

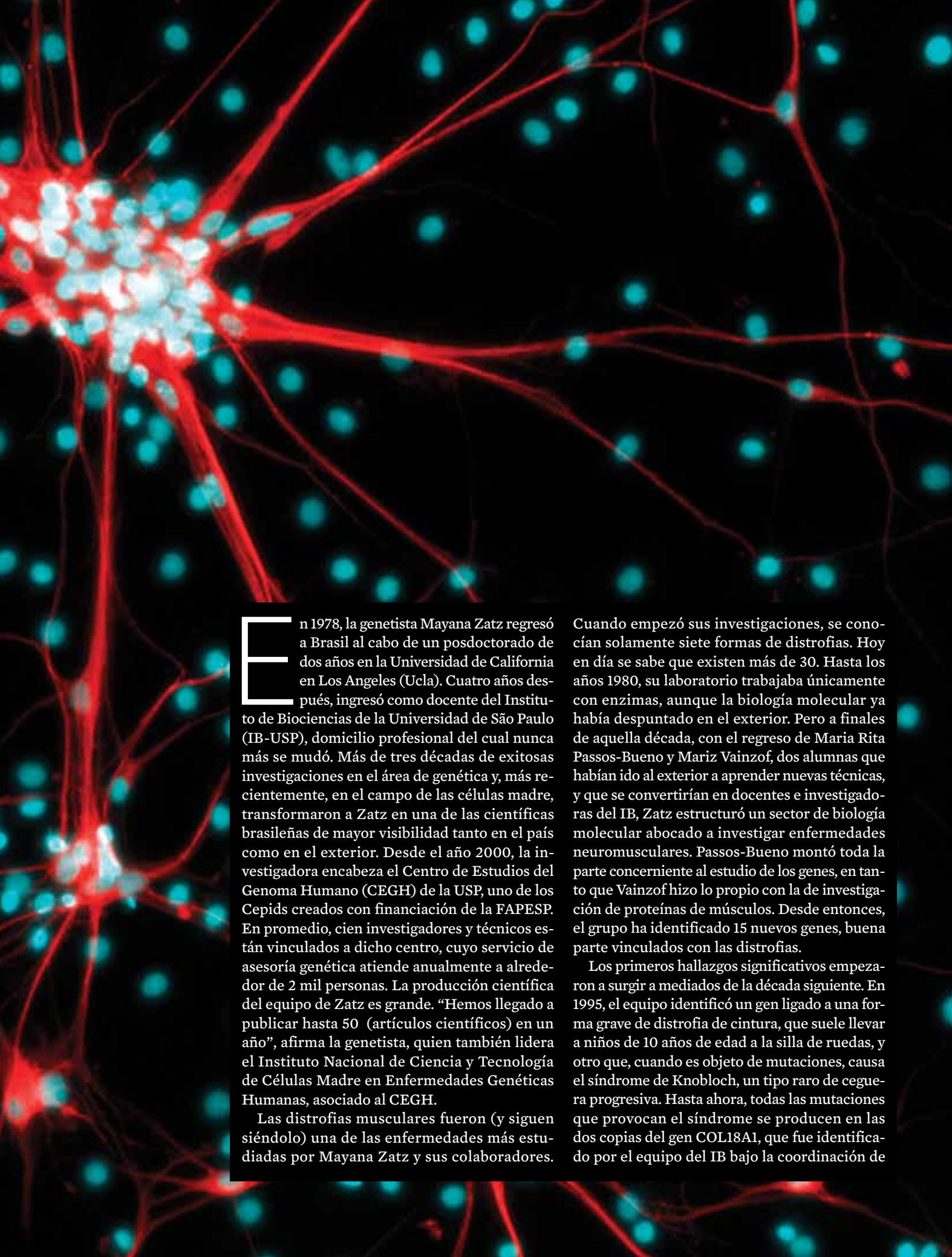
GENÉTICA HUMANA

El centro de las distrofias

Un grupo paulista identifica nuevos genes y nuevas formas de enfermedades neuromusculares en Brasil

