

➤ **Seminario sobre Prevención de Deficiencias**

Los días 9 y 10 de mayo, en la sede de la Escuela Nacional de Sanidad del Instituto de Salud Carlos III, se realizó un Seminario orientado al perfeccionamiento de las acciones en

pro de la prevención de deficiencias en países de América Ibérica.

Participaron representantes de la citada Escuela, de la Unidad de Genética de la Nutrición de la Universidad Nacional Autónoma de México-Instituto Nacional de Pediatría, de la Universidad John Hopkins, y colaboradores y funcionarios del Real Patronato.

➤ **Aplicaciones del Seminario sobre Prevención de Deficiencias**

LUGAR	FECHA	ENTIDAD COLABORADORA
Salamanca	17 a 19 de enero	Instituto Universitario de Integración en la Comunidad (INICO), de la Universidad de Salamanca
Jaén	3 a 7 de junio	Universidad de Jaén

➤ **Mesa redonda sobre «Contribuciones españolas a la caracterización de genes responsables de enfermedades hereditarias humanas»**

**CRÓNICA**

El pasado día 14 de junio, en Barcelona y dentro del marco de la «VI Jornada de Actualización en Genética Humana», que de forma bienal organiza la Asociación Española de Genética Humana, el Real Patronato sobre Discapacidad organizó, con la colaboración del Centro de Genética Médica y Molecular del Institut de Recerca Oncològica (IRO), la mesa redonda titulada: *Contribuciones españolas a la caracterización de genes responsables de enfermedades hereditarias humanas*. El número de asistentes a la Jornada fue de 117 personas.

La mesa redonda se llevó a cabo en el salón de actos del Hospital de Bellvitge, con una duración de dos horas. Participaron como ponentes los doctores Manuel Palacín, catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Biológicas de la Universidad de Barcelona, Santiago Rodríguez de Córdoba, investigador del CSIC, profesor en el Departamento de Inmunología en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de Madrid, y Francisco Palau, Investigador del CSIC en el Instituto de Biomedicina de Valencia. La moderadora del acto fue la doctora Virginia Nunes, Jefa del Centro de Genética Médica y Molecular del IRO de Barcelona.

La doctora Nunes inició la sesión exponiendo la conveniencia de una mesa redonda de las características de la planteada en el seno de una reunión de la Asociación de Genética Humana Española. Que de alguna forma se reconocía la labor de grupos de investigación españoles que han contribuido al descubrimiento y caracterización de genes responsables de enfermedades humanas, lo que representaba parte de la contribución española al proyecto genoma humano, si bien España nunca participó de una manera activa y comprometida en dicho proyecto. Que se congratulaba y agradecía al Real Patronato el haber tenido el acierto de organizar una mesa sobre un tema tan candente. Que el título de la mesa pretendía no herir sensibilidades y por eso se titulaba contribuciones y no contribución. Que el Real Patronato sobre Discapacidad había contado con su colaboración para organizar la mesa y ella había escogido a tres investigadores que representaban diferentes grupos de trabajo con los que tenía relación y que en casi todos los casos habían contribuido a la explicación de una enfermedad, descubriendo los genes, ahondando en la proteína responsable, en la patofisiología de la enfermedad, en la búsqueda de modelos animales, en la predicción de los cambios conformacionales de las diferentes proteínas mutadas.

La Dra. Nunes explicó que durante la primera parte cada uno de los ponentes presentaría su trabajo durante 25-30 minutos, quedando finalmente media hora de debate general.

El primer ponente fue el **Dr. Palacín** que, bajo el título: *El sistema de reabsorción renal de*



*cistina. Patología y estructura*, presentó de forma dinámica y entusiasta lo que actualmente sabemos sobre cistinuria. La cistinuria es una amionoaciduria autosómica recesiva debida a un transporte anómalo de aminoácidos básicos y cistina. La cistina por no ser soluble precipita formando cálculos que pueden acabar comprometiendo el riñón del paciente.

