

## Las enfermedades raras

Héctor Martínez López

El grupo de Genética Molecular Humana de la Facultad de Biología en la UB se encarga del estudio de diferentes enfermedades genéticas. Por un lado se encarga de enfermedades monogénicas con diversos grados de heterogeneidad (la causan muchas variantes genéticas), desde enfermedades lisosomales hasta retinitis pigmentosa. Por otro lado se encarga de enfermedades muy complejas.

Para el estudio de factores de riesgo genético (variantes) utilizan marcadores genéticos. Pero planean continuar y profundizar los estudios utilizando modelos celulares y animales, con el fin de proporcionar conocimiento suficiente para desarrollar estrategias de diagnóstico o terapéuticas.

Las enfermedades raras están ahí, pero... ¿cómo funcionan? ¿Por qué se las llama "raras"? ¿Qué se está investigando y cómo se lleva a cabo en la Facultad de Biología? Este artículo pretende dar respuesta en mayor o menor medida a estas preguntas. En él encontraréis desde conceptos de genética básica e información generales sobre enfermedades raras hasta algunas líneas de investigación en la Facultad de Biología e incluso resultados prometedores de algunos estudios realizados aquí.

Grupos de OpitzC  
y enfermedades  
lisosomales

Bárbara Torrico

Carla Esteve

Celia Sintas

Edgar Creus

Héctor Franco

Jenny Serra

Judit Cabana

Laura Pineda

Marta Gómez

Monica Cozar

Neus Roca

Noelia Benetó

Noelia Fernández

Nuria Martínez

Roser Urreizti

Bru Cormand

Lluïsa Vilageliu

Susana Balcells

Daniel Grinberg



## Introducción

Las enfermedades raras no son algo ajeno. Aunque cada una de estas enfermedades afecta a tan solo a una pequeña parte de la población, existen cerca de 7000 diferentes que afectan en total a un gran porcentaje. En España el número de afectados por enfermedades raras es de unos 3 millones de personas, una cifra para nada despreciable. Así que si piensas que eso de las enfermedades raras no iba contigo, estás equivocado. Cualquiera puede sufrir una durante su vida.

Si bien es cierto que existen enfermedades raras poco graves, un alto porcentaje son muy graves. Además, para gran parte de ellas no hay tratamiento ni tan solo paliativo. Esto genera situaciones familiares muy difíciles donde el enfermo necesita atención especial, una fuerte carga económica y se desarrollan muchos problemas tanto educativos como laborales.

La investigación juega un papel importantísimo en el conocimiento de estas enfermedades, ya que intenta descubrir cómo funcionan para buscar una potencial solución. Con tecnologías como la terapia génica, las células madre pluricelulares inducidas (IPSC) y la secuenciación genética masiva, este camino es mucho más sencillo, pero sigue siendo costoso.

Por último, y para cerrar la introducción, hay que mencionar el papel social importantísimo que juegan las asociaciones de pacientes. Estas trabajan para sensibilizar a la población, para conseguir financiación, para hacer presión sobre la legislación, etc. Sin su lucha la investigación no sería posible.

## ¿Qué es una enfermedad rara?

Primero y antes de todo hemos de conocer al sujeto del artículo, las enfermedades raras, abreviadas como ER. Reciben su nombre por una cuestión de prevalencia, es decir, en cuanta población se presenta. Aquellas patologías que afectan a 1 o menos personas de cada 2000 reciben el estatus de raras.

Las personas afectadas por cada ER representan un porcentaje muy muy bajo, un 0,05% (1 de cada 2000). Pero afectan hasta al 7% de la población, unos 3 millones de personas en España y 27 millones en Europa, por ejemplo. ¿La razón? Hay alrededor de 7000 enfermedades raras.



**70%**  
DISCAPACITADOS

Figura 1. % de discapacitados sobre el total de afectados por enfermedades raras. Fuente: FEDER

Estas enfermedades son, en su mayor parte, crónicas y degenerativas. Un gran porcentaje, un 65% aproximadamente, son graves e invalidantes. Dos de cada tres aparecen antes de los dos años y muchas comportan dificultades en el desarrollo motor, cognitivo, sensorial o intelectual, originando una discapacidad en la autonomía.