Marcos Pivetta

Microscopia de fluorescência de células-tronco embrionárias neuronais formando redes neurais. Em vermelho a proteína tubulina e em azul o núcleo celular



En 1978, la genetista Mayana Zatz regresó a Brasil al cabo de un posdoctorado de dos años en la Universidad de California en Los Angeles (Ucla). Cuatro años después, ingresó como docente del Instituto de Biociencias de la Universidad de São Paulo (IB-USP), domicilio profesional del cual nunca más se mudó. Más de tres décadas de exitosas investigaciones en el área de genética y, más recientemente, en el campo de las células madre, transformaron a Zatz en una de las científicas brasileñas de mayor visibilidad tanto en el país como en el exterior. Desde el año 2000, la investigadora encabeza el Centro de Estudios del Genoma Humano (CEGH) de la USP, uno de los Cepids creados con financiación de la FAPESP. En promedio, cien investigadores y técnicos están vinculados a dicho centro, cuyo servicio de asesoría genética atiende anualmente a alrededor de 2 mil personas. La producción científica del equipo de Zatz es grande. “Hemos llegado a publicar hasta 50 (artículos científicos) en un año”, afirma la genetista, quien también lidera el Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología de Células Madre en Enfermedades Genéticas Humanas, asociado al CEGH.

Las distrofias musculares fueron (y siguen siéndolo) una de las enfermedades más estudiadas por Mayana Zatz y sus colaboradores.

Cuando empezó sus investigaciones, se conocían solamente siete formas de distrofias. Hoy en día se sabe que existen más de 30. Hasta los años 1980, su laboratorio trabajaba únicamente con enzimas, aunque la biología molecular ya había despuntado en el exterior. Pero a finales de aquella década, con el regreso de Maria Rita Passos-Bueno y Mariz Vainzof, dos alumnas que habían ido al exterior a aprender nuevas técnicas, y que se convertirían en docentes e investigadoras del IB, Zatz estructuró un sector de biología molecular abocado a investigar enfermedades neuromusculares. Passos-Bueno montó toda la parte concerniente al estudio de los genes, en tanto que Vainzof hizo lo propio con la de investigación de proteínas de músculos. Desde entonces, el grupo ha identificado 15 nuevos genes, buena parte vinculados con las distrofias.

Los primeros hallazgos significativos empezaron a surgir a mediados de la década siguiente. En 1995, el equipo identificó un gen ligado a una forma grave de distrofia de cintura, que suele llevar a niños de 10 años de edad a la silla de ruedas, y otro que, cuando es objeto de mutaciones, causa el síndrome de Knobloch, un tipo raro de ceguera progresiva. Hasta ahora, todas las mutaciones que provocan el síndrome se producen en las dos copias del gen COL18A1, que fue identificado por el equipo del IB bajo la coordinación de

la asociación de la enfermedad con el COL18A1, un gen ubicado en el cromosoma 21 que codifica a una proteína llamada colágeno XVIII, incluyó trabajo, paciencia y una cuota de suerte, ingredientes esenciales para el avance de la ciencia.

Al detectarse la existencia de una familia con distrofia de cintura en el municipio de Euclides da Cunha, en Bahía, las investigadoras se percataron de que había también muchos casos de ceguera entre ese grupo de personas, integrado por parejas consanguíneas. Para saber qué pasaba con estos individuos, Maria Rita Passos-Bueno fue hasta la ciudad bahiana, conversó con los familiares y extrajo material para investigar. “Una parte de la familia tiene distrofia y la otra ceguera”, recordó Maria Rita en 1997 en un reportaje del boletín *Notícias FAPESP*, el embrión de esta revista. Tal como es usual en estos casos, a todas las familias implicadas en las investigaciones del equipo de Zatz se les imparte asesoría genética a los efectos de que sepan cómo lidiar con la enfermedad y de informarles sobre el riesgo de transmitir mutaciones a eventuales nuevos hijos.

