

Mutaciones Inestables: causa de algunas enfermedades neurológicas hereditarias

Patricia Cuenca Berger*; Fernando Morales Montero*

Las mutaciones inestables o amplificación de tripletas constituyen un tipo de alteración genética descubierto durante la última década. En condiciones normales, regiones específicas de algunos genes están constituidas por repeticiones de una tripleta de nucleótidos como por ejemplo CAG, CGG, etc. Este nuevo tipo de mutación consiste en un aumento en la cantidad de estas repeticiones lo que causa una alteración en la expresión de dichos genes. Se les llama inestables porque se ha observado que el tamaño de la secuencia repetida varía cuando las células se dividen por meiosis o por mitosis. Esto tiene implicaciones sobre la herencia de la enfermedad y el consiguiente consejo genético y explica, en alguna medida, el carácter degenerativo de estas patologías. Se han encontrado estas mutaciones dentro o cerca de genes importantes para la función neurológica normal del ser humano. La presencia de la amplificación puede causar la inactivación del gen, alterar el transporte de los ARNm desde el núcleo al citoplasma o provocar la síntesis de un nuevo producto con funciones diferentes a la proteína original.

Algunas características comunes de las enfermedades causadas por estas mutaciones son que afectan el sistema nervioso y son degenerativas. La expresión de las manifestaciones clínicas depende de la edad. En su mayoría presentan el fenómeno de anticipación genética, en el cual las manifestaciones clínicas son más severas y se inician a edades más tempranas a través de las generaciones en una misma familia. La severidad de los síntomas correlaciona en la mayoría de los casos en forma positiva con la cantidad de repeticiones de la tripleta correspondiente.

La aparición de un individuo afectado en una familia puede indicar la presencia de familiares asintomáticos que porten el gen alterado, ya sea porque es de manifestación tardía, o porque son portadores de premutaciones. El diagnóstico molecular de estas mutaciones permite estimar el riesgo que tiene de desarrollar el cuadro clínico, de procrear individuos afectados y eliminar los temores de los familiares sanos que han heredado copias normales del gen.

Descriptor: *mutaciones inestables, amplificación de tripletas, sitio frágil del cromosoma X, Corea de Huntington, ataxias, distrofia miotónica, anticipación genética.*

Hasta la década de los ochenta, las mutaciones en el ADN responsables de causar enfermedades genéticas en el ser humano que se habían descrito eran:

Abreviaturas: ADPSP: Paraplegia espástica pura autosómica dominante. AF: Ataxia de Friedreich. CH: Corea de Huntington. DM: Distrofia miotónica. DRPLA: Atrofia dentatorubral palidoluisiana. FRAXA: Síndrome del cromosoma X frágil (FMR1). FRAXE: Cromosoma X frágil E (FMR2). OPMD: Distrofia muscular oculofaríngea. SBMA: Atrofia muscular y bulbar. SCA1: Ataxia espinocerebelar 1. SCA2: Ataxia espinocerebelar 2. SCA3: Ataxia espinocerebelar 3. SCA6: Ataxia espinocerebelar 6.

* Instituto de Investigaciones en Salud y Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

Correspondencia: Patricia Cuenca Berger. INISA, UCR. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. San José, Costa Rica. E-mail: pcuencia@cariari.ucr.ac.cr

- cambios de un nucleótido por otro lo que puede causar la sustitución de un aminoácido por otro en la proteína respectiva o la terminación prematura de la síntesis proteica (cambio de un codón codificante por un aminoácido por un codón de terminación),
- pérdida de uno o varios nucleótidos (llamadas deleciones), provocando un cambio en el encuadre de lectura del mensaje genético y/o una proteína más corta,
- ganancia de uno o más nucleótidos (llamadas inserciones), produciendo también un cambio en el encuadre de lectura y/o una proteína más larga.

El efecto funcional de estas mutaciones depende de la región del gen afectada (codón de iniciación, codón de terminación, un intrón, uno o varios exones, las regiones reguladoras, etc.) (Figura 1) y del dominio de la proteína que varíe.

