

Bol EC EMC Rev Dismor Epidemiol VI (n.º 1): 201-210 (2011)

## HOT SPOTS (INVESTIGACIONES IMPORTANTES)

**Autora: M.L. Martínez-Frías**

El importante y progresivo desarrollo de las técnicas moleculares actuales y su aplicación a la investigación de diferentes patologías humanas, viene produciendo un espectacular incremento en el conocimiento de las causas moleculares e, incluso, de las intrincadas redes patogénicas que las producen. En los últimos años, es constante el incremento de publicaciones sobre la identificación de las bases moleculares y sus redes funcionales de síndromes que cursan con alteraciones del desarrollo embrionario, incluyendo síndromes malformativos.

Para este Boletín, se han seleccionado tres artículos que muestran algunos de esos resultados. Dos de ellos abordan la interacción de distintos genes, o sus productos (proteínas) que sugieren una conexión en los mecanismos que producen diferentes síndromes malformativos, que pueden ser clínicamente más o menos diferentes, pero que comparten ciertos tipos de malformaciones. En otras palabras, que comparten ciertas malformaciones y también aspectos causales comunes a nivel molecular.

El tercer artículo muestra cómo los estudios sobre el exoma mediante la secuenciación de ADN a gran escala (*large-scale DNA sequencing*), son de utilidad para determinar causas de síndromes malformativos, con la ventaja de que no se necesitan muchos casos para ello, incluso con unos pocos afectados en dos, e incluso una familia, pueden ser de utilidad. Algo que es importante para los síndromes cuyas frecuencias son extraordinariamente bajas. Sin embargo, su aún alto precio es una limitación, aunque ya se augura un progresivo descenso de su coste. Por ello nos ha parecido importante comentarlo en esta Sección.

### **Título del primer artículo:** *Sox2 cooperates with Chd7 to regulate genes that are mutated in human syndromes.*

En junio de este año, se ha publicado un interesante trabajo en la revista *Nature Genetics* [Engelen et al., 2011;43:607-611], acompañado de un comentario en la sección *News and Views* [Puc and Rosenfeld, 43;505-506], sobre el control de expresión de diferentes genes asociados a síndromes, que sugieren una conexión en los mecanismos que producen cinco síndromes malformativos.

El *HMG-box transcription factor Sox2* actúa durante la neurogénesis y otros estados del desarrollo (como se ha observado en niños que presentan el síndrome de microftalmia causado por mutaciones del *SOX*); y el *Chd7* (que es miembro de la *cromodomain helicase ADN-binding domain*, de la familia de la ATP-dependiente de remodeladores de la cromatina), es un cofactor transcripcional de *Sox2*. Teniendo en cuenta estos aspectos, Engelen et al., analizaron la posibilidad de que *Sox2* y *Chd7* regularan los mismos genes.

Estos autores utilizan células troncales neurales de ratón (NSCs), y nuevas tecnologías (ARN e inmunoprecipitación de cromatina y una secuenciación masiva de ADN paralela) para mostrar que *Sox2* y *Chd7* regulan la expresión de genes diana comunes y que se solapan en sitios de unión a lo largo del genoma. Observan que el *Sox2* opera en una red transcripcional, e identifican 50 factores que interaccionan con *Sox2*. Así encuentran que *Chd7* es un cofactor de *Sox2*, y que juntos regulan la transcripción de genes mutados en diferentes síndromes (Alagille, Pallister-Hall y Feingold). Como muchos de esos factores participan en el neurodesarrollo, concluyen que *Sox2* es importante en la neurogénesis. Además, mutaciones del *SOX2* producen microftalmia y, entre los factores que interactúan

con Sox2, se encuentra el Chd7 y en los seres humanos la haploinsuficiencia de *CHD7* causa el síndrome de CHARGE (coloboma, malformaciones cardíacas, atresia de coanas, retraso del crecimiento y desarrollo, anomalías genitales, alteraciones del pabellón auricular y/o sordera). Un patrón de defectos que es similar al que Chd7 y Sox2 producen en el ratón.

En conclusión, consideran que Sox2 y Chd7 se expresan durante el desarrollo embrionario en un patrón similar que incluye muchos órganos, y estos pueden estar afectados en distintos síndromes como el de anoftalmia relacionada con *SOX2*, o el de CHARGE. Finalizan considerando que una extrapolación de sus resultados podría sugerir que las malformaciones comunes de estos síndromes (que no se han relacionado previamente), tienen una causa similar a nivel molecular.