Además hay una falta de conocimiento importante sobre algunas de estas enfermedades, tanto a nivel de cómo funcionan como a nivel clínico. Muchas veces esta desinformación hace que se diagnostiquen tarde. Aunque también puede pasar que dos ER se parezcan mucho y se diagnostique de manera errónea, pudiendo darse un tratamiento erróneo e inadecuado para la enfermedad.

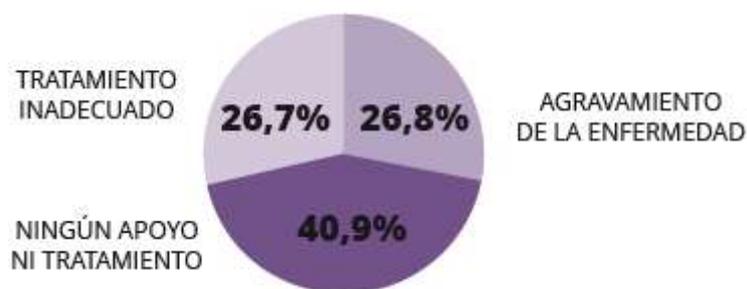


Figura 2. Gráfico de sectores que divide las enfermedades raras según el tratamiento que tienen y sus resultados.  
Fuente: FEDER.

Esto incide de manera muy negativa sobre las familias que se ven desamparadas ante la falta de información y un correcto diagnóstico. Las asociaciones luchan por que se investigue en estas enfermedades y se mejore el diagnóstico. Además dan apoyo a las familias afectadas.

### ¿Cómo se originan las enfermedades raras?

En general tienen un origen hereditario, es decir, las transmiten los padres, aunque no estén afectados, a los hijos. Cuando se da este caso, se dice que los padres son portadores sanos de la enfermedad, aunque también pueden estar afectados.

Todas las células de nuestro cuerpo tienen, más o menos, el mismo material genético, conocido como genoma. Este se organiza, a grandes rasgos, en genes que contienen la información necesaria para generar proteínas. Estas, por decirlo de alguna manera, son la maquinaria celular que lleva a cabo el trabajo. En el material genético hay variantes negativas y variantes neutras, según si afectan o no la función de la proteína.

Tenemos el material genético duplicado, es decir, tenemos dos variantes para cada gen y recibimos cada una de uno de nuestros progenitores, una de padre y una de madre. Cuando nos reproducimos pasamos tan sólo una variante a nuestro descendiente, igual que hicieron nuestros padres. Así pasamos a la descendencia una mezcla de las variantes de nuestros padres, que las heredaron de sus padres y así un largo etc.

Tenemos dos variantes para cada gen y cada una puede ser neutra o negativa, así que podemos tener varias combinaciones. Hay enfermedades que únicamente se muestran cuando las dos variantes son negativas, llamadas recesivas. También hay otras que tan sólo necesitan una variante negativa para mostrarse, las llamamos dominantes. Para simplificar, diremos que cada una de las enfermedades raras sigue uno de estos patrones.

¿Por qué ocurre esto? Las variantes negativas afectan a la función de la proteína de diferentes maneras. Pueden hacer que no se produzca esa proteína o que se produzca mal y no cumpla con su función. Si tenemos una variante negativa y una neutra, todavía nos queda proteína funcional en las células y, por lo tanto, seguirá realizándose la función. Hay veces que la función depende de la cantidad. Si tenemos la misma situación de variante negativa y neutra, habrá la mitad de proteína y la que queda no podrá con todo el trabajo.

### Investigación

La investigación es muy importante en las enfermedades raras debido al profundo desconocimiento sobre algunas de ellas. Por ejemplo el Síndrome de OpitzC, una enfermedad muy poco frecuente hasta para ser una enfermedad rara, aún no se conoce cuál es el gen responsable. Otras, como el Síndrome de SanFilippoC, sí tienen un gen causante detectado y se conoce cómo funciona la enfermedad.