En busca de genes asociados con enfermedades neurodegenerativas, el equipo de la USP arribó a algunos resultados sorprendentes. Ése fue el caso de los trabajos con un gen denominado VAP-B, presente en el cromosoma 20. En un artículo publicado en noviembre de 2004 en la revista *American Journal of Human Genetics*, investigadores del centro paulista demostraron que una mutación en dicho gen puede causar tres tipos distintos de enfermedades degenerativas en las neuronas motoras: atrofia espinal progresiva tardía, la forma clásica de esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y una nueva variante atípica de esclerosis lateral amiotrófica a la que se le dio el nombre de ELA8. La disfunción en el gen apareció en 34 individuos pertenecientes a siete familias: 16 personas padecían atrofia espinal, 15 tenían ELA8 y tres manifestaban la forma clásica de ELA. Posteriormente se identificaron

El grupo localizó 15 nuevos genes, buena parte de ellos ligada al surgimiento de distrofias musculares

centenas de portadores de esta mutación en Brasil y también en el exterior.

Las tres afecciones son parecidas, y en ciertos aspectos se confunden. La semejanza quizá obedezca al descubrimiento de que la mutación en el gen VAP-B pueda ser la causa de las anomalías. En forma genérica, se clasifican bajo el gran paraguas de las llamadas enfermedades de las neuronas motoras. Son lesiones que afectan a las células del cerebro y/o de la médula espinal especializadas en enviar impulsos eléctricos a los músculos. Éstos se contraen o se relajan con base en mandos transmitidos por las neuronas motoras superiores (cerebro) e inferiores (médula espinal). En casos de enfermos de ELA8, los primeros síntomas suelen aparecer estimativamente durante la cuarta década de vida, y su supervivencia varía de cinco a 25 años después del diagnóstico. La principal responsable del descubrimiento y la caracterización de la nueva forma de esclerosis lateral amiotrófica, la investigadora Agnes Nishimura, quien formaba parte del centro de la USP y actualmente se desempeña como investigadora del King's College de Londres, ganó el Premio Paulo Gontijo en la categoría Medicina por sus trabajos con la enfermedad en 2007.

El equipo de Zatz sigue estudiando hasta ahora el gen VAP-B y la nueva forma de esclerosis lateral amiotrófica, y siguen surgiendo resultados interesantes. El año pasado, el mismo grupo de la USP, en colaboración con colegas brasileños y extranjeros de centros de estudios estadouni-

Los perros Ringo y Suflair: los canes tienen una mutación que causa distrofia muscular, pero sorprendentemente no manifiestan la enfermedad. Científicos de la USP están intentando encontrar genes que eviten el surgimiento de la distrofia en el pez cebra

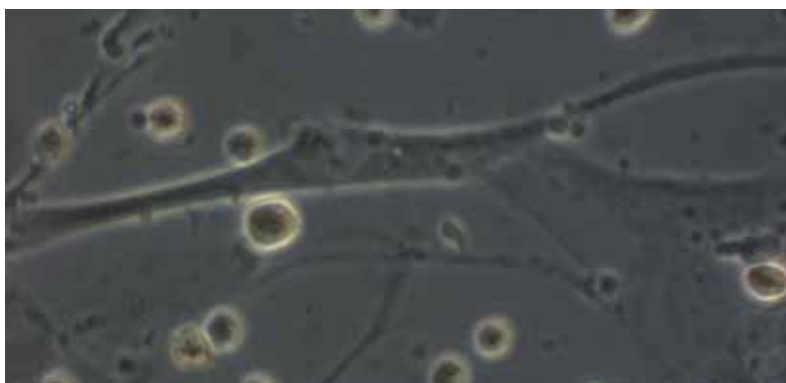


Células madre del cordón umbilical (en azul) se funden con células de paciente con distrofia muscular (en gris). La fusión (en la última imagen) es necesaria para la formación de células musculares