### **Título del segundo artículo:** *Loss-of-function mutations in RAB18 cause Warburg-Micro Syndrome* [Bem et al. Am J Hum Genet. 2011;88:499-507]

En los últimos años, se han publicado una serie de trabajos relacionando mutaciones en diferentes proteínas RAB3 con algunas patologías, incluyendo síndromes malformativos hereditarios. En ellos, se demuestra que para algunos síndromes hereditarios, como los síndromes de Warburg-Micro (OMIM 600118) y Martsolf (OMIM 212720), existe heterogeneidad de locus, lo que sugiere que otros genes también participan en la patogénesis de estos síndromes. Uno más de esos genes se identifica en el artículo de Bem et al., que se comenta más abajo.

En la superfamilia de proteínas Ras, se incluyen unas pequeñas proteínas G, las Rabs que se consideran proteínas periféricas de membrana, y son reguladores clave del transporte vesicular de membrana, tanto de exocitosis como endocitosis, que es esencial para el aporte de proteínas en los lugares intracelulares específicos.

En el hombre se han identificado más de 60 proteínas RAB, que funcionalmente se han clasificado en dos grupos, según si la vía del transporte es endocitosis o exocitosis. La subfamilia RAB3 (RAB3A, RAB3B, RAB3C y RAB3D) modula la exocitosis de los mediadores del calcio de los neurotransmisores y hormonas, que son reguladas por RAB3GAP. El gran número de diferentes proteínas RAB indica su importancia en la regulación de los procesos de tráfico de vesicular y otros (como formación de vesículas, movilidad, fusión con los aceptores de membrana...), en una forma coordinada y regulada. Alteraciones de ese tráfico vesicular se han relacionado con la aparición de diferentes enfermedades humanas y síndromes con defectos congénitos hereditarios.

La RAB3GAP es un heterodímero complejo que consiste en una subunidad catalítica que es codificada por el gen *RAB3GAP1* localizado en el cromosoma 2q21.3, y otra unidad no catalítica codificada por el gen *RAB3GAP2* localizado en el cromosoma 1q41. Mutaciones en estos dos genes se han encontrado en los síndromes de Warburg-Micro y Martsolf, y por estudios moleculares recientes se ha establecido que son expresiones de un mismo fenotipo que es más grave en el primero que en el segundo de estos síndromes. En el síndrome de Warburg-Micro se han observado mutaciones en *RAB3GAP1* y *2*, lo que confirma que es una entidad heterogénea. También que las mutaciones de *RAB3GAP2* producen un fenotipo menos grave que las que se producen en *RAB3GAP1*. Sin embargo, no se han detectado estas mutaciones en todos los casos estudiados cuya clínica apoyaba el diagnóstico de estos síndromes.

En abril de este mismo año, Bem et al. [Am J Hum Genet. 2011;88:499-507], publican un interesante trabajo analizando 11 pacientes de cinco familias consanguíneas con síndrome de Warburg-Micro que no tenían mutaciones *RAB3GAP1* ni *RAB3GAP2*, y encuentran mutaciones en *RAB18*. Estos autores, mediante diferentes análisis demuestran que las mutaciones del gen *RAB18* que producen pérdida de su función, dan lugar al síndrome de Warburg-Micro, que es clínicamente indistinguible de las anteriores. Es interesante destacar que la función celular del *RAB18*, aún no se conoce bien, aunque estudios iniciales han sugerido que puede estar implicado en la endocitosis y en procesos

secretores en el neurodesarrollo, entre otros. Sin embargo, parece que su acción está relacionada, en una u otra forma con procesos secretores o exocitosis. Bem et al., analizan en una interesante discusión estas posibilidades y los efectos clínicos que las podrían relacionar con el síndrome de Warburg-Micro, y esbozan algunas opciones como, por ejemplo, que RAB3GAP1 no sea un regulador específico de la familia RAB3, sino que también regule RAB18. Su conclusión final es que en los seres humanos RAB18 tiene claramente un papel en el desarrollo del cerebro, ojos y neurodegeneración, aspectos característicos de estos dos síndromes, siendo más graves en el síndrome Warburg-Micro.

**Título del tercer artículo:** *A mosaic activating mutation in AKT1 associated with the Proteus syndrome* [Lindhurst et al. N Engl J Med. 2011; 365(7):611-9. Epub 2011 Jul 27]

En el número 365(7) de julio de este año, la revista *New England Journal of Medicine*, publica un interesante trabajo de Lindhurst y colaboradores, sobre la causa del síndrome de Proteus, que va acompañado por un comentario editorial [Opitz and Jorde: *Hamartoma syndromes, exome sequencing, and a Protean Puzzle*], en el que describen las características e historia de este raro síndrome (su frecuencia se ha estimado en menos de 1 por millón).