La cistinuria es una enfermedad genéticamente heterogénea para la que, hasta el momento, el grupo del Dr. Palacín junto al grupo de la Dra. Nunes han identificado dos genes el primero en el año 1994, responsable de la cistinuria de tipo I denominado *SLC3A1* y que codifica para una proteína llamada rBAT, y el segundo 5 años después, responsable de la cistinuria de tipo no I, denominado *SLC7A9* y que codifica para una proteína llamada  $b^{0,+}AT$ . La cistinuria de tipo I presenta un patrón de herencia autosómico recesivo mientras que la de tipo no I los heterocigotos tienen unos valores de excreción urinaria de cistina y aminoácidos básicos más elevados que los individuos normales. Los afectos tienen valores indistinguibles, lo que hace necesario tener valores de los padres de los afectos para poder clasificar el tipo de cistinuria en una familia concreta. rBAT

y  $b^{0,+}AT$  son respectivamente la subunidad pesada y ligera de una transportador de aminoácidos heterodimérico. Estas proteínas se expresan en las células en cepillo de las membranas del túbulo proximal y de la mucosa del intestino. Hasta la fecha ya se han caracterizado el 85 % de los alelos de cada uno de los genes, y en algunos casos se ha podido establecer una relación genotipo/fenotipo. El Dr. Palacín hizo mucho énfasis en las características proteicas y el funcionamiento de los transportadores heterodiméricos. El heterodímero formado por rBAT/ $b^{0,+}AT$  muestra un gradiente de expresión a lo largo del túbulo proximal, siendo mayor en el túbulo convoluto y menor en el túbulo recto. Mientras todo el  $b^{0,+}AT$  está unido mediante un puente disulfuro a rBAT, hay un exceso de rBAT unido covalentemente a otra subunidad ligera aún no identificada (X) en membranas de las células en cepillo. El heterodímero rBAT/X tiene un gradiente de expresión a lo largo del túbulo proximal opuesto al de rBAT/ $b^{0,+}AT$ .

En la última parte de su charla, el Dr. Palacín presentó el modelo de ratón knockout para el gen *SLC7A9* generado. La estrategia seguida para obtenerlo, el aspecto que externamente no presenta diferencias con respecto a la cepa salvaje pero que sí presenta el fenotipo de hiperexcreción de cistina y aminoácidos básicos. Expuso los primeros datos aún escasos pero que demostraban que el ratón generado es un buen modelo de hiperexcreción. Desde luego el disponer de un modelo animal es un paso necesario para poder realizar estudios tanto farmacológicos como para plantearse la futura búsqueda de genes moduladores de cistinuria.

El **Dr. Rodríguez de Córdoba** intervino en segundo lugar y nos presentó sus trabajos sobre alkaptonuria, bajo el título de *Cien años de alkaptonuria*. Fue una charla muy amena y didáctica. La alkaptonuria (AKU) es uno de los ejemplos prototípicos de error congénito del metabolismo ya desde que en 1902 Garrod publicó sus primeros estudios sobre esta enfermedad. La AKU se debe a un mal funcionamiento de la enzima homogentisico dioxigenasa, (HGO) enzima requerido en el catabolismo de la fenilalanina a tirosina. Los individuos afectos acumulan grandes cantidades de ácido homogentísico, este ácido es el que da el color negruzco propio de la orina de estos pacientes y además un producto de su oxidación se deposita en el tejido conectivo causando pigmentación (cronosis) y artropatías. Hace 56 años La Du y colegas demostraron las bases del defecto bioquímico en la alkaptonuria, demos-