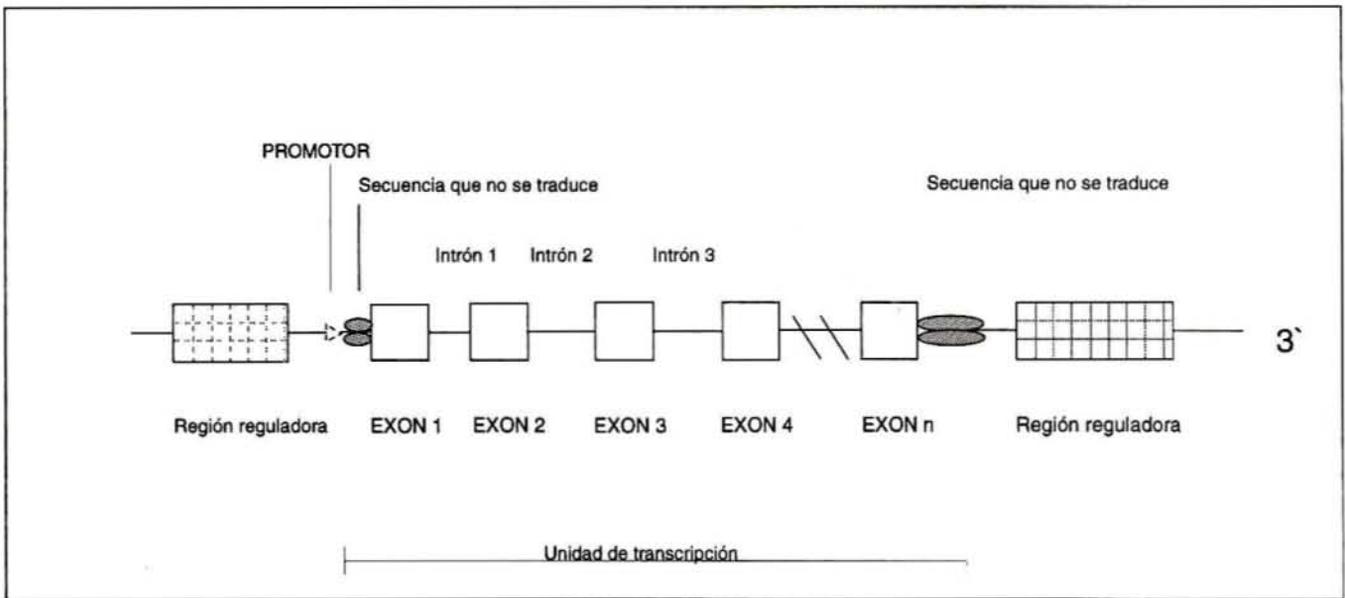


Figura 1. Esquema sencillo de un gen humano.

Se representa un segmento de molécula de ADN con las secuencias más importantes que forman parte de un gen estructural:

-  *Regiones reguladoras: son secuencias de reconocimiento para los factores de transcripción, ya sea para estimular o inhibir la síntesis del ARN. Pueden estar localizados antes, después o dentro de un gen.*
 -  *Promotor: es la secuencia donde la enzima ARN polimerasa tiene un sitio de anclaje para comenzar la transcripción.*
 -  *Exón: es una secuencia que se transcribe al ARN y es traducida a una cadena polipeptídica.*
 -  *Intrón: es una secuencia que se transcribe a la cadena de ARN, pero es eliminada en el proceso de maduración del ARN mensajero.*
- La maduración puede ocurrir en forma diferencial: es decir que el mismo gen puede producir polipéptidos diferentes según el tejido donde se esté expresando, dependiendo de cuales secuencias sean eliminadas durante este proceso.*
-  *Secuencias que no se traducen: son segmentos que se transcriben a ARN.*
- En el hombre existe una gran variabilidad con respecto al tamaño y la organización génica.*

Un nuevo tipo de mutación descrito en la presente década consiste en la amplificación de tripletas o trinucleótidos en alguna región del gen responsable de la patología. Hasta el momento se han descrito trece enfermedades¹⁻¹⁰ con este defecto genético. Algunos autores las agrupan según el tipo de tripleta que se repite y según la alteración en la función del gen. El grupo 1 está conformado por aquellas enfermedades asociadas con la amplificación de la tripleta CAG, (citosina, adenina, guanina) la cual causa repeticiones del aminoácido glutamina en el polipéptido respectivo. A este grupo pertenecen la Corea de Huntington, las ataxias espinocerebelares tipo 1, 2, 3 y 6, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentatorubral-palidoluisiana^{1,2} y la paraplejía espástica pura autosómica dominante, recientemente descrita.⁷ Se caracterizan por presentar pérdida neuronal progresiva en diferentes grupos de neuronas dependiendo de la patología. El grado de pérdida neuronal es función de la edad y del tamaño de la expansión de la tripleta (Figura 2).

En el grupo 2, donde se clasifican el síndrome del cromosoma X frágil tipo A (FRAXA), el síndrome del cromosoma X frágil tipo E (FRAXE), la distrofia miotónica y la ataxia de Friedreich, la tripleta que se repite es diferente en cada caso, y más bien se localiza en regiones no codificantes de los genes. Estas enfermedades presentan una patología multisistémica, afectando diferentes órganos en cada caso (Figura 3).^{5,8,11-13}

En este momento habría que agregar un grupo 3, únicamente con la distrofia muscular oculofaríngea, en la cual el trinucleótido que se repite es GCG (guanina, citosina, guanina) en una región codificante de un gen cuyo producto es un polipéptido con algunas unidades adicionales del aminoácido alanina.³

A continuación se hará un resumen con los aspectos más importantes de estas patologías. Las más frecuentes en nuestra población son las que deberían tener prioridad en un programa de diagnóstico molecular y consejo genético.

1. GRUPO 1

1.1 Corea de Huntington (CH)

Su frecuencia se estima en 1:10 000, es de herencia autosómica dominante y se caracteriza por un deterioro de las capacidades cognitivas, rigidez y corea. Típicamente se manifiesta entre los 30 a 40 años de edad, aunque se han observado casos entre los 2 y los 90 años. El rango normal de repeticiones de la tripleta CAG es de 6 a 34 repeticiones en los individuos sanos, y en los afectados se han descrito amplificaciones desde 36 hasta 121. La repetición CAG se ve interrumpida por una penúltima tripleta CAA (citosina, adenina, adenina) tanto en los alelos normales como en los mutados. La mutación se localiza en la región codificante del gen IT15 en el brazo corto del cromosoma⁴ que produce la proteína citoplasmática huntingtina. Las regiones amplificadas son meióticamente inestables, con un riesgo mayor de expansión en la espermatogénesis que en la ovogénesis. La expresión juvenil se asocia a transmisión por linaje paterno. Existe una correlación inversa entre la edad de manifestación y la longitud de la mutación. El hecho de que se hayan encontrado casos esporádicos de expansiones de 30-38 repeticiones ocurridas en la meiosis de hombres sanos, hace pensar en la existencia de genotipos con una premutación como ocurre en FRAXA. Una premutación se define como una amplificación que no causa patología al individuo que la porta pero que