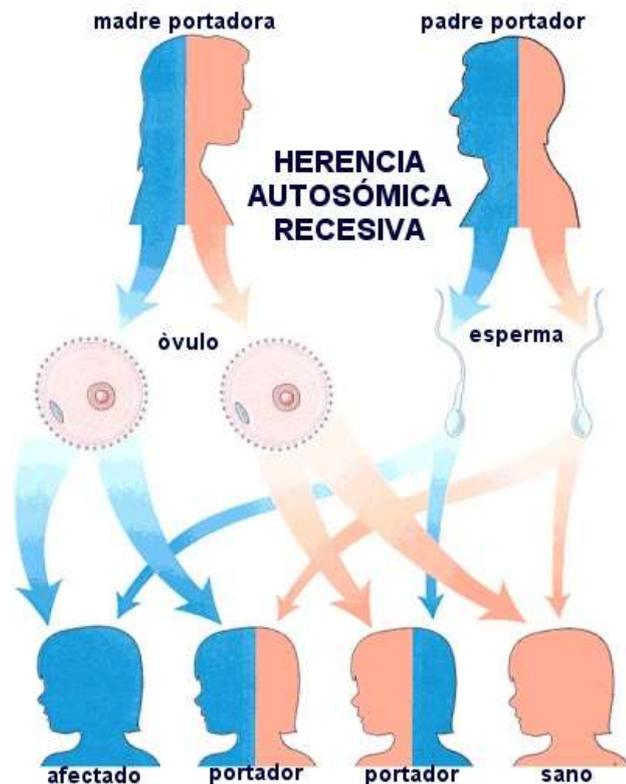


Figura 3. Dibujo que muestra el patrón de herencia de una enfermedad recesiva. El color azul indica la variante negativa mientras que el

En España el Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) agrupa y coordina a algunos grupos de investigación. En total tiene 7 programas científicos diferentes relacionados con estas enfermedades que agrupan a más de 62 grupos de investigación en toda España. Además hace de nexo con las federaciones y asociaciones de pacientes. Juntos trabajan para mejorar la financiación, la eficiencia de la investigación y el flujo de información pacientes-investigadores-médicos.

Aquí en la Facultad de Biología, situado en el Departamento de Genética, reside uno de esos 62 grupos de investigación. Trabaja activamente con varias enfermedades raras, entre ellas OpitzC y SanFilippoC.

### ***Síndrome de OpitzC: a la búsqueda de un responsable***

El síndrome de OpitzC es una enfermedad catalogada como rara, pero con una incidencia tan baja que se le da el título extraoficial de “superrara”, pues únicamente hay 60 casos a nivel mundial. La enfermedad se confunde con el Síndrome Bohring-Opitz (BO) puesto que ambas están caracterizadas por trigonocefalia (cráneo en forma de triángulo), déficit cognitivo, etc. De hecho se incluye OpitzC dentro de Bohring Opitz porque son síndromes muy parecidos y este último es más grave.

Aun así en Bohring-Opitz sí se conoce que genes es el que causa la enfermedad cuando está maltrecho (ASXL1), mientras que en OpitzC este no se encuentra afectado. En el grupo de investigación de la Facultad se trabaja buscando genes responsables.

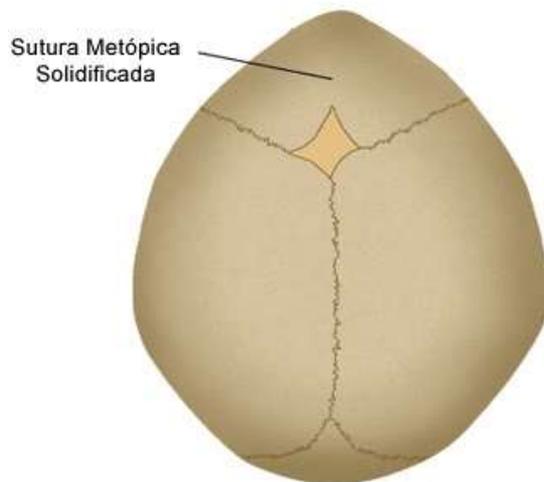


Figura 4. Trigonocefalia. En el dibujo se indica la solidificación que causa la forma triangular del cráneo. Fuente: Asociación OpitzC

Este septiembre de 2015 el grupo publicó un artículo en el que realizan un estudio en once pacientes con alguno de los dos síndromes. En él estudian si los genes ASXL1 y CD96 tienen relación con los síndromes. Los resultados son ciertamente desesperanzadores, pues en 10 de los 11 casos concluyen que no se pueden explicar estas enfermedades por esos genes. Pero aun así, como ellos mismos comentan, una muestra de 11 pacientes no es suficiente para hacer generalizaciones.

