraciones genéticas adquiridas

En estos tiempos de tratamientos dirigidos de forma molecular, cada vez resulta más importante identificar las secuencias de ácidos nucleicos o las aberraciones que son específicas de trastornos adquiridos (p. ej., cáncer o enfermedad infecciosa).

El abordaje técnico es similar al empleado en los trastornos mendelianos en línea germinal, y las indicaciones más frecuentes son:

- *Diagnóstico y tratamiento del cáncer* (v. capítulo 7):
 - Detección de mutaciones específicas en el tumor y de alteraciones citogenéticas específicas de algunos tumores (p. ej., fusión de genes *BCR-ABL* en la leucemia mieloide crónica [LMC]).
 - Determinación de la clonalidad como indicador de origen neoplásico de una lesión.
 - Identificación de alteraciones genéticas específicas que pueden orientar las decisiones terapéuticas directas (p. ej., amplificación de *HER2* [nombre oficial del gen, *ERBB2*] en el cáncer de mama o mutación de *EGFR* [nombre oficial del gen, *ERBB1*] en el carcinoma pulmonar).
 - Determinación de la eficacia del tratamiento (p. ej., detección de enfermedad residual mínima en pacientes con LMC por PCR cuantitativa para *BCR-ABL*).
 - Detección de mutaciones secundarias resistentes a fármacos en neoplasias malignas tratadas con tratamientos dirigidos a proteínas específicas (p. ej., *EGFR* mutado).
- *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades infecciosas* (v. capítulo 8):
 - Detección de material genético específico de un microorganismo para el diagnóstico definitivo (p. ej., virus de la inmunodeficiencia humana [VIH], micobacterias, virus del papiloma humano, virus del herpes en el sistema nervioso central).
 - Identificación de alteraciones genéticas en el genoma de los microbios asociadas a resistencias farmacológicas.
 - Determinación de la eficacia del tratamiento (p. ej., medida de la carga vírica en la infección por el VIH, el virus de Epstein-Barr y el virus de la hepatitis C).

PCR y detección de alteraciones en la secuencia del ADN

El análisis mediante PCR, que implica síntesis de fragmentos de ADN relativamente cortos a partir de una plantilla de ADN, ha constituido la base del diagnóstico molecular en las últimas décadas. Utilizando polimerasas de ADN termoestables adecuadas y ciclado térmico, el ADN diana (habitualmente < 1.000 pb), situado entre dos sitios cebadores designados, se amplifica exponencialmente a partir de una secuencia tan reducida como pueda ser una copia original, simplificando de modo sustancial el análisis de la secuencia secundaria. Para dicho análisis posterior existen numerosas opciones, cada una de las cuales tiene diferentes ventajas e inconvenientes. Algunas de las opciones más comunes se describen a continuación:

- *Secuenciación de Sanger*. Un único producto de PCR se mezcla con una ADN polimerasa, un cebador de ADN, nucleótidos y cuatro nucleótidos terminales (terminadores didesoxi) (A, T, G y C), señalados con diferentes marcadores fluorescentes. La consiguiente reacción produce una serie de moléculas de ADN de todas las longitudes posibles, cada una con un marcador que corresponde a la base en la que la reacción se detiene, por incorporación de uno de los nucleótidos terminadores. Después de la separación de tamaños por electroforesis, la secuencia es «leída» y comparada con la secuencia normal, para detectar la presencia de mutaciones.
- *Secuenciación masiva (NGS)*. La PCR utilizando cebadores para numerosas regiones genómicas diferentes se realiza de forma simultánea, y la mezcla resultante de productos de PCR enriquecidos por regiones de interés es sometida a NGS (descripción con más detalle más adelante). La NGS es más sensible que la secuenciación de Sanger, ya que esta puede identificar de modo fiable la presencia de mutaciones

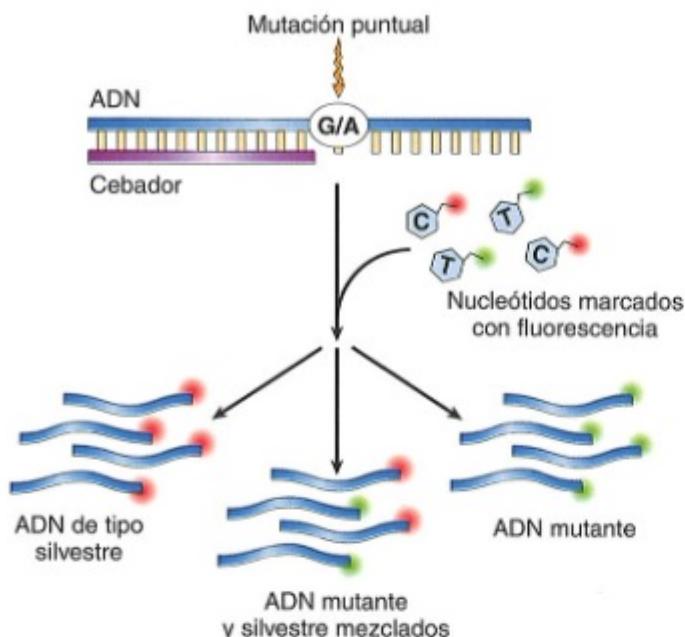


Figura 5.29 Análisis de extensión de una base de un producto de reacción en cadena de la polimerasa, utilizando un cebador para interrogar sobre la posición de una sola base. Los nucleótidos complementarios a las bases mutantes y de tipo silvestre en la posición estudiada están marcados con diferentes fluoróforos, de forma que la incorporación dé lugar a señales fluorescentes de intensidad variable en función de la relación entre ADN mutante y de tipo silvestre que esté presente.

solo en un pequeño porcentaje de las lecturas de secuencia individuales. Esta situación se registra con frecuencia en los cánceres, bien porque la mutación en cuestión solo está presente en una pequeña fracción de las células tumorales, bien porque dichas células están muy contaminadas por células estromales genéticamente normales.