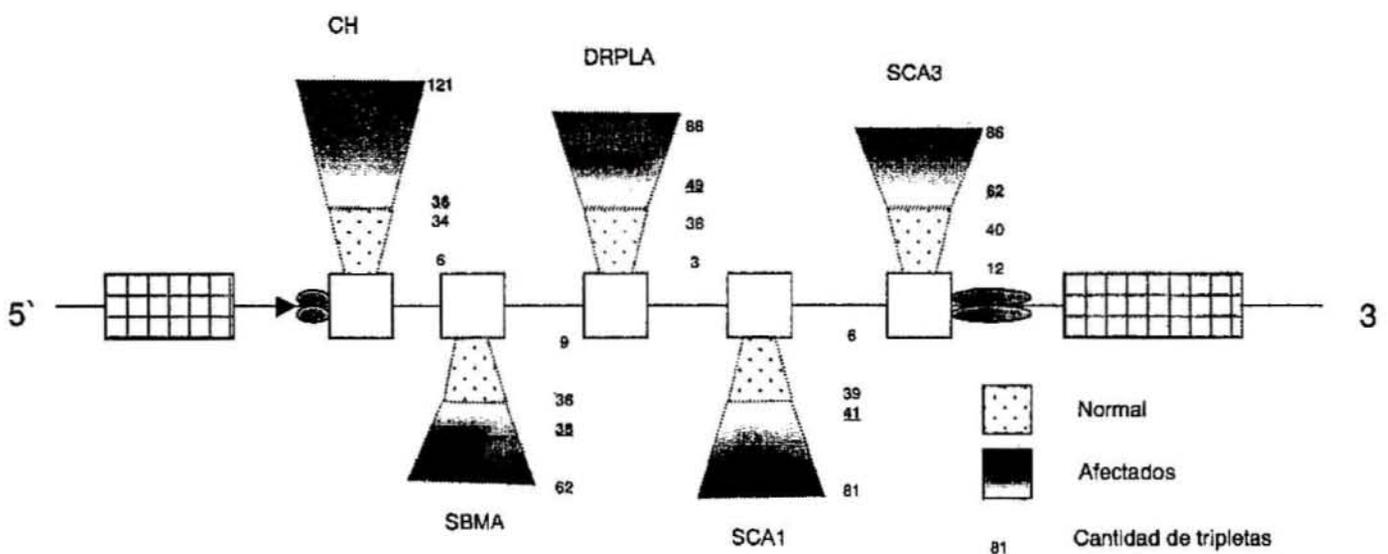


Figura 2. Se muestran las expansiones dentro de un modelo de gen para efectos de comparación, pero la localización de cada una de ellas en el genoma se indica en cuadro resumen. En todos los casos las expansiones son del trinucleótido CAG. La cantidad de repeticiones está indicada por los números a la derecha de cada expansión. El número mínimo de expansiones asociado a la expresión fenotípica de la enfermedad está subrayado.

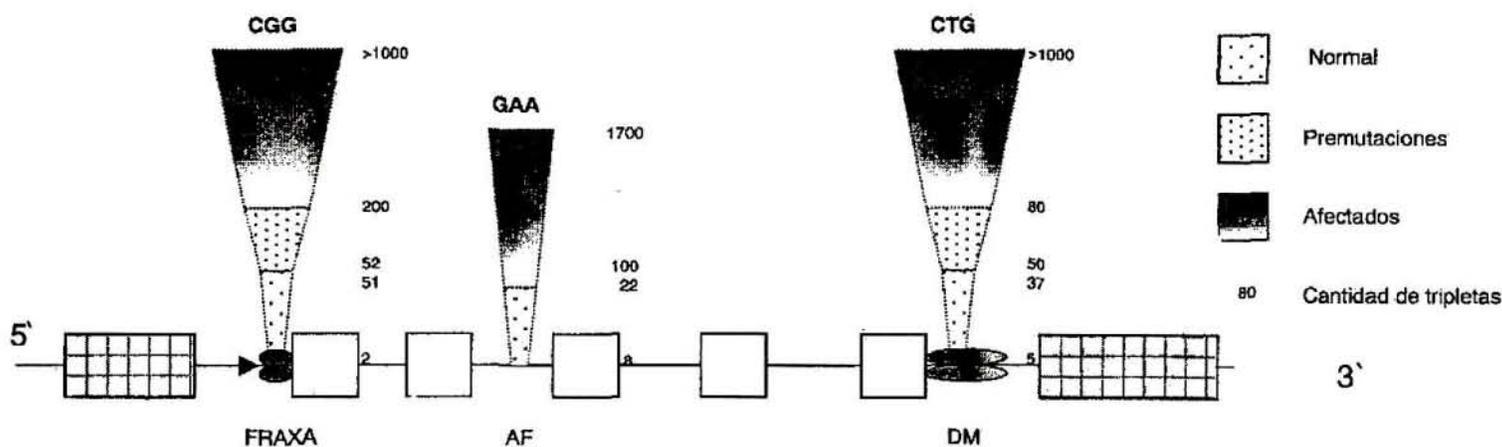


Figura 3. Esquema de las repeticiones de trinucleótidos del tipo 2. Se muestra la cantidad y localización de las repeticiones dentro de un modelo de gen para efectos de comparación, pero la localización de cada una de ellas en el genoma se indica en el cuadro resumen. Se indica el tipo de triplete en la parte superior y en la parte inferior la abreviatura de la enfermedad.