En el estudio utilizan técnicas de secuenciación genética masiva, que permite conocer de manera rápida y bastante precisa el genoma de una persona. Si comparamos el genoma de un individuo con un genoma de referencia, podemos obtener las diferencias que corresponden a las variantes.

Dentro de las muchas variantes que tiene cada individuo hay una gran parte que son neutras, pero la otra parte pueden ser negativas. Estas hacen falta estudiarlas para intentar asociarlas con la enfermedad. Si vemos que todos los pacientes de una misma enfermedad tienen la misma variante, no es una locura pensar que esa variante puede ser la causante.

En el estudio no encuentran ninguna variante negativa en el gen CD96, por lo tanto no parece un buen candidato. Por otro lado, para el gen ASXL1 únicamente encuentran una variante negativa en un solo paciente diagnosticado con Bohring-Opitz, así que soporta la hipótesis de que están asociados. Todo esto viene a decir que han de seguir buscando candidatos. De hecho, el grupo comenta al final del artículo que hacer un análisis mucho más amplio buscando variantes negativas puede ser provechoso para seguir avanzando en el conocimiento de la enfermedad.



Figura 5. Secuenciador de nueva generación de la empresa Illumina. Fuente: Illumina

### ***SanFilippoC: células madre pluripotentes inducidas y terapia génica***

Este síndrome catalogado como enfermedad rara afecta a las proteínas encargadas de eliminar un compuesto de las células, el heparán sulfato. Este es un compuesto muy importante en la formación de vasos sanguíneos, procesos de coagulación y otras. Pero si no se elimina correctamente y se acumula, provoca graves problemas.

Esta enfermedad suele presentarse a los pocos años de edad. Está caracterizada por presentar síntomas como agresividad, hiperactividad, trastornos del sueño, degeneración de las células cerebrales, articulaciones rígidas, etc.

En los últimos meses han publicado dos artículos muy interesantes sobre esta enfermedad. Uno de ellos trata sobre un estudio que han realizado en células de pacientes, buscando un tratamiento que pueda mejorar la enfermedad.

El estudio está basado en terapia génica, un campo muy amplio que abarca multitud de técnicas basadas en material genético para aplicar al tratamiento. En este caso aplican una basada en la reducción de la producción de una proteína en concreto, con el objetivo de reducir la cantidad de proteína que se acumula.

Lo hacen mediante un sistema propio de las células (siRNA, del inglés *small interference RNA*, o RNA pequeños de interferencia), que cuando detecta una determinada molécula semejante al gen que produce la proteína diana, regula su expresión. En las células del estudio introducen una molécula similar al gen que produce la proteína encargada de sintetizar el heparán sulfato. Así se produce menos heparán sulfato y, por lo tanto, se acumula menos.

El resultado del estudio es satisfactorio, consiguen que las células de los pacientes generen menos heparán sulfato y que este se acumule menos. Son resultados prometedores. Se ha puesto a prueba la idea y ha funcionado. Será cuestión de tiempo que alguien intente llevarlo más allá, para que algún día sea un fármaco.

El otro artículo que han publicado tiene relación con células madre pluripotentes inducidas (IPSC). Presentan un estudio donde generan neuronas de los pacientes, las cuales son deficientes en la formación de conexiones con otras neuronas, y consiguen que formen correctamente redes neuronales.

Las células madre son células que se encargan de renovar las células muertas del cuerpo. Para ello se dividen en 2 y una de ellas se convierte en otro tipo celular, por ejemplo una célula muscular, mientras que la otra sigue siendo una célula madre. Se clasifican según el abanico de posibilidades, conocido como potencia, que tienen para convertirse y van desde las totipotentes, hasta las unipotentes.

En nuestro cuerpo tenemos células madre adultas, cuyo abanico de posibilidades está bastante restringido. Pero existen técnicas que permiten coger células del cuerpo y convertirlas en células madre pluripotentes, que pueden convertirse en cualquier célula del cuerpo. Según como las manipulemos en el laboratorio, estas células pluripotentes las podemos convertir en uno u otro tipo.