- **Extensión del cebador de una base.** Esta técnica es útil para identificar mutaciones en una posición nucleotídica específica (p. ej., una mutación oncogénica en el codón 600 del gen *BRAF*). Un cebador de secuenciación interrogador se añade al producto de PCR, que hibrida en dirección 5' a una sola base de la diana, se incorporan nucleótidos fluorescentes terminadores de diferentes colores (correspondientes a las bases normales y variantes) y se efectúa una extensión de polimerasa de una única base. A continuación se detectan las cantidades relativas de fluorescencia normal y variante (fig. 5.29). Esta técnica es muy sensible, aunque con la evidente desventaja de producir 1 pb de datos secuenciados.
- **Análisis de longitud de fragmentos de restricción.** Esta sencilla técnica presenta la ventaja de la digestión de ADN con endonucleasas, conocidas como enzimas de restricción, que reconocen y cortan el ADN en secuencias específicas. Si se sabe que la mutación específica afecta a un sitio de restricción, el producto de la PCR amplificado puede ser digerido, y los productos de PCR normal y mutante generarán fragmentos de tamaños diferentes que se distinguen fácilmente. Es obvio que la técnica es de aplicación menos amplia que la secuenciación directa, pero es útil para el diagnóstico molecular cuando la mutación causal se registra en una posición nucleotídica invariable.
- **Análisis de longitud del amplicón.** Las mutaciones que afectan a la longitud del ADN (p. ej., delecciones o expansiones) pueden detectarse fácilmente mediante PCR. Como se ha indicado, varias enfermedades, como el SXF, se asocian a alteraciones en las repeticiones de trinucleótidos. En la

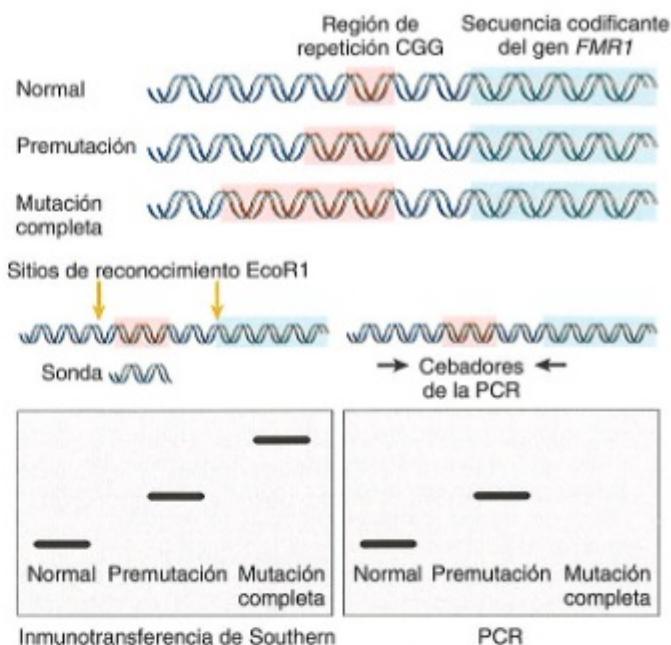


Figura 5.30 Aplicación diagnóstica de los análisis mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e inmunotransferencia de Southern para el diagnóstico del síndrome del cromosoma X frágil. Con la PCR, las diferencias en el tamaño de las repeticiones de CGG entre la normalidad y la premutación originan productos de distintos tamaños y movilidades. Cuando existe una mutación completa, la región entre los cebadores es demasiado amplia para amplificarla con una PCR convencional. En el análisis de inmunotransferencia de Southern, el ADN se corta mediante enzimas que flanquean la región de la repetición CGG y posteriormente se une a una sonda de ADN complementario, que se liga con la parte del gen afectada. En los hombres normales se reconoce una sola banda pequeña; en los hombres con una premutación se observa una banda de peso molecular más elevado, y en los que tienen la mutación completa se suele ver una banda muy grande (en general difusa).

figura 5.30 se muestra la forma de utilizar el análisis de PCR para detectar esta mutación. Dos cebadores que flanquean la región que contiene las repeticiones de trinucleótidos en el extremo 5' del gen *FMR1* se utilizan para amplificar las secuencias intercaladas. Dado que existen grandes diferencias en el número de repeticiones, el tamaño de los productos de PCR obtenidos del ADN de personas normales, o de los que presentan premutación, es bastante distinto y puede distinguirse fácilmente por electroforesis en gel. Un importante inconveniente es que, si la expansión de trinucleótidos es tan grande que no puede amplificarse mediante PCR convencional, deberá realizarse un análisis de inmunotransferencia de Southern del ADN genómico. Como se indicó anteriormente, las expansiones grandes no son infrecuentes en el SXF.

- **PCR en tiempo real.** Varias técnicas basadas en la PCR que emplean indicadores fluoróforos permiten detectar y cuantificar la presencia de determinadas secuencias de ácidos nucleicos en «tiempo real» (es decir, durante la fase exponencial de la amplificación del ADN y no después de dicha amplificación). Se emplea, sobre todo, para valorar la frecuencia de células cancerosas portadoras de lesiones genéticas características en sangre o tejidos (p. ej., nivel de secuencias génicas de fusión de *BCR-ABL* en pacientes con LMC), o la carga infecciosa de ciertos virus (p. ej., VIH, virus de Epstein-Barr).

Análisis molecular de las alteraciones genómicas

Un significativo número de lesiones genéticas se asocian a grandes delecciones, duplicaciones o reordenamientos más com-

plejos que no son fáciles de detectar mediante PCR o técnicas de secuenciación del ADN. Tales alteraciones genómicas son susceptibles de estudio mediante diversas técnicas de hibridación.

Hibridación in situ fluorescente (FISH)

La FISH emplea sondas de ADN que reconocen secuencias específicas frente a regiones particulares del cromosoma. Para realizar la FISH, grandes fragmentos de ADN genómico clonado, de hasta 200 kb, se marcan con colorantes fluorescentes y se aplican a preparaciones cromosómicas en metafase o a núcleos en interfase, pretratados para «mezclar» el ADN genómico. La sonda se hibrida con su secuencia genómica homóloga y, de este modo, marca una región cromosómica específica, que se visualiza con un microscopio de fluorescencia. La FISH se realiza sobre muestras prenatales, en células de sangre periférica, en citologías por impronta de biopsias de cáncer e incluso en tejidos de archivo. Se ha empleado, asimismo, para detectar alteraciones numéricas en los cromosomas (aneuploidía) (v. fig. 5.19), y también para demostrar microdelecciones sutiles (v. fig. 5.21) y translocaciones complejas no detectadas en un cariotipado convencional; también se aplica para el análisis de amplificación génica (p. ej., HER2 en cáncer de mama o amplificación de NMYC en neuroblastomas). También se usan en determinadas circunstancias, cuando el diagnóstico rápido es esencial (p. ej., cuando se decide tratar a un paciente con sospecha de leucemia promielocítica aguda con ácido retinoico, que solo es eficaz cuando una determinada translocación cromosómica que afecta al gen del receptor del ácido retinoico está presente en las células tumorales; v. capítulo 13).

Tecnología de matrices citogenómicas

La FISH requiere un conocimiento previo de la región o (pocas) regiones cromosómicas de las que se sospecha que están alteradas en la muestra de prueba. Sin embargo, las anomalías genéticas también pueden detectarse sin conocerlas previamente, utilizando la tecnología de micromatrizes para proceder a un examen genómico global. Las plataformas de primera generación fueron diseñadas para la hibridación genómica comparada (CGH), en tanto que las más recientes incorporan abordajes de genotipado de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), que ofrecen numerosas ventajas.