Lindhurst et al., realizan una secuenciación del exoma del ADN en muestras de tejidos afectados y sanos del mismo paciente con síndrome de Proteus. Este síndrome es esporádico, aunque se ha descrito en gemelos monocigóticos discordantes. Unas características que apoyan la hipótesis de que la causa puede ser la supervivencia de genes letales en mosaicismo somático (teoría que propuso R. Happle para defectos congénitos esporádicos en 1987). Lindhurst et al., analizaron 158 muestras de 29 pacientes con este síndrome, y tras una interesante descripción detallada y clara de la metodología seguida (que puede interesar a los que realizan estos análisis), muestran los resultados en cuatro apartados (secuenciación del exoma, filtro de las variantes, validación y análisis de las muestras y caracterización funcional). El resultado final consistió en que 26 de los 29 pacientes tenían una activación somática del oncogén *AKT1* (que codifica una enzima, la *AKT1* kinasa, que participa en procesos tales como proliferación celular y apoptosis).

Tras una interesante discusión, concluyen que la causa del síndrome de Proteus es una mutación que activa el gen *AKT1* en células somáticas en mosaico. Esto prueba la hipótesis de Happle del mosaicismo somático, así como la implicación de la activación de la vía PI3K-AKT en las manifestaciones clínicas de sobrecrecimiento y susceptibilidad para tumores que presenta este síndrome. Además, teniendo en cuenta que algunos trabajos han relacionado el síndrome de Proteus con mutaciones del gen *PTEN*, y resto de síndromes que presentan sobrecrecimiento segmentario, lipomatosis y nevus epidérmicos, comentan que como *AKT1* es activada por mutaciones de pérdida de función del gen *PTEN*, se explica por qué los pacientes con mutaciones en este gen (los ahora incluidos como SOLAMEN) y los que las tienen en *AKT1* (Proteus), muestran un solapamiento de las manifestaciones clínicas. Estos autores consideran que todos estos síndromes son miembros de una gran familia de desordenes relacionados con la disfunción de la vía PI3K-AKT, e hipotetizan que múltiples desordenes están causados por mutaciones de genes que codifican proteínas de esa vía.

**Autora:** P. Fernández Martín

**Título del trabajo:** *Relationship of maternal snuff use and cigarette smoking with neonatal apnea*. [Gunnerbeck et al. Pediatrics. 2011;128(3):503-509]

En septiembre de este año 2011, la revista *Pediatrics*, publica un trabajo de Gunnerberck y cols., en el que analizan si es la nicotina o los agentes químicos que se producen durante el proceso de combustión del cigarrillo, la causa de las alteraciones en el control de las funciones cardiorrespiratorias que se han descrito en los hijos de mujeres que habían fumado tabaco durante el embarazo. Durante la última década se viene produciendo en Suecia un considerable aumento del número de mujeres —muchas de

ellas en edad reproductiva— esnifadoras de tabaco. Por ello, Gunnerberck y cols. han realizado un estudio utilizando los datos del periodo 1999-2006 del *Swedish Medical Birth Register*, que incluye un total de 610.346 recién nacidos y sus madres. Los niños se distribuyeron en los siguientes grupos según la exposición prenatal a tabaco: los no expuestos (503.460 niños, 82.6%); los expuestos a tabaco esnifado (7.599 niños, 1.2%); los expuestos a un consumo diario de 1 a 9 cigarrillos (41.391 niños, 6.8%); los expuestos a 10 o más cigarrillos diarios (16.928 niños, 2.8%) y el de los que estuvieron expuestos al consumo conjunto de cigarrillos y tabaco esnifado (481 niños, 0.08%). En 39.692 mujeres (6.5%) no se pudo conocer el dato de consumo de tabaco.

Los resultados (controlando por la edad gestacional) mostraron que los niños expuestos prenatalmente a tabaco **esnifado** presentaban un riesgo para apnea que duplicaba al del grupo de niños que no habían estado expuestos a tabaco, con un OR=1,96 (IC 95%:1,30-2,96). Sin embargo, el grupo de niños cuyas madres eran fumadoras de tabaco mostraba un incremento del riesgo para apnea, pero éste desaparecía cuando se ajustaba por edad gestacional. Hay que tener en cuenta que la apnea neonatal puede ser un signo de inmadurez del sistema nervioso, por lo que es más frecuente su aparición conforme disminuye la edad gestacional del recién nacido.

La principal conclusión del trabajo es que el consumo de tabaco esnifado durante la gestación duplicaría el riesgo de aparición de apnea neonatal, hallazgo que es consecuente con lo observado en experimentación animal. Asimismo, los autores sugieren que la nicotina sería la causante de este efecto. La nicotina ocasionaría la activación de los receptores nicotínicos para acetilcolina durante un periodo susceptible del desarrollo prenatal ocasionando cambios en la programación celular. Por ello, durante el embarazo, el consumo de tabaco esnifado o el empleo de la terapia sustitutiva de nicotina, no se deberían considerar como alternativas más seguras al consumo de cigarrillos.