En el estudio cogen células de pacientes con SanFilippoC y las convierten en neuronas, que están

bastante afectadas en la enfermedad. Estas células no pueden formar correctamente uniones neuronales. Pero utilizando técnicas de terapia génica consiguen sí formen correctamente las

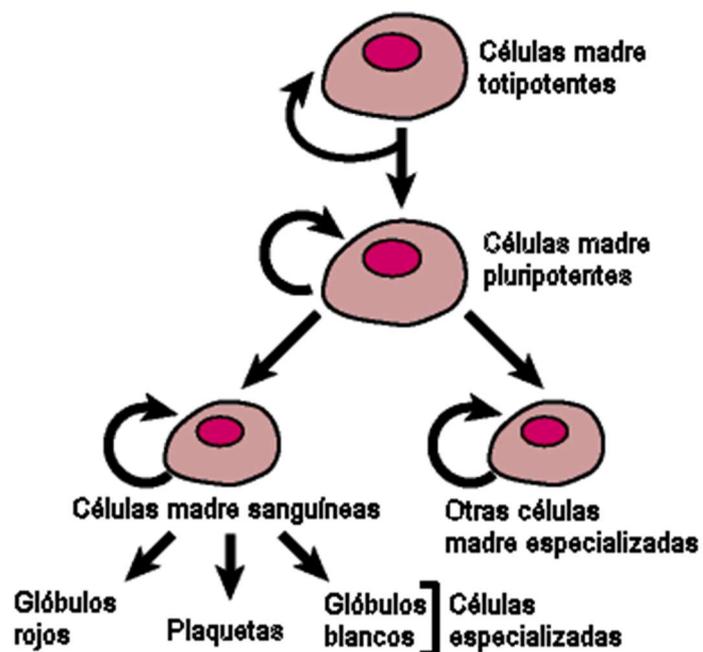


Figura 6. Potencia de las células madre. De las dos células resultantes una pasa a otro estadio (recta), mientras una queda como célula madre (circular). Fuente: ecojovent

redes. Concretamente introducen el gen correcto en la célula, para que así recupera la función perdida por culpa de la variante negativa.

En ambos estudios los resultados son positivos, pero todavía hay que desarrollarlas e ir avanzando en dirección al fármaco. Aun así son muy buenos apoyos ya que se ha puesto a prueba el concepto y ha dado resultados positivos.

## Cierre

Las enfermedades raras son muy difíciles de estudiar. Muchas veces son heterogénicas, es decir, pueden estar causadas por muchas variantes genéticas diferentes. Otras veces la información sobre la familia es muy limitada o hay muy pocos enfermos, haciendo difícil su estudio. Otras simplemente se conoce nada o poco sobre la enfermedad. Otras el modelo animal existente no reproduce las características y, por lo tanto, no aportan información. También hay casos en que no hay dinero para estudiarlas. Aun así hay que perseverar y seguir estudiándolas. Por ellos, los pacientes, las familias, los afectados, pero también por la ciencia.

## Bibliografía:

- Rodwell C., Aymé S., eds., “2014 Report on the State of the Art of Rare Disease Activities in Europe”, July 2014
  - Asociación Síndrome OpitzC (asopitzc.org)
  - Centro de Investigación Biomédica en Red – Enfermedades Raras ([www.ciberer.es](http://www.ciberer.es))
  - Orphanet: The portal for rare diseases and orphan drugs (orpha.net)
  - Federación Española de Enfermedades Raras ([www.enfermedades-raras.org](http://www.enfermedades-raras.org))
  - Online Mendelian Inheritance in Man (omim.org)
1. Urreizti, R. *et al.* Screening of CD96 and ASXL1 in 11 patients with Opitz C or Bohring-Opitz syndromes. *Am. J. Med. Genet. Part A* **170**, 24–31 (2016).
  2. Canals, I., Benetó, N., Cozar, M., Vilageliu, L. & Grinberg, D. EXTL2 and EXTL3 inhibition with siRNAs as a promising substrate reduction therapy for Sanfilippo C syndrome. *Sci. Rep.* **5**, 13654 (2015).
  3. Canals, I. *et al.* Activity and High-Order Effective Connectivity Alterations in Sanfilippo C Patient-Specific Neuronal Networks. *Stem Cell Reports* **5**, 546–557 (2015).

## Entrevista a Héctor Franco

Entrevista a Héctor Franco, estudiante del grado de Biotecnología de la UB que trabaja en este laboratorio desde el año pasado, en la línea de investigación de OpitzC.