denses, encontró una pista del mecanismo que parece estar implicado en la destrucción de las neuronas motoras de los enfermos. Los científicos lograron generar neuronas motoras de pacientes con ELA8 y constataron que los niveles de la proteína VAP-B se encontraban más bajos en ese tipo de células. “Fue la primera vez que se hizo eso con esa forma hereditaria de esclerosis lateral amiotrófica”, dice Zatz, quien publicó un artículo con los resultados del experimento en la revista científica *Human Molecular Genetics*, en junio del año pasado. Las neuronas motoras fueron derivadas *in vitro* de células madre pluripotentes inducidas (iPSC, por sus siglas en inglés) que, a su vez, habían sido generadas a partir de un tipo de células de la piel, los fibroblastos, provenientes de pacientes con la enfermedad, y se las comparó con las de sus parientes normales.

Spoan y golden retriever

En 2005, en un logro cada vez más difícil de obtenerse al hacer investigación genética, un equipo del centro y del Hospital de Clínicas de la USP descubrió una nueva enfermedad neurodegenerativa, denominada síndrome Spoan (en inglés, este nombre significa *spastic paraplegia, optic atrophy and neuropathy*), en una pequeña ciudad del interior de Rio Grande do Norte llamada Serrinha dos Pintos, donde se registran muchos casamientos entre personas emparentadas. Tan pronto como tuvieron la certeza de que se trataba de una condición clínica inédita en la literatura científica, originada en una mutación genética que se manifiesta debido a los casamientos consanguíneos entre primos, los investigadores de la USP iniciaron un trabajo de divulgación sobre la patología y de nociones de genética entre los 4.300 habitantes del municipio norteño. La descripción de la patología hasta entonces desconocida salió en la revista estadounidense *Annals of Neurology*. “Examinamos a pacientes de distintas edades con el síndrome, de los 10 a los 63 años”, declaró en la oportunidad la bióloga Silvana Santos, principal responsable del descubrimiento de la inédita patología, a la revista *Pesquisa FAPESP*. “Pudimos ver la evolución de la enfermedad. Con el tiempo, las personas se van cerrando, como una flor.”



Sin cura, la dolencia en sí no es fatal y mantiene intacta la capacidad cognitiva de los afectados. No provoca retraso mental, dolor o sordera. Pero sus efectos sobre la calidad de vida de los afectados, que se convierten en discapacitados físicos, son devastadores, sobre todo en poblaciones rurales y carentes de servicios de salud, tal como es el caso de Serrinha dos Pintos. Antes del trabajo de los investigadores, los pobladores locales adjudicaban el origen de la enfermedad a una sífilis hereditaria que se habría propagado por la sangre de la familia desde un ancestro mujeriego. Los pies se tuercen hacia afuera y la cabeza se cae; y los enfermos terminan en sillas de ruedas.

No se sabe todavía en qué gen se encuentra la mutación que causa la enfermedad. Pero los científicos analizaron muestras de ADN de decenas de familiares que viven en la localidad, tanto enfermos como sanos, y los resultados de los estudios apuntan que el gen de la Spoan se

encuentra en una región del cromosoma 11. El problema radica en que, siete años después del descubrimiento de la nueva afección, los esfuerzos no han redundado aún en la localización del gen responsable del síndrome.

Pero noticias más alentadoras surgieron de un estudio reciente con dos perros de la raza golden retriever: Ringo, de 9 años, y su hijo Suflair, de 6 años. Los canes parecen portar genes o mecanismos protectores que neutralizan total o parcialmente los efectos negativos de la mutación causante de la distrofia muscular. Los dos animales cargan la alteración genética asociada a la dolencia, que les impide producir distrofina, una proteína esencial para la manutención de la integridad de los músculos. No obstante y sorprendentemente, ninguno de los dos exhibe los síntomas clásicos de la distrofia, tales como la dificultad para caminar y deglutir, y actualmente deberían estar muertos de haber desarrollado la enfermedad. Recientemente, Ringo tuvo un cáncer de próstata, algo que no guarda relación con la falta de distrofina y es normal para un animal de su edad. Suflair tampoco manifiesta señales

En la silla de ruedas va un enfermo del síndrome Spooan: una nueva enfermedad neurodegenerativa descubierta en la localidad de Serrinha dos Pintos (Rio Grande do Norte) por el equipo del CEGH de la USP



de distrofia. Únicamente arrastra un poco las patas traseras. Pero sus hermanos no corrieron igual suerte: murieron días después de nacer o terminaron desarrollando una distrofia muscular severa.