- **Hibridación genómica comparada basada en matrices.** En la CGH de matrices, el ADN de prueba y un ADN de referencia (normal) se marcan con dos colorantes fluorescentes distintos. A continuación, se mezclan e hibridan las muestras en un portaobjetos que contiene las sondas de ADN que cubren todo el genoma humano a intervalos regulares. En cada localización de sondas cromosómicas se compara el grado de unión del ADN marcado en ambas muestras. Si las contribuciones de las dos muestras son iguales (es decir, si la muestra de estudio es diploide), todos los puntos de la matriz mostrarán fluorescencia amarilla, debido a una mezcla igual de colorante verde y rojo. Por el contrario, cuando la muestra en estudio presenta una delección o duplicación, las correspondientes manchas en las sondas muestran tendencia a colorearse de rojo o verde (dependiendo de la ganancia o pérdida de material), lo que permite determinaciones muy precisas de las ganancias o pérdidas del número de copias, incluso focales, en cualquier parte del genoma.
- **Matrices de genotipado de polimorfismos de un solo nucleótido.** Algunos de los nuevos tipos de matrices genómicas se basan en un concepto similar, si bien algunas o todas las sondas están diseñadas para identificar sitios de SNP en todo el genoma, lo que supone varias ventajas. Como se indicó en el capítulo 1, los SNP son el tipo de polimorfismo más frecuente en el ADN, ya que se registran (en promedio

aproximadamente cada 1.000 nucleótidos en el genoma. Sirven como punto de referencia físico dentro del genoma y como marcador genético cuya transmisión de padres a hijos se puede seguir.

Hay varias plataformas de pruebas que emplean diferentes metodologías y que permiten analizar los SNP a lo largo del genoma sobre matrices. Los detalles referidos a estos métodos transcienden el ámbito de cobertura del presente análisis. Como las sondas de CGH, estos métodos relacionados con los SNP se usan para optar por la variación del número de copias (CNV), aunque, al discriminar entre los alelos de SNP en cada localización particular, también aportan datos sobre cigosidad (fig. 5.31). La actual generación de matrices de SNP es ciertamente extensa; la mayor de ellas contiene más de 4 millones de sondas de SNP.

En el laboratorio clínico, las matrices de SNP se suelen utilizar para detectar anomalías en el número de copias en pacientes pediátricos cuando el cariotipo es normal, pero se sospecha alguna anomalía cromosómica estructural. Entre las indicaciones habituales se cuentan las malformaciones congénitas, los rasgos dismórficos, el retraso del desarrollo y el autismo. Es destacable que, a diferencia de lo que sucede en la CGH de matrices, las matrices de SNP pueden identificar la pérdida de heterocigosidad. Esta capacidad es importante en el diagnóstico de anomalías causadas por disomía uniparental (p. ej., en los síndromes de Prader-Willi y Angelman), en las que, a pesar del número de copias diploides, todos los SNP en las regiones cromosómicas afectadas muestran reducción a homocigosidad. Los datos de SNP ayudan, asimismo, a detectar otras anomalías, como el mosaicismo, que produce distribuciones de cigosidad complejas, pero diferenciadas.

Marcadores de polimorfismos y diagnóstico molecular

La detección clínica de mutaciones específicas de enfermedad solo es posible si el gen responsable del trastorno es conocido y se ha identificado su secuencia. Cuando la naturaleza exacta de la aberración genética no se conoce, o la prueba para hallar el defecto primario es problemática o inviable, las pruebas diagnósticas aprovechan el fenómeno del *ligamiento*. En humanos, dos loci de ADN separados por 100.000 pb en el mismo cromosoma están casi seguramente cosegregados durante la meiosis, dada la mínima posibilidad de que haya entrecruzamiento entre ellos. Por consiguiente, cuanto más cerca estén los dos loci, mayor es la probabilidad de que evolucionen juntos en el árbol genealógico. Cuando hay un alelo patógeno problemático o desconocido, las pruebas diagnósticas pueden centrarse simplemente en examinar los loci marcadores próximos en el árbol, como opción secundaria.

Los dos tipos de polimorfismos genéticos más útiles en el análisis de ligamiento son los SNP (ya descritos) y los polimorfismos de longitud repetida, conocidos como repeticiones de minisatélite y microsatélite. El ADN humano contiene secuencias repetitivas cortas de ADN que generan los llamados polimorfismos de longitud repetida. Estos polimorfismos se suelen subdividir en función de su longitud en repeticiones microsatélites y minisatélites. Los microsatélites suelen medir menos de 1 kb y se caracterizan por un tamaño del segmento repetido de 2-6 pb. Las repeticiones de tipo minisatélites son en comparación más grandes (1-3 kb) y el motivo repetido suele ser de 15-70 pb. El número de repeticiones es muy variable tanto en los microsatélites como en los minisatélites dentro de una población determinada, y por esto estas tiras de ADN se pueden