trando la ausencia de actividad HGO en un homogenado de hígado preparado a partir de un paciente con AKU y establecieron que el defecto se limitaba a la HGO, sugiriendo que en los individuos afectados había un fallo en la síntesis de dicho enzima. El gen responsable de AKU en humanos se localizó en el cromosoma 3q2. También se localizó el de ratón en el cromosoma 16. La contribución decisiva para conseguir caracterizar el gen HGO humano provino del trabajo con un hongo ascomiceto *Aspergillus nidulans*, un modelo utilizado para estudiar errores en el catabolismo de la fenilalanina en humanos. En ese organismo clonaron y caracterizaron un gen que codificaba una enzima HGO, denominada *hmgA*, a partir de su secuencia escribieron bases de EST y se aislaron clones que correspondían al gen humano HGO. Una vez aislado y caracterizado el gen comprobaron que mapaba en la región 3q21-23 lugar donde mapaba el gen AKU y estudiando familias demostraron que mutaciones en el gen HGO eran responsables del fenotipo alcaptonúrico. Posteriormente demostraron que alguna de las mutaciones sin sentido encontradas eran responsables de la pérdida de función del enzima. Hasta la fecha han encontrado más de 90 mutaciones diferentes responsables de alcaptonuria poniendo en evidencia una alta heterogeneidad alélica para esta enfermedad. Han analizado muchas de ellas en el modelo de *aspergillus* y han podido hacer predicciones gracias a que disponen de la estructura cristalina del enzima, lo que les ha permitido conocer como interactúan la diferentes intra e inter-subunidades para que se de la correcta oligomerización de la enzima. En la última parte de su charla el Dr. Rodríguez de Córdoba se centró en los estudios de haplotipos que han realizado en colaboración con un grupo esloveno. Eslovenia es el país donde se da una prevalencia más alta de alcaptonuria. Identificaron dos mutaciones recurrentes que explican el 50% de los cromosomas alcaptonúricos de esa región. Con el estudio demostraron la existencia de varios fundadores independientes que posteriormente sometidos a aislamiento genético serían los responsables de la alta prevalencia de alcaptonuria en esa región.

El **Dr. Francisco Palau** cerró la tanda de ponencias presentándonos su trabajo titulado: *Desciframiento de las bases moleculares de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth: clonación posicional del gen GDAP1 (ganglioside-induced differentiation-associate protein 1)*. La enfer-

medad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es la más frecuente de las neuropatías periféricas hereditarias. La CMT se clasifica en dos grupos principales: i) desmielinizante, asociada a una velocidad de conducción nerviosa reducida y redesmielinización segmental y formaciones de bulbos en forma de cebolla y ii) CMT axonal, caracterizada por degeneración axonal sin lesiones desmielinizantes y presencia de clusters de regeneración. El Dr. Palau diagnosticó y estudió tres familias con fenotipo de CMT axonal asociadas a voz ronca y paresis de las cuerdas vocales. Se había demostrado ligamiento del fenotipo presentado por las familias al locus CMTA4, localizado en el cromosoma 8q21.1. La enfermedad segregaba de forma autosómica recesiva. Estudiando marcadores tipo microsátelite consiguieron un lod score con dos marcadores de la zona que les permitió sospechar que el gen GDAP1 mapaba en la región genética candidata. Su homólogo en ratón *Gdap1* está muy expresada en cerebro, el gen podría estar implicado en la vía de transducción de señal del desarrollo neuronal. Así pues, la estrategia seguida fue de clonación posicional. Aislaron el gen, analizaron su secuencia e identificaron tres mutaciones diferentes en los seis alelos mutados de las tres familias. La secuencia de aminoácidos de la proteína GDAP1 presenta un gran similitud a la de las glutatión S transferasas (GSTs), enzimas que juegan un papel importante en la detoxificación de las células. Análisis filogenéticos demostraron que la GDAP1 pertenece a un nuevo grupo de GSTs probablemente monofilético, que incluye la proteína de ratón y otras de *Drosophila melanogaster*, CG4623 y *Arabidopsis thaliana*. Los datos genéticos obtenidos por el grupo del Dr. Palau y otros grupos, confirman que las mutaciones en GDAP1 pueden estar asociadas con los dos fenotipos de CMT, el axonal y el desmielinizante, tal como ocurre en otras neuropatías periféricas. El Dr. Palau sugiere un papel de GDAP1 en la interacción entre las células de Schwann y el axon, interacción que cuando se interrumpe podría ser la causa, bien de la degeneración axonal o de la desmielinización del nervio periférico.