En el marco de un experimento realizado en colaboración con el laboratorio de Sergio Verjovski-Almeida, del Instituto de Química de la USP, los investigadores observaron que algunos genes de los canes asintomáticos se expresaban (se activaban) menos que los de los animales enfermos. “Nuestra hipótesis indica que esa menor expresión de dichos genes puede conferirles alguna forma de protección a los perros, y esto a lo mejor puede ser importante para hallar una forma de combatir a la enfermedad”, afirma Mayana Zatz. “Estamos rompiendo un paradigma y demostrando que no siempre la falta de esa proteína desemboca en una distrofia. La cuestión ahora consiste en descubrir qué hacen los genes protectores”. En esta tarea, se ha echado mano también del pez cebra, el pez modelo de la biología.

Durante la década pasada, junto a los estudios genéticos más tradicionales, Zatz abocó una parte de los esfuerzos del CEGH a las investigaciones con células madre. “Como somos un Cepid, contábamos en ese momento con una gran agilidad administrativa y financiera como para ingresar muy rápidamente en el área”, comenta la genetista, quien también tomó parte activamente en los últimos años, en la lucha por la reglamentación de las investigaciones en ese sector en Brasil. Y no pasó mucho tiempo para que aparecieran los primeros resultados. En un trabajo de 2009, investigadores del centro y también del equipo de Sergio Verjovski-Almeida, del IQ-USP, reunieron indicios de que las células madre presentes en la sangre del cordón umbilical y en la pared del cordón, tejidos que pueden almacenarse para casos de futuras necesidades terapéuticas, tienen perfiles genéticos distintos. En 2008, el equipo había demostrado que el cordón es mucho más rico que la sangre en células madre mesenquimales, un tipo especial de células con potencial para formar varios tejidos. La particularidad de cada tipo puede tener efectos sobre el uso médico de esas células en caso de que se compruebe que las diferencias genéticas representan una disminución de su versatilidad.

En abril del año pasado, biólogos del CEGH, en el marco de un trabajo coordinado por Oswaldo Keith Okamoto, y neurocientíficos de la Universidad Federal de São Paulo (Unifesp), publicaron un estudio en la revista científica *Stem Cell Reviews and Reports* mostrando que, en ratas con Parkinson inducido, la presencia de fibroblastos humanos anula los posibles efectos positivos de

un implante de células madre mesenquimales extraídas del tejido del cordón umbilical de recién nacidos.

El Proyecto 80+

“Cuando les administramos solamente células madre, las ratas mejoraron con respecto a los síntomas de la enfermedad”, dice Zatz. “Pero cuando les inyectamos también fibroblastos, los efectos benéficos desaparecieron y se registró incluso una desmejora. Es posible que muchos malos resultados que se desprenden de trabajos científicos con terapias celulares obedezcan a este tipo de contaminación”. Los fibroblastos corresponden a un tipo de células de la piel muy parecido a algunas células madre, pero con propiedades totalmente distintas. Se los emplea a menudo como fuente de células madre pluripotentes inducidas (iPSC), que tienen propiedades parecidas a las de las células madre embrionarias.