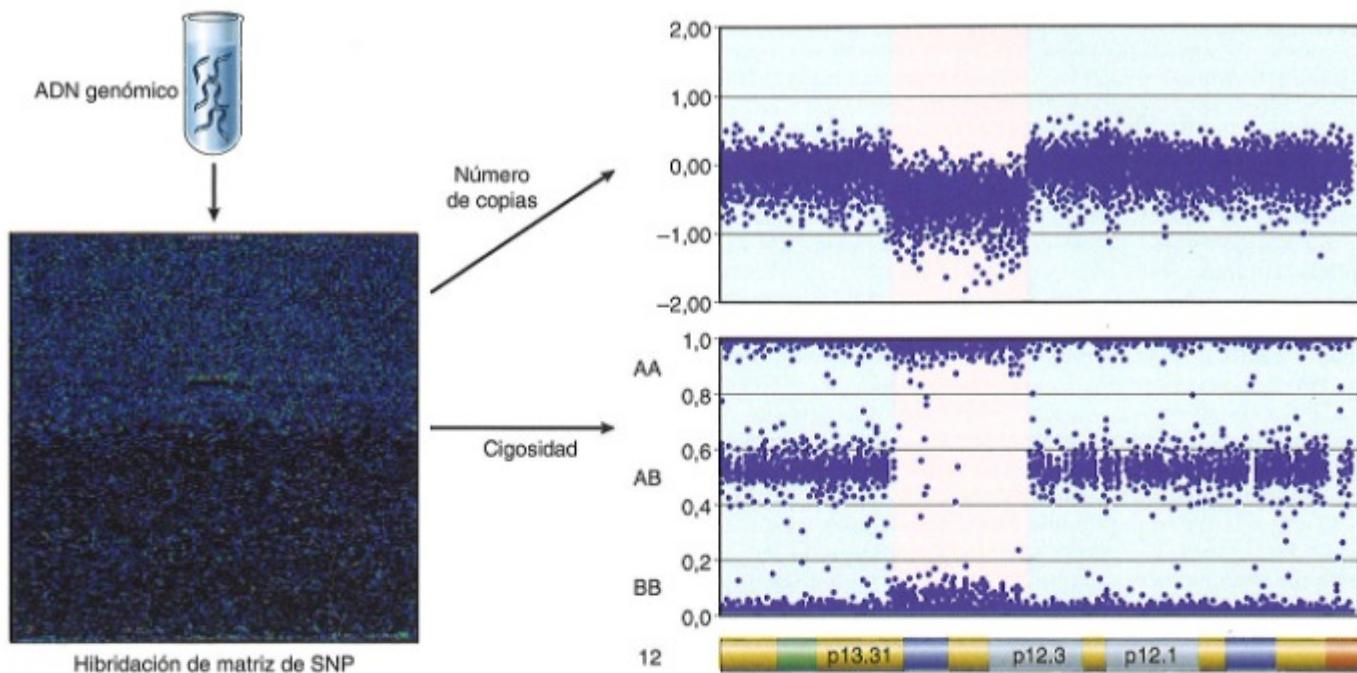


Figura 5.31 Análisis de la variación del número de copias mediante matriz citogenómica de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP). El ADN genómico es marcado e hibridado en una matriz que puede contener miles de manchas de sondas. El número de copias es determinado por la intensidad global, y el genotipo es definido por la relación alélica. El ejemplo mostrado corresponde al brazo p del cromosoma 12 en un paciente con leucemia pediátrica. Las áreas normales (verdes) muestran contenido de ADN neutro (diploide), y el gráfico de cigosidad muestra el cociente esperado de genotipos de SNP AA, AB y BB. El área anómala (roja) muestra intensidad global disminuida, y en el gráfico de cigosidad se aprecia ausencia de genotipo AB mixto, lo que indica una delección heterocigótica completa. (Modificado de Paulsson K, et al: Genetic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia, Proc Natl Acad Sci U S A 107:21719–21724, 2010.)

emplear para el análisis de ligamiento genético. Los microsatélites y los minisatélites se distinguen con facilidad en función de su tamaño, que puede medirse mediante amplificación de PCR empleando cebadores que flanqueen la región repetida. La figura 5.32 ilustra la aplicación del análisis de ligamiento de repeticiones minisatélite al gen PKD (históricamente muy difícil de secuenciar) para el diagnóstico familiar de poliquistosis renal del adulto. Se observa que el alelo microsatélite más largo se vincula en la familia al alelo de la enfermedad y puede emplearse para seguir la transmisión.

Las pruebas para detección de polimorfismos genéticos también resultan importantes en muchos otros ámbitos de la medicina, incluida la determinación de la familiaridad y la identidad en el trasplante, la genética del cáncer, las pruebas de paternidad y los estudios forenses. Dado que los marcadores

microsatélites aparecen dispersos por todo el genoma humano y muestran un alto grado de polimorfismo, resultan ideales para distinguir entre dos individuos y para seguir la transmisión de un marcador de un progenitor a un hijo. Las pruebas que utilizan amplificación de PCR de marcadores de microsatélites informativos se utilizan en la actualidad de manera sistemática para determinaciones de paternidad y en investigaciones criminales. La PCR puede efectuarse incluso con muestras altamente degradadas, lo que hace que las pruebas de ADN desempeñen un importante papel en las identificaciones forenses. Las mismas pruebas se utilizan en pacientes sometidos a trasplantes de células madre hematopoyéticas, con objeto de detectar e identificar el quimerismo que se evalúa por valoración de las cantidades relativas de marcadores de microsatélites específicos del donante y del receptor en las células sanguíneas del paciente.

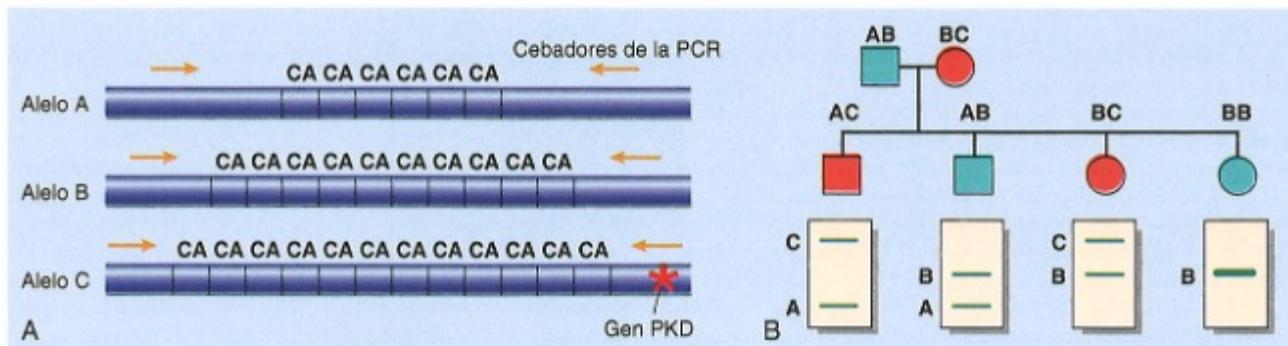


Figura 5.32 Polimorfismos del ADN secundarios a un número variable de repeticiones CA. Los tres alelos producen (A) productos de distintos tamaños en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), (B) lo que permite identificar los orígenes a partir de cromosomas específicos. En el ejemplo que se muestra, el alelo C está relacionado con una mutación responsable de la poliquistosis renal autosómica dominante (PKD). Se muestra la teórica aplicación de esta para detectar qué descendientes son portadores del gen relacionado con la enfermedad (simbolos rojos) en un árbol genealógico simulado. Hombres: cuadrados; mujeres: círculos.

Alteraciones epigenéticas

La epigenética se define como el estudio de las modificaciones hereditarias del ADN o de la cromatina, que no modifican la secuencia del ADN que codifica la proteína en sí misma. Ejemplos de este tipo de modificaciones son la metilación del ADN y la metilación y acetilación de las histonas (v. capítulo 1). Nuestros conocimientos acerca de la importancia de estos tipos de alteraciones moleculares están aumentando con rapidez, y resulta evidente que las modificaciones epigenéticas son fundamentales para el desarrollo humano normal, incluidas la regulación de la expresión de genes específicos de tejidos, la inactivación del cromosoma X y la impronta, y también para comprender las alteraciones celulares implicadas en el envejecimiento y el cáncer.