aumentan el riesgo de sufrir una amplificación mayor y afectar a la descendencia. Las manifestaciones se explican por pérdida neuronal en el núcleo caudado y putamen.^{1,2,11,14-16}

1.2 Atrofia muscular espinal y bulbar (SBMA) o enfermedad de Kennedy

Es de herencia recesiva ligada al cromosoma X. La amplificación CAG se encuentra en el gen para el receptor de los andrógenos, localizado en el brazo largo del cromosoma X. Se estima una frecuencia de 1:50 000 en los varones. El número de repeticiones CAG en individuos normales varía entre 9 hasta 36 y no se han encontrado tripleteas intercaladas. Los pacientes tienen entre 38 y 62 repeticiones. Se produce una cadena de poliglutamina en una región del receptor de los andrógenos que no está directamente involucrada en la interacción de la proteína con la hormona o con el ADN. Existe correlación entre el número de repeticiones y la severidad de la enfermedad. La inestabilidad meiótica es mayor en la espermatogénesis que en la ovogénesis. Es una neuropatía motora de aparición en el adulto (30-50 años). Sus principales características clínicas son: debilidad muscular proximal, fasciculaciones, disfunción muscular bulbar, disfagia, insensibilidad moderada a los andrógenos, ginecomastia, fertilidad reducida y atrofia testicular. En la autopsia se encuentra degeneración de las neuronas motoras inferiores y pérdida de los núcleos motores del tallo cerebral.^{1,2,6,8,12}

1.3 Ataxias Espinocerebelares Tipo I (SCA1), Tipo 2 (SCA2), Tipo 3 (SCA3) o enfermedad de Machado Joseph, Tipo 6 (SCA6)

Las ataxias espinocerebelares son un grupo de padecimientos con algunas características genéticas y clínicas semejantes, aunque el defecto molecular se localiza en genes diferentes (Cuadro 1). Son autosómicas dominantes, con frecuencias menores que 1:100 000.

1.3.1 SCA1: Sus principales manifestaciones son disartria, disfagia, oftalmoparesis, debilidad muscular y neuropatía periférica. Es progresiva y puede manifestarse entre los 4 y los 70 años. Las repeticiones CAG se localizan en la región codificante del gen SCA1 localizado en el brazo corto del cromosoma 6. Este gen codifica por la proteína ataxina-1, la cual se ha encontrado en el núcleo de las neuronas, en el citoplasma de las células musculares, y en el núcleo y citoplasma de las células de Purkinje. Los individuos normales pueden tener entre 6 y 39 repeticiones, las cuales se ven interrumpidas de una a tres veces por una tripletea CAT (citosina, adenina, timina). Los pacientes tienen entre 41 y 81 repeticiones de solo CAG. Los casos de expresión juvenil son transmitidos por línea paterna. En cambio, en un 69% de las transmisiones maternas ocurren contracciones o no hay variación en el tamaño. Una contracción significa que en lugar de producirse un aumento en el tamaño de la amplificación, se produce una reducción en el número de repeticiones. Las autopsias muestran pérdida de las células de Purkinje de la corteza cerebelar, atrofia del tallo cerebral y pérdida neuronal en el cerebelo.^{1,2,6,8,11}

1.3.2 SCA2: Se manifiesta con ataxia cerebelar progresiva, disartria, atrofia óptica, pérdida de la sensibilidad periférica, signos piramidales y demencia. La amplificación CAG se localiza en la región codificante del gen para la ataxina-2 en el brazo largo del cromosoma 12. Los individuos normales poseen entre 14 y 32 repeticiones, con tripleteas CAA intercaladas, mientras que los pacientes tienen entre 34 y 77 de solo CAG. La manifestación fenotípica puede darse entre los 2 y los 65 años de edad, aunque en el 45% de los casos ocurre antes de llegar a los 25. Existe una correlación inversa importante entre la edad de inicio y el tamaño de la amplificación. Hasta el momento no se ha encontrado asociación entre la severidad del fenotipo y el sexo del padre que está transmitiendo la amplificación.^{1,2,8,12}

1.3.3 SCA3 o enfermedad de Machado Joseph: Los pacientes presentan ataxia cerebelar, neuropatía periférica,

Cuadro 1
Enfermedades neurológicas causadas por mutaciones inestables

	Localización	Tripleta	No. Repeticiones	Anticipación	Posición	Herencia
GRUPO 1						
CH	4p16.3	CAG	6-34 NL 36-121 ENF	si	Codifica	AD
SCA-1	6p23	CAG	6-39 NL 41-81 ENF	si	Codifica	AD
SCA-2	12q23	CAG	14-32 NL 62-86 ENF	si	Codifica	AD
SCA-3	14q32	CAG	12-40 NL 62-86 ENF	si	Codifica	AD
SCA-6	19p13	CAG	4-18 NL 21-30 ENF	si	Codifica	AD
SBMA	Xq12	CAG	9-36 NL 38-62 ENF	si	Codifica	AD
DRPLA	12pter-p12	CAG	3-36 NL 49-88 ENF	si	Codifica	AD
ADPSP	2p21-p24	CAG	>60 ENF	si	Codifica	AD
GRUPO 2						
FRAXA	Xq27.3 200-1000 ENF	CGG	2-51 NL 52-200 PM	si	5'NC	X
FRAXE	Xq28 > 200 ENF	GCC	6-25 NL 26-200 PM	si	?NC	X
DM	19q13.3 >1000 ENF	CTG	5-37 NL 50-80 PM	si	si	AD
A F	8-22 NL 9q13	GAA	100- 1700 ENF	no	Intrón 1	AR
GRUPO 3						
OMPD	6 NL 14q11 >7 ENF	GCG AD	7 HC	?	codifica	AR

