

08 DE JUNIO DE 07

Sensible análisis genético revela grandes cambios asociados a la cardiomiopatía hipertrófica

El concepto de un gen y una enfermedad es elegante pero incompleto. Una mutación en un único gen puede hacer que muchos otros genes comiencen a funcionar —o dejen de hacerlo—, y puede ser que estos cambios causen en última instancia síntomas clínicos. La identificación del conjunto completo de genes afectados parecía imposible. Pero ese ya no es el caso.

Estudiando ratones modificados genéticamente, investigadores conducidos por Christine E. Seidman, investigadora del Instituto Médico Howard Hughes en el Hospital Brigham and Women's, y su marido Jonathan G. Seidman, que se encuentra en la Facultad de Medicina de Harvard, han identificado a cientos de genes que presentan una expresión alterada en la cardiomiopatía hipertrófica preclínica. El estudio, que tiene como coautores a colegas de la Facultad de Medicina de Harvard, se publica en el número del 9 de junio de 2007, de la revista *Science*. El descubrimiento podría ayudar a que científicos definan las vías que llevan a la enfermedad y al descubrimiento de dianas para la detección temprana, prevención y tratamiento.

Para obtener una idea general de los cambios genéticos relacionados con la enfermedad, los investigadores desarrollaron una técnica de secuenciación de genes nueva llamada análisis de expresión génica polony multiplex, o PMAGE (por sus siglas en inglés). La técnica puede encontrar transcritos de ARN mensajero —que contiene las instrucciones para hacer una proteína, que surgen del ADN de un gen activo— que existen en cantidades tan pequeñas como una copia cada tres células.

"Algunas de estas moléculas poco abundantes podrían ser muy importantes en la alteración de la biología de la célula de formas que pueden ser parte de la raíz causal, o de una respuesta compensatoria a manifestaciones muy tempranas de la enfermedad."

- Christine E. Seidman

Para utilizar la técnica PMAGE, los investigadores unen a pequeñas esferas secuencias cortadas de ARN mensajeros (llamadas marcadores). El marcador se amplifica de modo que cada esfera contenga millones de copias del mismo marcador de ARNm que sobresale de una minúscula pelota Koosh. Todas las esferas —ahora llamadas polonies (por reacción en cadena de polimerasa de colonias)— se colocan formando una capa sobre un vidrio y todos los marcadores se secuencian simultáneamente. Entonces un programa de computadora compara los marcadores con genes conocidos. Cuantos más marcadores se asocian con un gen, mayor es la expresión de ese gen.

El estándar de la industria para la secuenciación de genes es la expresión activa y serial de genes, o SAGE (por sus siglas en inglés). “Hay un par de laboratorios que se han dedicado a desarrollar esta tecnología”, dijo Seidman, entre los que se encuentran los laboratorios del investigador del HHMI en Johns Hopkins Bert Vogelstein y de George Church, en Harvard. Pero el precio del análisis PMAGE es de entre 1/20 y 1/9 del precio de un análisis SAGE similar, lo que lo hace más apropiado para la clase de perfil de expresión a gran escala emprendido en este estudio, explicó. “No se puede costear la secuenciación de 4 millones de transcritos utilizando SAGE”.

Usando PMAGE, los investigadores compararon un grupo sano de ratones con un grupo con una mutación génica que causa cardiomiopatía hipertrófica (CMH) después de cerca de 25 semanas de edad. En las personas con CMH, el músculo cardíaco se ensancha y no se puede relajar normalmente después de la contracción. La CMH es la causa más común de la muerte súbita en atletas.

El grupo de Seidman utilizó tejido cardíaco de ratones de 8 semanas de edad para crear dos bibliotecas PMAGE que totalizan 4.4 millones de marcadores de ARNm. Encontraron 706 genes que eran sobreactivos o subactivos en ratones con CMH, en comparación con ratones normales. Algunos de esos genes ya han sido relacionados con la CMH o el desarrollo cardíaco. Otros genes ahora son puestos en escena.

Entre los genes sobreactivos se encuentran:

- *Nppa*

(precursor del péptido natriurético), que codifica para el péptido natriurético atrial, o PNA. Esta proteína es un marcador importante de la CMH.

- *Ctgf*

(factor de crecimiento de tejido conectivo),

Tgfb β 1

(factor de crecimiento transformante beta-1) y

Postn

(periostina), que son reguladores poderosos de la fibrosis y deposición de colágeno. La activación temprana de estos genes indica que la fibrosis es probablemente un contribuidor primario de la disfunción cardíaca, no una reacción a otros cambios.

- *Vgll2*

(homólogo 2 tipo vestigial) y

Egr3

(respuesta a crecimiento temprano-3), que son reguladores transcripcionales involucrados en el desarrollo fetal del músculo cardíaco.

- *Nr1h3*

(receptor nuclear subfamilia 1, grupo h, miembro 3) y

Nfkbie

(inhibidor epsilon amplificador genético polipéptido liviano factor nuclear kappa en células B), que nunca antes había sido relacionado con la CMH.

Entre los genes subactivos se encuentran:

- *Hod*

(proteína sólo homeobox) y

Hand2

(derivados 2 de la cresta neural y mano), que son reguladores transcripcionales involucrados en el desarrollo fetal del músculo cardíaco.

- *Abcc9*

(miembro 9 de la subfamilia C del casete del trifosfato de adenosina), que codifica para una parte del canal de potasio cardíaco. Este canal ayuda a regular el equilibrio del calcio. Los ratones que carecen de

Abcc9

desarrollan arritmias y sobrecarga de calcio en el miocardio.

- *Sln*

(sarcolipina) y

Pln

(fosfolambana), que regulan la incorporación de calcio en las células musculares.

“Fue importante que pudiéramos cuantificar estadísticamente los cambios, incluso en genes con niveles de expresión muy bajos”, dijo Seidman. “Algunas de estas moléculas poco abundantes podrían ser muy importantes en la alteración de la biología de la célula de formas que pueden ser parte de la raíz causal, o de una respuesta compensatoria a manifestaciones muy tempranas de la enfermedad”.

Seidman ahora está repitiendo la secuenciación por PMAGE utilizando tejidos de ratones más jóvenes. “Deseamos obtener los conductores de la patología”, dijo Seidman. “La CMH afecta en gran parte las proteínas estructurales, y realmente no entendemos cómo un cambio en una proteína afecta la cascada que en última instancia afecta la fisiología. Nos gustaría pensar que si realizamos esta secuenciación lo suficientemente temprano, veremos las señales que nos indiquen algo que cambie fundamentalmente toda la cascada de etapas posteriores”.

El descubrimiento de esos conductores fundamentales del cambio podía dar lugar a terapias dirigidas para detener el avance de la CMH, o incluso prevenirla por completo.

“Ahora estamos haciendo esto en un ratón, pero tenemos acceso a tejidos de pacientes humanos”, dijo Seidman. “Con el análisis profundo y rico que obtenemos de una biopsia o resección, podemos pasar a comprender la biología humana de la enfermedad cardíaca muy rápidamente”.