La expresión génica a menudo se correlaciona negativamente con el nivel de metilación del ADN, sobre todo de los residuos de citosinas situadas en las regiones promotoras ricas en dinucleótidos CG, conocidas como islotes CpG. Como se comentó anteriormente en la sección sobre la impronta genómica, el aumento de la metilación de los islotes CpG se asocia a disminución de la expresión génica y va acompañado de alteraciones concomitantes de la metilación y la acetilación de las histonas. El diagnóstico de un creciente número de enfermedades requiere análisis de la metilación de promotores; por ejemplo, en el SXF, en el que la hipermetilación determina el silenciamiento de *FMR1*. El análisis de metilación resulta esencial también en el diagnóstico de los síndromes de Prader-Willi y Angelman.

Son necesarias técnicas especiales para detectar la metilación del ADN. Un abordaje es tratar el ADN genómico con bisulfito sódico, sustancia química que convierte la citosina no metilada en uracilo, que actúa como la tiamina en las reacciones en dirección 3. Las citocinas metiladas quedan protegidas frente a la modificación y permanecen inalteradas. Después del tratamiento, en el análisis de las secuencias es conveniente diferenciar el ADN no metilado (modificado) del ADN metilado (no modificado) mediante secuenciación del ADN.

Análisis del ARN

Dado que el ADN ejerce sus efectos celulares a través de la expresión de ARN, y que el ARNm contiene las secuencias que codifican todos los genes expresados, en una amplia variedad de aplicaciones diagnósticas el ARN, en principio, puede reemplazar al ADN. Desde una perspectiva práctica normalmente se prefiere el diagnóstico basado en el ADN, ya que este es mucho más estable. A pesar de todo, el análisis del ARN resulta esencial en varios campos del diagnóstico molecular. Las aplicaciones más importantes son la detección y cuantificación de virus ARN, como VIH y virus de la hepatitis C, pero cada vez más el análisis de ARN también se utiliza para evaluar el cáncer. El perfil de expresión del ARNm (descrito para el cáncer de mama en el capítulo 23) se está convirtiendo en una herramienta importante para la estratificación molecular de ciertos tumores. En algunos casos, las células tumorales que son portadoras de translocaciones cromosómicas concretas se detectan con una mayor sensibilidad mediante el análisis del ARNm (p. ej., el transcripto de fusión de *BCR-ABL* en la LMC). El motivo fundamental es que la mayoría de las translocaciones se producen en localizaciones dispersas dentro de intrones particulares, que pueden alcanzar gran tamaño, lo que complica la detección mediante amplificación del ADN por PCR. Dado que los intrones se eliminan durante la separación para la formación del ARNm, el análisis mediante PCR sería posible si primero se convirtiera en ADN complementario (ADNc) mediante una transcriptasa inversa. La PCR en tiempo real sobre ADNc es el

método de elección para detectar enfermedad mínima residual en pacientes con LMC y algunas otras neoplasias hematológicas malignas (v. capítulo 13).

Secuenciación de próxima generación (NGS)

Secuenciación de próxima generación es un término que designa diversas nuevas tecnologías de secuenciación de ADN que generan un gran volumen de datos de secuencias de forma masivamente paralela. Estas tecnologías han revolucionado la investigación biomédica y cada vez tienen mayor repercusión en el diagnóstico molecular. Los factores que han impulsado la rápida adopción de la NGS son su precio y su rendimiento, ya que permite efectuar análisis antes imposibles a un coste relativo muy bajo.

Un rasgo que hace que la NGS sea mucho más aplicable en clínica que la secuenciación de Sanger lo constituyen sus requerimientos de obtención de muestras. Mientras que la secuenciación de Sanger precisa un ADN plantilla único y homogéneo (habitualmente un producto de PCR específico), la NGS no tiene esta exigencia y permite utilizar ADN de casi cualquier procedencia. Dado que la secuenciación de Sanger básicamente aporta un resultado «promedio» para una determinada región del ADN, las muestras con una sustancial heterogeneidad de secuencia de moléculas de ADN de entrada producen resultados no interpretables. En cambio, la NGS se ajusta a las muestras heterogéneas de ADN gracias a la aplicación de tres principios básicos comunes (fig. 5.33).

- **Separación espacial.** Al inicio del procedimiento, las moléculas de ADN de entrada están físicamente aisladas entre sí en el espacio. Las especificaciones de este proceso dependen de la plataforma.
- **Amplificación local.** Tras la separación, las moléculas de ADN individuales son amplificadas *in situ* utilizando un número limitado de ciclos de PCR. La amplificación es necesaria a fin de que se genere una señal suficiente para garantizar la detección y la precisión.
- **Secuenciación en paralelo.** Las moléculas de ADN amplificadas son secuenciadas simultáneamente por adición de polimerasas y otros reactivos, con cada molécula original separada y amplificada que ofrece una «lectura» correspondiente a su secuencia. Las lecturas de secuencia a cargo de los instrumentos de NGS son generalmente cortas, menos de 500 pb.

Bioinformática

Cada análisis de NGS genera una sorprendente cantidad de secuencias de datos. Para los instrumentos de secuenciación de alto rendimiento, se alcanzan los 400.000 millones de pares de bases al día, lo que permite secuenciar con alto nivel de calidad un genoma humano completo. El análisis necesario para comprender este ingente volumen de datos es tan complejo que a menudo se requiere formación especializada en bioinformática para asegurar su interpretación adecuada. Las líneas de bioinformática computacional varían de manera radical en función de las aplicaciones particulares y de los tipos de muestras, y un análisis de estas va más allá del alcance de este texto. No obstante, si es conveniente describir los pasos básicos necesarios para procesar este tipo de datos.

- **Alineación.** La alineación es el proceso por medio del cual las lecturas de secuenciación de una muestra son ubicadas en un genoma de referencia, lo que les permite ser observadas e interpretadas en el contexto adecuado.
- **Detección de variantes.** Este proceso implica una comparación sistemática de todos los datos de la secuencia con una muestra de la secuencia de referencia. Cuantas más lecturas cubran una determinada posición (profundidad de secuen-