NL: normal, PM: premutación, ENF: afectados, A D: autosómica dominante, A R: autosómica recesiva, X: ligada al cromosoma X, 3'NC: extremo 3' no codificante del gen, 5' NC: extremo 5' no codificante del gen.

fasciculaciones faciales y linguales y oftalmoplejía externa. La autopsia muestra degeneración de las neuronas de la sustancia nigra, del núcleo dentado del cerebelo, del tracto espinocerebelar y piramidal de la médula espinal y de neuronas periféricas. La amplificación del trinucleótido CAG ocurre en la región codificante de un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 14. El número de repeticiones en las personas normales varía entre 12 y 40 sin tripletas intercaladas descritas. En los pacientes se han observado entre 62 y 86 repeticiones. Amplificaciones entre las 41 y 62 repeticiones no han sido descritas. Las mutaciones más severas se transmiten por línea paterna.^{1,2, 8, 9, 12, 17}

1.3.4 SCA6: Las principales manifestaciones son ataxia cerebelar progresiva de las extremidades, disartria, nistagmus y leve pérdida sensorial propioceptiva. La enfermedad progresa durante 20 a 30 años hasta la pérdida completa de la marcha, por lo que los pacientes se ven confinados a una silla de ruedas. Las imágenes de resonancia magnética muestran atrofia cerebelar aislada. Las repeticiones CAG se encuentran en la región codificante para el gen del canal de calcio (2+) alfa 1A - dependiente de voltaje, localizado en el brazo corto del cromosoma 19. Las personas normales tienen entre 4 y 18 repeticiones y los pacientes afectados entre 21 y 30.^{1,12,16}

1.4 Atrofia dentatorubral palidoluisiana (DRPLA) o epilepsia mioclónica con coreoatetosis

Es de herencia autosómica dominante. Las repeticiones CAG se encuentran en la región codificante del gen para la atrofina-1 localizado en el extremo del brazo corto del cromosoma 12. La repetición muestra una variación normal en la población de entre 3 y 36 sin tripletas intercaladas. Los pacientes tienen entre 49 y 88 repeticiones. Se ha encontrado con una frecuencia de 1:1 000 000 en la población japonesa. Sus principales manifestaciones son ataxia cerebelar, coreoatetosis y demencia, y en menores de 20 años, epilepsia mioclónica progresiva y retardo mental. La transmisión es más frecuente por linaje paterno. La fisiopatología incluye atrofia del núcleo dentado del cerebelo con proyecciones al núcleo rojo, atrofia del segmento lateral del globus pallidus y sus proyecciones al núcleo subtalámico.^{1,2,10,12}

1.5 Paraplejía espástica pura autosómica dominante (ADPSP)

Recientemente se describió en Dinamarca, la presencia de una amplificación CAG en un grupo de 21 pacientes con paraplejía espástica pura. La amplificación está localizada en el brazo corto del cromosoma 2. Se estima que los pacientes tienen una cantidad de trinucleótidos mayor o igual a 60. Se sabe que el gen se transcribe y se traduce, ya que se ha detectado la proteína conteniendo poliglutamina en estos pacientes.⁷ Es una enfermedad degenerativa del sistema central motor, que se caracteriza por espasticidad en las piernas, hiperreflexia y signo de Babinski. Es de presentación tardía, con variación inter e intrafamiliar y anticipación genética.^{7,12}

2. Grupo 2

2.1 Síndrome del cromosoma X frágil (FRAXA)

Es dominante ligado al cromosoma X con penetrancia incompleta (no todos los individuos con la mutación manifiestan la enfermedad) y expresión variable (variación en los síntomas y signos de los pacientes afectados). Constituye el retardo mental hereditario más frecuente: se estima una prevalencia de 1:1500 en varones y 1:2500 en mujeres. Los pacientes con la mutación completa presentan retardo mental y alteraciones de la conducta, rostro alargado con frente prominente y orejas largas, así como macroorquidismo. El trinucleótido que se repite es el CGG (citosina, guanina, guanina), en una región no codificante del gen FMR1 localizado en la porción terminal del brazo largo del cromosoma X. Se han descrito tres rangos de repetición: el rango normal entre 2 y 51 repeticiones, el rango de la premutación entre 52 y 200, presente en individuos con una alta probabilidad de tener hijos afectados con la mutación completa, y el rango de la mutación completa entre 200 y más de 1.000 repeticiones, presente en los afectados. La amplificación promueve la metilación de las citosinas, tanto del segmento repetido, como de

la región reguladora del gen FMR1, por lo cual no hay expresión del gen. Las expansiones a mutación completa tienen transmisión materna, mientras que las contracciones de los alelos premutados son más frecuentes en los padres. La probabilidad de que ocurra una amplificación a mutación completa depende de la subestructura de la región repetida: repeticiones ininterrumpidas de CGG son más inestables, en tanto que aquellas repeticiones con trinucleótidos AGG (adenina, guanina, guanina) intercalados son más estables.^{2,8,11,13}

La proteína FMR1 o FMRP interactúa con el ARNm, parece formar parte de los ribosomas y se encuentra en el 4% de los mensajes del cerebro humano fetal, también se expresa en ovarios y testículos. Se ha detectado tanto en el citoplasma como en el núcleo.