Aparte de representar un avance en el conocimiento básico sobre los eventuales beneficios de las terapias celulares en un órgano tan complejo y delicado como el cerebro, el resultado de este trabajo sirvió como un alerta a los familiares de personas con Parkinson. No existe, en ningún país del mundo, un tratamiento oficialmente aprobado a base de células madre para combatir ésta u otras enfermedades neurodegenerativas. “Hay que observar con cuidado las investigaciones con células madre y no crearse falsas expectativas de cura”, afirmó otro autor del artículo, el neurocientífico Esper Cavalheiro, de la Unifesp, quien encabeza los trabajos del Instituto Nacional de Neurociencia Traslacional, un proyecto conjunto de la FAPESP y el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MCTI). “Antes de proponer terapias debemos entender el mecanismo completo de diferenciación de las células madre en los diversos tejidos del organismo y comprender cómo hace el cerebro para ‘conversar’ y orientar la acción de esas células”. Hasta ahora, las únicas enfermedades que cuentan con tratamiento a base de células madre son las de la sangre, especialmente los cánceres (leucemias). Contra este tipo de problema, los médicos echan mano desde hace décadas del trasplante de médula ósea, rica en células madre hematopoyéticas, las precursoras

El centro mapeará el genoma de octogenarios en busca de los genes que favorecen un envejecimiento más saludable

de la sangre.

Por cierto, el Parkinson es una de las enfermedades que pueden estar en la mira con el más reciente proyecto del CEGH. Se trata de la iniciativa 80+, que comenzó el año pasado y tiene como objetivo secuenciar el genoma completo de mil personas con más 80 años que se encuentren bien de salud, a fin de descubrir eventualmente genes u otros factores favorables en el proceso de envejecimiento con buena calidad de vida. En el CEGH se está estructurando un banco de datos con el genoma de los octogenarios. Ya se han extraído muestras de ADN de 400 octogenarios sanos que se las confrontará con el material genético de otras mil personas sanas y enfermas de más de 60 años. Mediante este abordaje, Zatz espera identificar, por ejemplo, mutaciones en genes que puedan ayudar a los médicos en los pronósticos sobre el futuro de sus pacientes.

De comprobarse que todos o buena parte de los octogenarios sanos tiene una determinada alteración genética que se mostró inocua o de efecto despreciable a largo plazo, por ejemplo, no habrá necesidad de que un sexagenario o una persona más joven sana se alarmen si esa misma mutación se les detectase. Probablemente, la alteración no será deletérea para esos individuos, como así también no lo fue para aquéllos de 80 años. “La tecnología de secuenciación de un genoma se está volviendo cada vez más barata”, comenta Zatz, quien cuenta en calidad de colaboradoras en esta iniciativa con Maria Lucia Lebrão y Yeda Duarte, de la Facultad de Salud Pública de la USP, expertas en envejecimiento. “Este abaratamiento hará posible que analicemos una gran cantidad de muestras”. El proyecto 80+ también analizará la actividad cerebral de personas de más de 60 años mediante exámenes de resonancia magnética, en el marco de un convenio con el Instituto Israelita de Enseñanza e Investigación Albert Einstein. ■

El proyecto

Centro de Estudios do Genoma Humano - nº 1998/ 14254-2 (2000-2012); **Modalidad** Programa Centros de Investigación (Cepid); **Coordinadora** Mayana Zatz –IB-USP; **Inversión** R\$ 34.412.866,53.

Artículos científicos

1. NIGRO, V. *et al.* Autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy, LGMD2F, is caused by a mutation. **Nature Genetics**. v. 14, n. 2, p. 195-98, 1996.
2. NISHIMUARA, A.L. *et al.* A mutation in the vesicle-trafficking protein VAPB causes late-onset spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. **Am. J. Human Genet.** v. 75, n. 5, p. 822-31, 2004.
3. SECCO, M. *et al.* Multipotent stem cells from umbilical cord: cord is richer than blood! **Stem Cells**. v. 26, n. 1, p. 146-50, 2008.

De nuestro archivo

La fragilidad de las células madre, Edición nº 183 – mayo de 2011; *Sponan: descubierta una nueva enfermedad*, Edición nº 113 – julio de 2005.