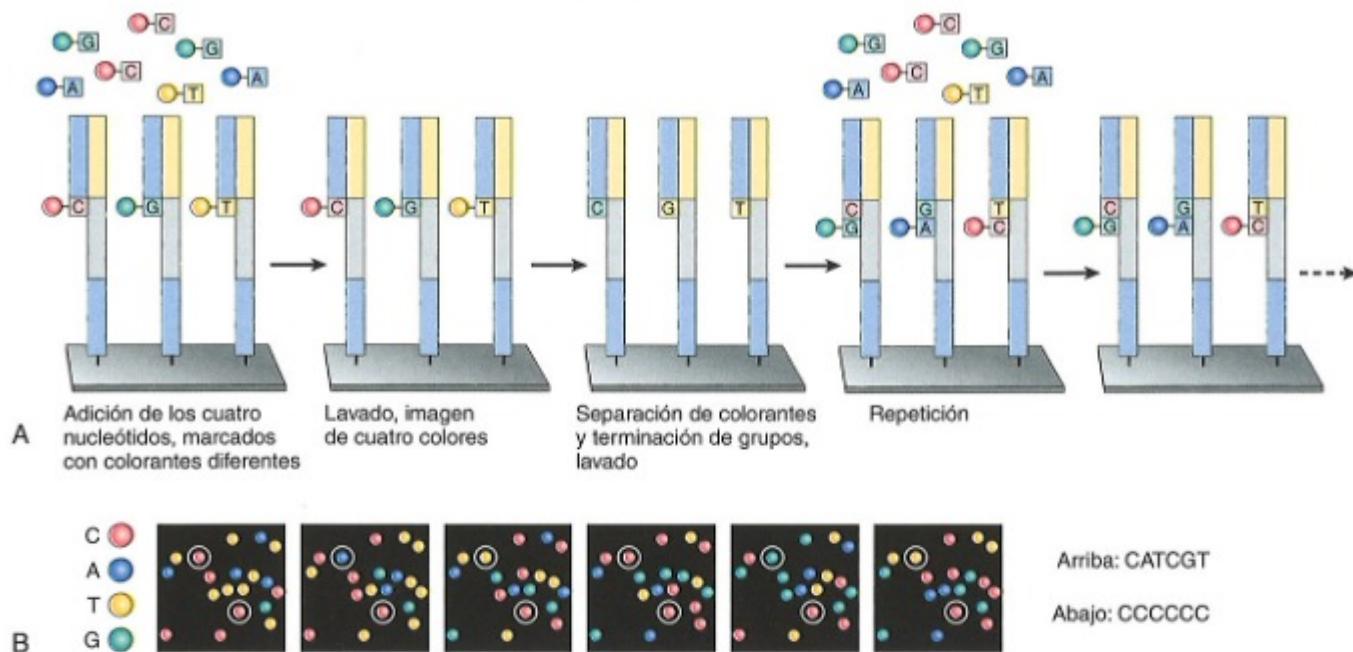


Figura 5.33 Principio de secuenciación de próxima generación. Actualmente se dispone de varios abordajes alternativos para la secuenciación de siguiente generación, de la que se ilustra una de las plataformas más usadas. A. Fragmentos cortos de ADN genómico (plantilla) de entre 100 y 500 pb de longitud son inmovilizados sobre una plataforma en fase sólida, como un portaobjetos de vidrio, mediante cebadores de captura universales, complementarios de los adaptadores, previamente añadidos a los extremos de los fragmentos de la plantilla. La adición de nucleótidos complementarios marcados con fluorescencia, uno por ADN plantilla por ciclo, se produce de forma «masivamente paralela», con millones de plantillas inmovilizadas en la fase sólida al mismo tiempo. Una cámara de imágenes en cuatro colores captura la fluorescencia que emana de cada localización (correspondiente al nucleótido específico incorporado), tras lo cual el colorante fluorescente es separado y lavado, volviéndose a repetir todo el ciclo. B. Potentes programas informáticos pueden descifrar las imágenes para generar secuencias complementarias al ADN plantilla al final de cada tanda, y estas secuencias vuelven a situarse en la secuencia genómica de referencia, a fin de identificar las alteraciones. (Reproducido con autorización a partir de Metzker M: Sequencing technologies—the next generation, *Nat Rev Genet* 11:31–46, 2010. © Nature Publishing Group.)

ciación), más probable será que una variante sea detectada si está presente. Cuando un *locus* muestra suficientes indicios de diferenciación con respecto a la secuencia de referencia, puede establecerse una detección de variante.

- **Anotación e interpretación de variantes.** Las variantes detectadas pueden ser anotadas a partir de distintas fuentes de información (p. ej., nombres de genes, cambios de codificación y predicciones sobre efectos de las proteínas, información de bases de datos sobre variantes tanto benignas como patógenas, información clínica). Una vez completados por el laboratorio clínico, los datos anotados están listos para ser comunicados. Dado que el ritmo del avance en genética y en genómica es muy superior al del conocimiento de un profesional clínico estándar, una parte importante de esta comunicación es una breve descripción del significado biológico y clínico de cada una de las variantes patógenas, que pueden ser numerosas en el caso de ciertos cánceres.
- **Detección de firmas mutacionales.** Se han desarrollado algoritmos informáticos que, además de recoger todas las mutaciones individuales, detectan patrones de mutaciones que apuntan a determinadas exposiciones ambientales (p. ej., a la luz ultravioleta) o a defectos subyacentes en la reparación del ADN. Estos últimos han adquirido relevancia clínica a raíz del descubrimiento de que ciertos cánceres con defectos adquiridos en los genes de reparación de errores de emparejamiento, que dan lugar a inestabilidad de microsatélites (IMS), presentan alta reactividad a los inhibidores de los puntos de control inmunitario (v. capítulo 7). Basándose en esta observación, numerosos laboratorios clínicos están

ahora «detectando» el estado de IMS de cánceres en función de los resultados de la NGS.

Aplicaciones clínicas de la secuenciación de próxima generación de ADN

Como se ha indicado, cualquier muestra de ADN puede ser analizada por NGS. No obstante, el ADN ha de acomodarse primero para la secuenciación preparando una *biblioteca (genética)* de secuencias de ADN cortas enriquecidas para las regiones genómicas de interés (p. ej., determinados exones). Existen varios métodos de preparación de bibliotecas a partir del ADN genómico, elegidos según el objetivo y los resultados deseados. En los laboratorios clínicos, la mayoría de las aplicaciones de la NGS se dirigen al diagnóstico de enfermedades genéticas y del cáncer, utilizando algunos abordajes básicos diferenciados:

- **Secuenciación dirigida.** La mayoría de las actuales pruebas de NGS desarrolladas en laboratorios clínicos se encuadran en esta categoría. La secuenciación dirigida se aplica a un grupo de genes cuidadosamente seleccionado, lo que optimiza la profundidad de la secuenciación, minimizando los costes, y el tiempo y el gasto requeridos para la interpretación y la elaboración de informes clínicos. La preparación de muestras para la secuenciación dirigida puede efectuarse por la potenciación de las regiones de interés, por un método llamado captura de híbridos mediante sondas complementarias individualizadas o por PCR múltiple. Los ensayos de un solo gen para trastornos hereditarios también se están haciendo más frecuentes, y muchos de los laboratorios que antes realizaban costosos análisis génicos globales median-

te secuenciación de Sanger de productos de PCR múltiple (p. ej., para obtener la secuenciación completa de *CFTR*) están empezando a emplear las plataformas de NGS. El análisis de grandes grupos de genes es también una opción frecuente en la evaluación de personas con enfermedades genéticas, como miocardiopatías o sordera congénita. En las pruebas para el cáncer, se emplean mucho los paneles de genes para obtener perfiles tumorales detallados. Cada tumor presenta un conjunto específico de mutaciones somáticas, y las pruebas se orientan a detectar el mayor número posible de mutaciones tratables o pronósticas con objeto de ofrecer abordajes terapéuticos individualizados. Con una frecuencia cada vez mayor, es preciso repetir los análisis sobre la recidiva de la enfermedad para comprender los mecanismos de resistencia farmacológica, que pueden servir para orientar la selección de tratamientos de segunda línea.