2.2 Síndrome del cromosoma X frágil E (FRAXE)

Es un tipo de retardo mental de herencia dominante ligado al cromosoma X. Representa aproximadamente el 3% de los casos citogenéticamente positivos para un sitio frágil en el cromosoma X. Se trata de una amplificación del trinucleótido GCC (guanina, citosina, citosina) en el brazo largo del cromosoma X, cerca del gen que causa FRAXA. Los individuos normales presentan de 6 a 25 copias y los pacientes más de 200, además de tener también metilada la región reguladora. Se transmite tanto por linaje paterno como materno, aunque los casos más severos se transmiten por vía materna.¹²

Se ha identificado un gen, FMR2, que se transcribe distal a la región reguladora de FRAXE. La proteína tiene homología con el producto del gen MLLT2, el cual se ha encontrado en diferentes tejidos cerebrales del adulto y también en tejido placentario.^{8,11,12,18}

2.3 Distrofia Miotónica (DM)

De herencia autosómica dominante con expresión variable, es la enfermedad muscular más frecuente en el adulto, con incidencias diferentes en distintos grupos étnicos. Se estima de 1:20000 en japoneses, hasta de 1:475 en ciertas regiones de Canadá, siendo extremadamente rara en africanos negros. El trinucleótido que se repite es el CTG (citosina, timina, guanina) en una región no codificante del gen DMPK localizado en el brazo largo del cromosoma 19, el cual codifica para la miotonina. Es una enfermedad multisistémica, caracterizada por miotonia, desgaste y debilidad muscular progresiva, calvicie frontal, cataratas, problemas respiratorios, hipogonadismo, arritmias cardíacas producidas por defectos en el sistema de conducción del músculo cardíaco y atrofia testicular. Típicamente se manifiesta en la tercera o cuarta década pero puede ocurrir en forma congénita con síntomas mucho más severos y una alta tasa de mortalidad perinatal.

La mutación presenta inestabilidad somática ya que se ha observado que el tamaño de la expansión varía en diferentes tejidos del

mismo individuo,¹⁹ y meiótica. La forma congénita se produce generalmente por segregación materna. La disminución en el número de repeticiones es más frecuente en la espermatogénesis. Es el ejemplo clásico de anticipación genética.⁵

2.4 Ataxia de Friedreich (AF)

Es la ataxia hereditaria más común, se hereda en forma autosómica recesiva, con una frecuencia de 1:50.000 en europeos. La amplificación en este caso es del trinucleótido GAA (guanina, adenina, adenina) en el primer intrón del gen de la frataxina, localizado en el brazo largo del cromosoma 9. El rango normal de repeticiones GAA en este gen va de 8 a 22. Estudios de grandes grupos de pacientes han mostrado que el tamaño de la amplificación puede variar desde 120 a 1700 repeticiones. El tamaño del alelo más pequeño correlaciona con la edad de manifestación de la enfermedad e inversamente con su tasa de progresión. La función de esta proteína es desconocida, aunque se postula que, al igual que en FRAXA, las manifestaciones clínicas son producidas por la pérdida de la expresión del ARNm y de la proteína. Debido a que se han descrito pacientes con formas leves de la enfermedad y amplificaciones pequeñas del alelo de menor tamaño, se postula que cuando las amplificaciones no llegan al umbral de 700 repeticiones, se da una expresión residual de la proteína que mantiene algún grado de función.

Los pacientes con la forma clásica presentan ataxia de las cuatro extremidades, asociada con disartria cerebelar, arreflexia en las extremidades inferiores, pérdida de la sensibilidad y signos piramidales. Se manifiesta generalmente antes de los 20 años de edad y su progresión es inexorable. Muchos pacientes presentan además deformidades del esqueleto y cardiomiopatía.^{2,4,8,9,12,20}

3. Grupo 3

3.1 Distrofia muscular oculofaríngea (OPMD)

Es una enfermedad autosómica dominante de distribución mundial. Usualmente se manifiesta en la sexta década con disfagia, ptosis y debilidad proximal de las extremidades. El defecto genético consiste en una pequeña amplificación del trinucleótido GCG (guanina, citosina, guanina) en el gen de la PABP2 (proteína 2 que enlaza a poliadeninas) localizado en el brazo largo del cromosoma 14. Los individuos normales tienen 6 repeticiones y sólo el 2% presentan 7 repeticiones. Sin embargo, el alelo de siete repeticiones se comporta como modificador de un fenotipo dominante, ya que las personas homocigotas para las 7 repeticiones presentan la forma recesiva de OPMD. Los pacientes con la forma dominante tienen alelos con ocho a trece repeticiones. Los casos más severos son heterocigotos compuestos de estos últimos alelos. Se cree que la expansión patológica del segmento de polialanina causa la acumulación de oligómeros de PABP2 como inclusiones filamentosas en los núcleos de las neuronas.³

Consideraciones finales

Existen algunas diferencias en las patologías del Grupo 1 causadas por amplificaciones de la tripleta CAG. Las DRPLA, SCA6, SBMA, y SCA3 muestran una clara diferencia entre los rangos de los alelos normales y de los alelos mutados. Por otro lado, las HD, SCA1 y SCA2 poseen alelos de penetrancia reducida, también llamados alelos intermedios, en los que la separación entre los alelos normales y los patológicos no es tan clara. Se postula la interacción de factores genéticos, ambientales y del desarrollo para explicar este fenómeno.¹

