

04 DE OCTUBRE DE 2001

Investigadores identifican la causa de mortal enfermedad coagulante de la sangre

Unos investigadores han determinado la causa de un trastorno hereditario en la coagulación de la sangre que es potencialmente mortal, ya que puede causar falla renal o apoplejía.

Los investigadores encontraron que la enfermedad, púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), es causada por mutaciones en un gen que hacen ineficaz a la enzima ADAMTS13. La investigación sugiere que sería posible tratar la PTT con la administración de una forma activa de la enzima, de la misma forma que los pacientes con hemofilia reciben el factor de coagulación.

"La PTT era conocida como un trastorno peligroso por el cual los pacientes se enfermaban grave y repentinamente, y sólo podían ser tratados substituyendo el plasma de su sangre. De hecho, nadie estaba realmente seguro si tal tratamiento sacaba de la sangre algo perjudicial o le agregaba algo beneficioso que faltaba."

— David Ginsburg

En un artículo publicado en el número del 4 de octubre de 2001, de la revista *Nature*, un equipo de investigación que incluía al investigador del Instituto Médico Howard Hughes David Ginsburg, de la Universidad de Michigan, publicó que las mutaciones en el gen *ADAMTS13* eran responsables de causar la PTT en casi todas las familias afectadas que se estudiaron.

“Hasta hace cerca de cuatro o cinco años, la causa de la enfermedad era un misterio”, dijo Ginsburg. “Se sabía que el trastorno era peligroso, ya que los pacientes se enfermaban grave y repentinamente, y sólo podían ser tratados substituyendo el plasma de su sangre. De hecho, nadie estaba realmente seguro si tal tratamiento sacaba de la sangre algo perjudicial o le agregaba

algo beneficioso que faltaba”.

Varios estudios anteriores habían involucrado en el trastorno a una proteína relacionada con la coagulación, conocida como el factor de von Willebrand (FVW). Estos estudios encontraron que la sangre de pacientes con PTT presentaba una gran cantidad de una forma anormal de la proteína FVW que no había sido clivada en dos porciones más pequeñas, como ocurre normalmente. Así que, dijo Ginsburg, muchos científicos creían que un defecto en una enzima que cliva proteínas, conocida como proteasa, podía ser responsable del trastorno.

Una de las claves para identificar las mutaciones del gen que subyacen a la PTT fue el desarrollo de un análisis preciso para detectar la actividad de la proteasa FVW. Han-Mou Tsai, uno de los autores principales del artículo en *Nature*, y sus colegas en el Centro Médico Montefiore y en la Facultad de Medicina Albert Einstein desarrollaron un ensayo y lo aplicaron a las muestras de sangre que fueron proporcionadas por los miembros de cuatro familias que tenían una forma hereditaria de PTT. Los análisis revelaron claramente que dentro de estas familias, los que tenían PTT presentaban una actividad baja de la proteasa de FVW, mientras que los portadores de la enfermedad presentaban niveles medios de actividad proteásica y los individuos no afectados presentaban niveles normales.

“Los resultados parecían ser demasiado buenos para ser verdad”, dijo Ginsburg. “Demostraban claramente la presencia de un gen recesivo en el cual todos los portadores, que tenían una copia buena y una mala del gen, tenían cerca de la mitad del nivel de actividad proteásica”.

Tomando como guía la utilización del análisis, Gallia G. Levy, primera autora del artículo en *Nature*, realizó análisis de enlace genético a los miembros de la familia y determinó qué marcadores genómicos conocidos eran heredados con el gen de la enfermedad. Estos estudios le permitieron acotar la región que contenía el gen de la enfermedad a una región específica del cromosoma 9.

Una búsqueda en la base de datos del genoma humano reveló varios fragmentos de genes semejantes a proteasas que eran candidatos atractivos, dijo Ginsburg, pero no podían estar seguros porque la base de datos estaba incompleta para esa región del cromosoma 9. Cuando Levy estudió a los pacientes con PTT para encontrar mutaciones en la región diana, encontró mutaciones en un gen que codificaba para una proteasa que mostraba semejanza con la secuencia de ADN de los miembros de una familia de metaloproteinasas que contienen cinc, llamadas ADAMTS.

Luego, Levy obtuvo la secuencia completa del gen y procedió a estudiar a otros pacientes, buscando mutaciones en el gen que nombró *ADAMTS13*. Posteriormente, Levy identificó entre los pacientes a una docena de mutaciones en el gen, que se correspondían con casi todos los casos de PTT. Según Ginsburg, los resultados de Levy inician la forma para entender cómo y por qué la proteasa *ADAMTS13* cliva a FVW, y cómo la falla en el clivado de la proteína causa la enfermedad.

“La hipótesis actual en el campo es que la forma larga de FVW que se produce inicialmente es demasiado pegajosa. A menos que se clive, se pega espontáneamente a las plaquetas de la sangre y coagula los vasos”, dijo Ginsburg.

El descubrimiento de la función de la enzima ADAMTS13 también indica una terapia relativamente directa para la PTT, dijo Ginsburg. “No parece ser necesaria una gran cantidad de esta proteasa para tratar esta enfermedad, y la misma persiste por un tiempo en la sangre”, dijo. “Así que sería posible administrarles a los pacientes con PTT una inyección periódica de la enzima para mantener su actividad proteásica. Tal tratamiento funcionaría mejor y sería más seguro que el intercambio de plasma, debido al riesgo de las complicaciones de las transfusiones”.

Ginsburg también observó que la enfermedad de la coagulación PTT adquirida puede ser una complicación en los pacientes que reciben trasplantes de médula ósea, en aquellos con lupus o con SIDA. “A pesar de que los portadores parecen normales, podrían resultar ser más susceptibles a la PTT adquirida”, dijo.

En otros estudios independientes, la estructura de la proteasa ADAMTS13 y la identificación de su gen también han sido deducidas gracias a la colaboración del investigador del HHMI Evan Sadler y los investigadores Dominic Chung y Kazuo Fujikawa.

En ese trabajo, Fujikawa y Chung, quienes se encuentran en la Universidad de Washington, en Seattle, purificaron la proteína ADAMTS13, obtuvieron una secuencia parcial de aminoácidos e identificaron al gen, basándose en información de la base de datos del Proyecto del Genoma Humano. Comenzando con esa secuencia parcial, Sadler y sus colegas en la Facultad de Medicina de la Universidad Washington, en St. Louis, colaboraron con el grupo de Seattle para determinar la secuencia completa de ADNc y de la proteína. Sus resultados han sido publicados en Internet por la revista *Journal de Biological Chemistry*, en www.jbc.org.

“Nuestros datos se corresponden completamente con los de David Ginsburg”, dijo Sadler sobre los resultados de Ginsburg y sus colegas. “Pero Gallia Levy y David han hecho un nuevo y más importante avance en el campo, al identificar las mutaciones en este gen que realmente causan una enfermedad humana grave y a veces fatal”.