- **Secuenciación de exoma completo (WES).** La WES es el tipo de secuenciación dirigida más costosa, en la que se utilizan cientos de miles de sondas personalizadas para extraer alrededor del 1,5%, del genoma integrado por exones codificadores de proteínas antes de la NGS. No se emplea de manera sistemática en la evaluación de casos sospechosos de trastornos de la línea germinal, pero se han obtenido algunos éxitos importantes, que ofrecen a los médicos un medio para dar respuesta, e incluso tratamiento, a niños con enfermedades raras, que han pasado por prolongadas y frustrantes odiseas en lo que respecta a su diagnóstico. La WES se emplea, asimismo, en oncología, en una amplia diversidad de análisis, sobre todo en investigación.
- **Secuenciación de genoma completo (WGS).** La WGS es el tipo de análisis de ADN más exhaustivo que puede realizarse a una persona. Las indicaciones actuales para su aplicación en genética médica se limitan, en buena medida, a los casos en los que la secuenciación del exoma no da una respuesta concreta, aunque se mantiene un elevado grado de sospecha de enfermedad genética. En cuanto a las aplicaciones en el cáncer, la WGS es la única forma de NGS que detecta nuevos ordenamientos estructurales (p. ej., inserciones, delecciones, translocaciones) de posible relevancia clínica, aunque los costes relativamente altos, los tiempos de respuesta lentos y los significativos retos en el ámbito de la informática aún impiden su uso sistemático en la práctica clínica.

Futuras aplicaciones

Dado que la NGS se utiliza para detectar anomalías genéticas de cualquier escala de tamaño, desde los SNP hasta los reordenamientos de grandes dimensiones, e incluso la aneuploidía, casi todas las modalidades de pruebas genéticas actuales pueden, en principio, ser reemplazadas por la NGS. Esto es válido también para los análisis de ARN, ya que el análisis del transcriptoma (ARN-sec) basado en NGS resulta eficaz. A medida que los costes vayan reduciéndose, parece razonable prever que la NGS ocupará un lugar cada vez más destacado en el laboratorio diagnóstico. Además, la NGS resulta muy prometedora en las aplicaciones clínicas en muchas otras áreas, como el análisis del microbioma, el cribado sanguíneo de marcadores iniciales de enfermedades (p. ej., el cáncer) y toda una extensa serie de métodos destinados a calibrar la respuesta de los cánceres al tratamiento (utilizando ADN «libre» liberado por células tumorales obtenidas de la sangre). Los continuos avances tecnológicos extenderán ciertamente su campo de aplicación. Por ejemplo, se están desarrollando tecnologías de tercera generación (o de «molécula única», o «next next generation»), que pueden secuenciar con rapidez moléculas específicas en paralelo, sin necesidad de amplificación focal, lo que pronto tendrá, sin duda, repercusiones en el ámbito clínico.

AGRADECIMIENTO

Deseamos expresar nuestra gratitud a Jeremy Segal, MD, PhD, director de la Division of Genomic and Molecular Pathology, University of Chicago, por la revisión de la sección dedicada al diagnóstico molecular.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Bases moleculares de los trastornos monogénicos: generalidades**
Dietz HC: New therapeutic approaches to mendelian disorders, *N Engl J Med* 363:852, 2010. [Excelente comentario sobre el tratamiento de los trastornos genéticos en función de su patogenia molecular.]
- Trastornos asociados a defectos en las proteínas estructurales**
Cortini F, Villa C, Marinelli B, et al: Understanding the basis of Ehlers-Danlos syndrome in the era of the next-generation sequencing, *Arch Dermatol Res* 311:265, 2019. [Esta revisión describe la posible utilidad de la secuenciación masiva para la comprensión de la base molecular de los síndromes de Ehlers-Danlos.]
- Pyeritz RE: Etiology and pathogenesis of the Marfan syndrome: current understanding, *Ann Cardiothorac Surg* 6(6):595, 2017. [Excelente revisión sobre el síndrome de Marfan a cargo de un pionero en este campo.]
- Salik I, Rawla P: Marfan syndrome. [Updated 2019 Feb 28]. In StatPearls [internet], Treasure Island, FL, 2019, StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537339/?report=classic>. [Artículo actualizado y bien documentado sobre las características clínicas y moleculares del síndrome de Marfan.]
- Tinkle B, Castori M, Berglund B, et al: Hypermobility Ehlers-Danlos syndrome (a.k.a. Ehlers-Danlos syndrome Type III and Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type): clinical description and natural history, *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 175C:48, 2017. [Revisión de orientación clínica de las formas más frecuentes del síndrome de Ehlers-Danlos.]
- Trastornos asociados a defectos en las proteínas receptoras**
Benito-Vicente A, Uribe KB, Jebari S, et al: Familial hypercholesterolemia: the most frequent cholesterol metabolism disorder caused disease, *Int J Mol Sci* 19(11):3426, 2018. [Excelente reseña sobre el metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad en la hipercolesterolemia familiar.]
- Berberich AJ, Hegele RA: The complex molecular genetics of familial hypercholesterolemia, *Nat Rev Cardiol* 16:9, 2019. [Análisis de las diversas causas genéticas menos conocidas de la hipercolesterolemia familiar.]
- Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, et al: Familial hypercholesterolemia, *Nat Rev Dis Primers* 3(17093):1, 2017. [Revisión acertada y de fácil seguimiento de la hipercolesterolemia familiar.]
- Sabatine MS: PCSK9 inhibitors: clinical evidence and implementation, *Nat Rev Cardiol* 16:155, 2019. [Reseña del descubrimiento de la regulación de los receptores de lipoproteínas de baja densidad por la PCSK9 y de su aplicación clínica.]
- Trastornos por depósito lisosómico**
Aflaki E, Westbroek W, Sidransky E: The complicated relationship between Gaucher disease and Parkinsonism: insights from a rare disease, *Neuron* 93:737, 2017. [Análisis de los trastornos por depósito lisosómico y las enfermedades neurodegenerativas.]
- Breiden B, Sandhoff K: Ganglioside metabolism and its inherited diseases, *Methods Mol Biol* 1804:97, 2018. [Revisión del metabolismo de los gangliósidos y la patogenia de la enfermedad de Tay-Sachs.]
- Ferreira CR, Gahl WA: Lysosomal storage diseases, *Transl Sci Rare Dis* 2(1), 2017. [Exhaustiva descripción de todos los trastornos por depósito lisosómico.]
- Filocamo M, Tomanin R, Bertola F, et al: Biochemical and molecular analysis in mucopolysaccharidoses: what a paediatrician must know, *Ital J Pediatr* 44(2):129, 2018. [Detallado análisis de las mucopolisacaridosis en la población pediátrica.]
- Kohler L, Puertollano R, Raben N: Pompe disease: from basic science to therapy, *Neurother* 15:928, 2018. [Artículo que analiza detalles sobre la enfermedad de Pompe.]