*P. ¿Cómo has llegado al grupo de genética humana y a trabajar con OpitzC?*

R. Tuvimos a los dos directores del grupo en el que estoy como profesores en el grado. Siempre me ha gustado la genética y como los profesores me gustaron, me miré los proyectos del grupo de genética humana, pero sin fijarme en ninguno en concreto. Simplemente me gustaba y contacté con ellos. En un principio no empecé trabajando en OpitzC, si no que ayudaba a una chica de que estaba haciendo el máster, trabajando con osteoporosis. Cuando la chica que hacia OpitzC se marchó, me ofrecieron trabajar en esa línea de investigación y acepté.

*P. He estado mirando bases de datos sobre enfermedades y parece que no está claro que gen causa OpitzC, aunque se cree que forma parte del síndrome Bohring-Opitz. Explícame un poco más esta relación que hay entre ambas.*

R. Son dos síndromes, la trigonocefalia de OpitzC (OTCS) y el síndrome Bohring-Opitz (BO). Actualmente es difícil decir con seguridad si son dos síndromes diferentes o uno de solo. Comparte mucho fenotipo, muchas características externas, pero BO es más grave. Tienen la mayoría de síntomas compartidos y otros característicos, pero es difícil asegurarlo. Para BO está más o menos descrito que el gen responsable es ASXL1, aunque solo se ha encontrado en un 60-65% de los afectados. Cuando un paciente presenta síntomas de la enfermedad, aunque no presenten la mutación de ASXL1, podemos decir que padecen BO. Pero no podemos estar seguros. Cuando sí detectamos la mutación entonces podemos afirmar que se trata de un caso de BO. Nosotros hemos trabajado con tres pacientes, 1 de los cuales tenía el gen ASXL1 mutado, por lo tanto padecía BO. Los otros dos pacientes no se les han encontrado esta mutación, así que estamos analizando qué mutación pueden tener que les cause la enfermedad. En cuanto a OTCS la hipótesis actual es que tiene heterogeneidad de locus. Es decir, que muchos genes diferentes pueden causar el síndrome. El problema es que partimos de 0 y no conocemos el gen que lo causa.

*P. Si no se conoce el gen, ¿qué se hace?*

R. Para estudiarlo hacemos aproximaciones de secuenciación del exoma, es decir, analizamos la parte del genoma que se expresa (el exoma) que es aproximadamente un 1% del total del genoma. Esto representa mucho menos trabajo que analizar el genoma. Primero secuenciamos el exoma con una serie de kits ya preparados y esto nos da la secuencia que lo forma. Entre dos genomas de personas diferentes podemos encontrar hasta 10 millones de mutaciones de diferencia, pero no las analizamos todas. Muchas son inocuas y no representan un problema, así que las filtramos y las eliminamos. Después aplicamos filtros de calidad para evitar estudiar mutaciones que son producto del error de la técnica. También eliminamos aquellas variantes que están en genes que sabemos que es poco probable que den lugar al síndrome. Al final de estos filtros de 10 millones pasamos a entre 50 y 100 mutaciones para cada paciente. Entonces estas mutaciones las confirmamos resecuenciando con técnicas más fiables. Si confirmamos la

mutación, es decir, si realmente está ahí, pasamos a estudiarla mediante estudios funcionales para comprobar el efecto real de la mutación. Estos estudios son cultivos celulares donde hacemos que células expresen la mutación, *western blot* o co-inmunoprecipitación. Así, poco a poco, vamos buscando qué variantes provocan la enfermedad.

*P. ¿Habéis encontrado alguna mutación recientemente?*

R. El año pasado encontramos una mutación en un gen, pero este parece asociado a otra enfermedad. No obstante hemos de validar la mutación y seguramente la llevemos a estudios de cultivos celulares para profundizar. Creemos que la mutación trabaja conjuntamente con otras para provocar la enfermedad, así que seguiremos buscando.

*P. ¿Te gusta trabajar en esta enfermedad?*

R. El tema me gusta en parte porque hay poca gente trabajándolo. Es una enfermedad minoritaria y no se sabe apenas nada. Aunque partimos de 0 y es muy duro, me gusta bastante. La parte del estudio que estoy haciendo ahora es muy repetitiva ya que hemos de validar muchísimas mutaciones de las que tenemos. En el segundo semestre, que tendré más tiempo disponible podré hacer experimentos más laboriosos como cultivos celulares, que son más entretenidos.