La fisiopatología de las enfermedades causadas por repeticiones CAG y de la DM se asocia con la presencia de depósitos de proteína o complejos proteína-ARN en los núcleos de las neuronas y los mioblastos, respectivamente. En el primer caso, se propone que este depósito es tóxico para las células e induce la apoptosis o muerte celular programada, como ya se ha observado en experimentos con animales transgénicos. En el caso de la DM, se propone que las proteínas de unión a la repetición CUG en el ARNm afectan el procesamiento y transporte del ARN al citoplasma, con la acumulación resultante de complejos ARN-proteína y una disminución en los niveles de la proteína DMPK.²²

Se propone que el mecanismo mutacional es diferente para aquellas patologías que contienen tripletas intercaladas en sus alelos normales. En FRAXA se ha demostrado la función estabilizadora de estas tripletas^{1,18} y se sugiere que sería necesaria una mutación adicional para perderlas. Los mecanismos por los cuales se produce la inestabilidad genética que conduce a las amplificaciones, así como también la función exacta de los productos de estos genes, se desconocen. Experimentos con ratones transgénicos han mostrado que la inestabilidad de la repetición CAG aumenta con la edad de la madre.²¹ Un mayor conocimiento de los mecanismos subyacentes puede conducir al desarrollo de terapias efectivas para el tratamiento de estas enfermedades.

Muchos investigadores consideran que los padecimientos descritos aquí representan apenas la punta del iceberg y se cree que esta lista aumentará.* Se han encontrado tripletas repetidas en más de cuarenta genes.²⁷ También se han encontrado este tipo de repeticiones en sitios frágiles de varios cromosomas, algunos de los cuales son puntos de ruptura en rearrreglos que activan oncogenes. Se ha buscado amplificación de tripletas repetidas en pacientes con otras enfermedades como el desorden bipolar^{23,24} y la esquizofrenia^{25,26} que algunos autores consideran que presentan anticipación genética, ya que la anticipación correlaciona con este tipo de mutación. Sin embargo, los

* Durante el proceso de revisión de este manuscrito fueron descritas amplificaciones de tripletas en otras enfermedades neurológicas como las ataxias espinocerebelares (SCA) tipos 7 y 8 y la paraplejía espástica 4 (SPG4), además de una amplificación de una secuencia de 12 nucleótidos en la epilepsia mioclónica progresiva del tipo Unverricht-Lundborg.

resultados han sido contradictorios. Es posible que estas entidades sean genéticamente heterogéneas, lo cual dificulta discriminar y clasificar a los pacientes en subtipos que puedan asociarse con un solo tipo de mutación.

Los autores de este trabajo piensan que los miembros de las familias afectadas por este tipo de padecimientos tienen derecho a conocer, hasta donde el conocimiento actual lo permite, la naturaleza de la enfermedad que portan, a un adecuado diagnóstico molecular y al correspondiente consejo genético que los apoye en sus decisiones reproductivas. Existen consideraciones de tipo ético con respecto a la libertad que deben tener los pacientes, sobre todo aquellos que pueden ser portadores de una mutación para un padecimiento de expresión tardía como la Corea de Huntington, de permanecer en la incertidumbre, sin saber si llegarán a manifestar la enfermedad y sin saber si heredaron o no la mutación a sus hijos. Sin embargo el conocimiento actual permite ofrecerle a las familias un diagnóstico predictivo y el consejo genético adecuado que puede ahorrar mucho dolor y recursos.

Agradecimientos y colaboradores

A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el financiamiento de los proyectos N° 742-95-257 y 742-98-322. Al Organismo Internacional de Energía Atómica por el equipo de laboratorio y asesoría técnica brindada para el análisis molecular de las tripletas repetidas en el INISA (COS 6012). A los doctores Carlos de Céspedes y Enrique San Gil por la lectura crítica y sugerencias para mejorar este manuscrito.

Abstract

Unstable mutations or amplification of triplets constitute a kind of genetic alteration discovered during the last decade. They had been found inside or near genes important for the normal neurological function of the human being. In some cases, the presence of the amplification causes the inactivation of the gene or the synthesis of a new product which functions different from the original protein.

Some common characteristics of diseases caused by the amplification of triplets are that it affects the nervous system and are degenerative in nature. The expression of the manifestations varies according to age. Most of them show genetic anticipation in which the severity of the manifestations increases with each generation and appear at an earlier age. In most cases, the severity of the symptoms is correlated positively to the size of the amplification.

The diagnosis of an affected individual in a family may indicate the presence of an altered gene in other relatives. These relatives may not present evident signs of the illness either because it is of late onset or because they carry premutations. The molecular diagnosis of these mutations is important to estimate the risk of developing the disease and/or of transmitting the illness to the descendants and to eliminate the fears of healthy relatives who have inherited normal copies of the gene.