- Ohashi T: Gene therapy for lysosomal storage diseases and peroxisomal diseases, *J Hum Genet* 64:139, 2019. [Enfoques actuales del tratamiento de los trastornos por depósito lisosómico.]
- Plotegher N, Duchen MR: Mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in lysosomal storage disorders, *Trends Mol Med* 23(2):116, 2017. [Esta revisión explica el papel de la lesión y la disfunción mitocondrial en la patogenia de los trastornos por depósito lisosómico.]
- Schuchman EH, Desnick RJ: Types A and B Niemann-Pick disease, *Mol Genet Metab* 120(1-2):27, 2017. [Artículo que analiza detalles relativos a los tipos A y B de la enfermedad de Niemann-Pick.]
- Seranova E, Connolly KJ, Zatyka M, et al: Dysregulation of autophagy as a common mechanism in lysosomal storage diseases, *Essays Biochem* 61:733, 2017. [Análisis de la fundamental función de la desregulación de la autofagia en el desarrollo de los trastornos por depósito lisosómico.]
- Stirmemann J, Belmatoug N, Camou F, et al: A review of Gaucher disease pathophysiology, clinical presentation and treatments, *Int J Mol Sci* 18(441):1, 2017. [Artículo que analiza detalles sobre la enfermedad de Gaucher.]
- Weinstein DA, Steuerwald U, De Souza CFM, et al: Inborn errors of metabolism with hypoglycemia: glycogen storage diseases and inherited disorders of gluconeogenesis, *Pediatr Clin North Am* 65(2):247, 2018. [Artículo que analiza detalles de la enfermedad por depósito de glucógeno y los trastornos hereditarios de la gluconeogénesis.]
- Trastornos citogenéticos que afectan a los autosomas**
- Antonarakis SE: Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance, *Nat Rev Genet* 18:147, 2017. [Análisis de las causas del síndrome de Down debido a desequilibrio de la expresión génica.]
- Iwarsson E, Jacobsson B, Dagerhamn J, et al: Analysis of cell-free fetal DNA in maternal blood for detection of trisomy 21, 18 and 13 in a general pregnant population and in a high risk population—a systematic review and meta-analysis, *Acta Obstet Gynecol Scand* 96:7, 2017. [Evaluación de la utilidad de las pruebas prenatales no invasivas de detección de trisomías.]
- Morsheimer M, Whitehorn TFB, Heimall J, et al: The immune deficiency of chromosome 22q11.2 deletion syndrome, *Am J Med Genet* 173A:2366, 2017. [Análisis de la evidencia emergente de que la inmunodeficiencia en este síndrome es mayor de lo que se creía.]
- Zamponi Z, Helguera PR: The shape of mitochondrial dysfunction in Down syndrome, *Dev Neurobiol Epub*, 2019. [Análisis de la evidencia emergente relativa al papel de la disfunción mitocondrial en el síndrome de Down.]
- Trastornos citogenéticos que afectan a los cromosomas sexuales**
- Kanakis GA, Nieschlag E: Klinefelter syndrome: more than hypogonadism, *Metab Clin Exp* 86:135, 2018. [Revisión exhaustiva y actualizada de la patogenia del síndrome de Klinefelter.]
- Levitsky LL, O'Donnell Luria AH, Hayes FJ, et al: Turner syndrome: update on biology and management across the life span, *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 22(1):65, 2015. [Sencilla revisión, algo desactualizada, pero excelente, de las características clínicas y la patogenia del síndrome de Turner.]
- Skuse D, Printzlau F, Wolstencroft J: Sex chromosomal aneuploidies. In Geschwind DH, Paulson HL, Klein C, editors: *Handbook of clinical neurology*, , p. 147. (3rd series) Neurogenetics, Part 1 355. [Excelente reseña sobre los trastornos de los cromosomas sexuales.]
- Enfermedades causadas por mutaciones en trinucleótidos**
- Bagni C, Zukin RS: A synaptic perspective of fragile X syndrome and autism spectrum disorders, *Neuron* 101:1070, 2019. [Análisis de la pérdida de plasticidad sináptica en la patogenia del síndrome del cromosoma X frágil.]
- Hall DA, Berry-Kravis E: Fragile X syndrome and fragile X-associated tremor ataxia syndrome, *Handb Clin Neurol* 147:377, 2018. [Equilibrado análisis de la base genética del síndrome del cromosoma X frágil y otros trastornos relacionados.]
- Man L, Lekovich J, Rosenwaks Z, et al: Fragile X-associated diminished ovarian reserve and primary ovarian insufficiency from molecular mechanisms to clinical manifestations, *Front Mol Neurosci* 12:1, 2017. [Detallado análisis del mecanismo de la disfunción ovárica en la insuficiencia ovárica primaria asociada al cromosoma X frágil.]
- Mila M, Alvarez-Mora MI, Madrigal I, Fragile X: et al: syndrome: an overview and update of the FMR1 gene, *Clin Genet* 93:197, 2018. [Sencilla actualización de la base molecular del síndrome del cromosoma X frágil y otros trastornos relacionados.]
- Salcedo-Arellano MJ, Dufour B, McLennan Y, et al: Fragile X syndrome and associated disorders: clinical aspects and pathology, *Neurobiol Dis* 136:1, 2020. [Excelente revisión actualizada.]
- Enfermedades causadas por impronta genómica**
- Angulo MA, Butler MG, Cataletto ME: Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings, *J Endocrinol Invest* 38:1249, 2015. [Revisión bien articulada sobre el síndrome de Prader-Willi.]
- Buiting K, Williams C, Horsthemke B: Angelman syndrome—insights into a rare neurogenetic disorder, *Nat Rev Neurol* 12:584, 2016. [Revisión centrada en las alteraciones neurológicas.]