Una vez finalizada la exposición del Dr. Palau, todos los ponentes junto con la moderadora comenzaron el debate. Intervino en primer lugar la Dra. Nunes felicitando a los ponentes por sus intervenciones y diciendo que a ella le gustaría que aparte de las preguntas propiamente relacionadas con las ponencias que los presentes en la sala quisieran hacer ella tenía la

intención de crear un debate de tipo socio-político-científico, preguntando sobre la repercusión social de los descubrimientos y como éstos habían influido en la obtención de fondos para investigación.

Hubo varias preguntas desde el público, dos para el Dr. Palau que hacían referencia a aspectos fenotípicos de los pacientes que había estudiado, relativas a los procesos de desmielización.

Dos preguntas para el Dr. Rodríguez de Córdoba relacionadas con el estudio de haplotipos que han realizado con alkaptonuria para ver el posible origen.

Una pregunta conjunta para Palacín y Rodríguez de Córdoba sobre qué opinaban que podría pensar Sir Archivald Gorrod si supiera cómo han evolucionado las enfermedades de las que él habló hace más de 100 años, cistinuria y alkaptonuria. Ambos investigadores respondieron que muy probablemente se sentiría satisfecho del actual conocimiento sobre ambas enfermedades.

Una pregunta al Dr. Palacín relacionada con el modelo animal de cistinuria.

A continuación la Dra. Nunes planteó la misma pregunta a los tres ponentes: ¿cómo habían influido sus descubrimientos en su labor científica posterior? El Dr. Palau habló de que cuando hace algunos años se decidió dar un poco más de apoyo a la investigación, se potenció la investigación en hospitales grandes pero eso no ocurrió ni en las Facultades ni en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Él opinaba que eso tendría que haber ocurrido de forma coordinada, que se dan casos como que no se convocan plazas para Genética Humana dentro del Consejo y que él era uno de los pocos que tenía una plaza de Genética Humana. Que no había habido ningún cambio espectacular en la financiación que ha recibido. Que la obtención de recursos apropiados para la investigación sigue siendo una labor pendiente de los ministerios implicados.

El Dr. Rodríguez de Córdoba explicó que él ha podido ir haciendo todo lo que se había propuesto, que de todos modos hace falta abrir un mercado real de investigación en este país. Que no puede ser que los estudiantes predoctorales

tengan situaciones tan precarias, que los postdoctorales no tengan contratos en condiciones, en fin, que existe una falta de infraestructura importante y eso hay que resolverlo. En su situación concreta dijo que muchas veces ha tenido la suerte de tener muy buenos amigos y haber podido colaborar con ellos.

Finalmente el Dr. Palacín dijo que él le debe mucho a la cistinuria, que gracias a descubrir que ésta era una enfermedad en la que estaban implicados transportadores de aminoácidos todo el mundo científico le dio más valor al estudio de esos transportadores, labor a la que él se había dedicado y dedica. Que son un problema real la falta de especialidad clínica que reconozca la Genética Humana como tal, que hacen falta muchos más recursos y agilidad para conseguirlos. Que dadas las características que tiene actualmente el estudio de las enfermedades humanas, desde el punto de vista molecular, pasa en muchos casos por la creación de modelos animales y que en este sentido la cabaña de transgénicos y Knock-outs en el país es muy reducida, que se necesitan más centros de tipo CNIO con gran capacidad para generar esos modelos animales.

En general ninguno de los ponentes pensaba que el trabajo realizado hubiera llegado demasiado al público en general. Que en cierta manera eso sí les ha avalado a la hora de solicitar nuevos proyectos y han merecido el reconocimiento de la comunidad científica que ha tenido acceso a sus publicaciones.

El acto se clausuró a las 14 horas 30 minutos. En conversaciones posteriores con los asistentes a la mesa redonda todo el mundo dio opiniones muy favorables y felicitó a los oradores por sus ponencias. Sin duda la mesa redonda sobre *Contribuciones españolas a la caracterización de genes responsables de enfermedades humanas* fue un éxito, por lo que desde aquí felicito al Real Patronato sobre Discapacidad.

*Dra. Virginia Nunes*  
Jefa del Centro de Genética Médica y Molecular  
Institut de Recerca Oncològica  
vnunes@iro.es