Referencias

1. Andrew S.E., Y.P. Goldberg & M.R. Hayden. Rethinking genotype and phenotype correlations in polyglutamine expansion disorders. *Hum Mol Gen*, 1997; 6:2005-2010.
2. Ashley C.T. & S.T. Warren. Trinucleotide repeat expansion and human disease. *Annu Rev Genetics*, 1995; 29:703-28.
3. Brais B., J.P. Bouchard, Y.G. Xie, D.L. Rochefort, N. Chétrien, F.M.S. Tomé, et al. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet*, 1998; 18:164-167.
4. Dürr A., M. Cossee, Y. Agid, V. Campuzano, C. Mignard, Ch. Penet, et al. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Eng J Med*, 1996; 335:1169-1175.
5. Morales F. & P. Cuenca. Aspectos genéticos y moleculares de la Distrofia miotónica. 1998. Suministrado para publicación a esta misma revista.
6. Morell V. *The puzzle of the triple repeats*. *Science*, 1993; 260: 1422-1423.
7. Nielsen J.E., P. Koefoed, K. Abell, L. Hasholt, H. Eiberg, K. Fenger, et al. CAG repeat expansion in autosomal dominant pure spastic paraplegia linked to chromosome 2p21-p24. *Hum Mol Gen*, 1997; 6: 1811-1816.
8. Reddy P.S. & D.E. Housman. The complex pathology of trinucleotide repeats. *Curr Op Cell Biol*, 1997; 9: 364-372.
9. Richards R.I., & G. R. Sutherland. Repeat offenders: simple repeat sequences and complex genetic problems. *Human Mutation*, 1996; 8: 1-7.
10. Yanagisawa H.; K. Fujii; Sh. Nagafuchi Y. Nakahori; Y. Nakagome; A. Akane; et al. A unique origin and multistep process for the generation of expanded DRPLA triplet repeats. *Hum Mol Genet*, 1996; 5:373-379.
11. La Spada A.R.; H.L. Paulson & K.H. Fischbeck. Trinucleotide repeat expansion in neurological disease. *Ann Neurol*, 1994; 36: 814-822.
12. McKusick V.A. Mendelian inheritance in man (MIM) on CD-Rom. A catalog of Human genes and genetic disorders. The Johns Hopkins University Press. 1997.
13. Castro I. & P. Cuenca. Frecuencia del síndrome del cromosoma X frágil en la Escuela de Enseñanza Especial "Fernando Centeno Güell". *Acta Pediátrica Costarricense*, 1996; 10:99-106.
14. Kremer B., P. Goldberg, S.E. Andrew, J. Theilmann, H. Telenius, J. Zeisler, et al. A worldwide study of the Huntington's disease mutation. The Sensitivity and Specificity of measuring CAG repeats. *N Eng J Med*, 1994; 330 1444-1450.
15. McLaughlin B.A., C. Spencer & J. Eberwine. CAG trinucleotide RNA repeats interact with RNA-binding proteins. *Am J Hum Genet*, 1996; 59:561-569.
16. Nasir J.; Y.P. Goldberg & M.R. Hayden. Huntington disease: new insights into the relationship between CAG expansion and disease. *Hum Mol Genet*. 1996; 5:1431-1435.
17. Ranum L.P.W.; J.K. Lundgren; L.J. Shut; M.J. Ahrens; S. Perlman. Spinocerebellar Ataxia Type I and Machado-Joseph Disease:

- Incidence of CAG expansion among adult-onset ataxia patients from 311 families with dominant, recessive or Sporadic ataxia. *AJ Hum Genet*, 1995; 57:603-608.
18. Gläser D., & P. Steinbach. Erweiterung der molekulargenetischen Diagnostik beim fra (X)- Syndrom als qualität ssichernde Maßnahme. *Medizinische Genetik*, 1997; 1: 143-145.
 19. Zatz M; M.R. Passos-Bueno; A. Cerqueira & M. Vainzof. CTG repeat length in muscle from patients affected with myotonic dystrophy (DM). *J Med Genet*, 1996; 33:173.
 20. Filla A., G.De Michele, F. Cavalcanti, L.Pianese, A. Monticelli, G. Campanella, et al. The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich ataxia *Am J Hum Genet*, 1996; 59:554-560.
 21. Kaytor M.D., E.N. Burchette, L.A. Duvick, H.Y. Zoghbi & H.T. Orr. Increased trinucleotide repeat instability with advanced maternal age. *Hum Mol Genet*, 1997; 6:2135-2139.
 22. Singer R. Triplet-repeat transcripts: A role for RNA in Disease. *Science*, 1998; 280: 696-697
 23. Breschel T.S., M.G. McInnis, R.L. Margolis, G. Sirugo, B. Corneliussen, S.G. Simpson, et al. A novel, heritable, expanding CTG repeat in an intron of the SEF2-1 gene on chromosome 18q21.1. *Hum Mol Genet*, 1997; 6: 1855-1863.
 24. Craddock N., P. McKeon, S. Moorhead, C. Guy, D. Harrison, L. Mynett-Johnson, et al. Expanded CAG/CTG repeats in bipolar disorder: No correlation with Phenotypic measures of Illness Severity. *Biol Psychiatry*, 1997; 42:876-881.
 25. Sirugo G., A.J. Pakstis, K.K. Kidd, S. Matthyse, D.L. Levy, Ph.S. Holzman, et al. Detection of a large CTG/CAG trinucleotide repeat expansion in a danish schizophrenia kindred. *A J Hum Genet*, 1997; 74:546-548.
 26. Vincent J.B., T. Klempan, S.S. Parikh, T. Sasaki, H.Y. Meltzer, G. Sirugo, et al. Frequency analysis of the large CAG/CTG trinucleotide repeats in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Molecular Psychiatry*, 1996; 1:141-148.
 27. Wells R.D. Molecular basis of genetic instability of triplet repeats. *J Biol Chem*, 1996; 271:2875-2878.