Reseñas de Investigación.

El análisis exómico de pacientes con artrosis permite la descripción de potenciales nuevas dianas terapéuticas

22/03/2018

Enrique Caso Peláez, Director de gestión de la Fundación para la Investigación y la Innovación Biosanitaria de Asturias (FINBA).

Guillermo del Riego Ferreiro, Bioquímico y biólogo

Fundación para la Investigación y la Innovación Biosanitaria de Asturias (FINBA)

El artículo evalúa el uso de la secuenciación de exomas completos para la identificación de genes potencialmente responsables de enfermedades complejas como la artrosis.

El estudio se realiza sobre muestras de tres pacientes que desarrollaron su enfermedad en circunstancias muy diferentes y pone de manifiesto la gran variedad de factores genéticos que pueden estar involucrados en su evolución.

Conclusiones y recomendaciones del artículo: Los genes identificados en el estudio deberán ser sometidos a análisis moleculares y bioquímicos para determinar su papel en el metabolismo articular y su potencial uso como dianas terapéuticas.

INTRODUCCIÓN

La secuenciación del primer genoma humano en el año 2003 abrió la puerta a nuevos enfoques en el estudio de gran número de enfermedades. Desde los primeros análisis se hizo evidente que sólo una pequeña parte del genoma (menos del 2 %) correspondía a exones, las regiones que codifican la síntesis de proteínas. El conjunto de exones presente en un genoma se denomina exoma y en los últimos años se han optimizado y popularizado las secuenciaciones de exomas completos (WES, por sus siglas en inglés), mucho más sencillas y económicas que las genómicas y que proporcionan gran cantidad de información relevante. Si las técnicas genéticas clásicas se centraban en el estudio de genes conocidos o sobre los que existían motivos para sospechar alguna relación con el problema en cuestión, estas nuevas tecnologías abren la posibilidad de detectar nuevos genes potencialmente interesantes.

Algunas enfermedades tienen un origen genético relativamente simple, ya que pueden asociarse a variaciones en un número reducido de genes. En los últimos años un buen número de ellas han sido identificadas mediante estudios exómicos1.

En otros casos, como el del estudio que aquí presentamos, las enfermedades se originan por multitud de factores genéticos, ambientales o relacionados con el estilo de vida del paciente. También en estas situaciones la secuenciación de exomas permite la identificación de variantes genéticas poco frecuentes que puedan estar relacionadas con el trastorno2.

La artrosis u osteoartritis (OA) es una enfermedad degenerativa crónica que afecta a las articulaciones móviles. En condiciones óptimas el tejido cartilaginoso evita el contacto entre los huesos que forman una articulación, proporcionando una amortiguación especialmente necesaria en partes del cuerpo que, como las rodillas o caderas, soportan la mayor parte de nuestro peso. La OA aparece de forma progresiva por desgaste de los cartílagos, causando dolores agudos y paralizantes.

Aunque la enfermedad puede presentarse en diferentes formas suele observarse destrucción del cartílago hialino, esclerosis del hueso subcondral, formación de excrecencias óseas conocidas como osteófitos o inflamación de la membrana sinovial3. En los tejidos implicados se aprecian desequilibrios en el metabolismo de los condrocitos (las células características del tejido cartilaginoso), desregulación de las especies reactivas del oxígeno, aumento del catabolismo en una matriz que se va degradando y una limitada respuesta a los factores de crecimiento por parte de las células envejecidas.

En la parte del hueso más próxima a la articulación también se observan cambios estructurales y metabólicos cuando aparece la OA, como reabsorción ósea o alteración en los niveles de diferentes moléculas reguladoras y proinflamatorias.

METODOLOGÍA

En el estudio que aquí presentamos se seleccionaron tres pacientes con fenotipos extremos de OA a los que se había implantado una prótesis de cadera: un varón de 27 años que había desarrollado la OA cinco años después de una fractura de fémur (TPF), una mujer de 37 años con necrosis avascular del tejido óseo del fémur y antecedentes familiares de ese problema (ANHNF), y un varón de 72 años con coxartrosis primaria (COA), una artrosis de cadera que parecía relacionada con la edad del paciente.

Para el estudio se obtuvieron WES de los tres pacientes, así como de otras 20 personas sin relación con ellos y sin aparentes problemas de cadera ni OA. Una vez obtenidas las secuencias se analizaron con potentes herramientas bioinformáticas que permiten compararlas con otras muchas disponibles en bases de datos de acceso público.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para las secuencias de los tres pacientes se seleccionaron las variaciones presentes en menos del 1 % de la población y que formaban parte de regiones codificantes de proteínas. Con estos criterios se obtuvieron 2037 variaciones de interés para el paciente TPF, 1939 para COA y 2077 para ANHNF.

Las variaciones obtenidas fueron sometidas a nuevos análisis para estudiar su posible papel en el desarrollo de la OA. Así, se observó que la mayor parte de las variaciones correspondían a cambios de un solo nucleótido en la secuencia de ADN, que frecuentemente determinaban un cambio de un aminoácido en la proteína traducida.

Además, se estudiaron las anotaciones disponibles en las bases de datos para los genes seleccionados, dando prioridad a los relacionados con tipos celulares, funciones o características estructurales que pudieran ser relevantes en el estudio de la OA. Por último, se tuvieron en cuenta las predicciones proporcionadas por diferentes herramientas informáticas respecto al efecto de la variación sobre la funcionalidad de la proteína que codificaba.

De esta forma, se obtuvieron 39 genes asociados con OA que presentaban variaciones significativas en el paciente TPF, 44 en el COA y 38 en ANHNF. Cabe destacar que las herramientas que predicen el efecto de la variación sobre la funcionalidad de la proteína arrojaron resultados contradictorios en algunos casos, lo que limita las conclusiones que se puedan obtener de ellos.

En pacientes con TPF son relativamente frecuentes complicaciones vasculares similares a las de ANHNF4, sin que se conozcan los mecanismos patogénicos que relacionan ambas condiciones. Entre las variantes poco frecuentes identificadas en el paciente TNF están varias proteínas con función reguladora y transportadora; la única perteneciente a la superfamilia del colágeno se expresa en tejidos diferentes a los involucrados en OA, por lo que no parece especialmente relevante para este estudio.

En el paciente COA aparecieron alteradas dos de las proteínas del colágeno que ya han sido relacionadas con otras enfermedades anteriormente. Aunque en principio no deberían expresarse en los

tejidos de interés para el estudio sería interesante comprobar si pueden jugar un papel en el desarrollo de OA. Otras variantes poco frecuentes detectadas en este paciente afectan a proteínas de la matriz extracelular, interacción celular, receptores de membrana, regulación del ciclo celular, transporte intracelular y diferenciación de los condrocitos.

En el caso de la paciente ANHNF se espera que el componente genético de la enfermedad sea muy significativo, ya que su hermano también la padece. Por estudios previos se conocen numerosas variantes genéticas relacionadas con esta sintomatología, que afectan a funciones como la coagulación sanguínea, procesos vasculares, síntesis de lípidos o remodelación ósea. En esta paciente se observaron variaciones en hasta cinco genes de la familia del colágeno, aunque sólo una de ellas parece alterar la proteína codificada de forma significativa. También se encontraron variaciones de interés en una proteína que regula la unión del colágeno a las células y podría estar involucrada en la formación del hueso endocondrial. Otras proteínas que intervienen en este proceso también presentan variantes poco frecuentes. Por último, se observaron variantes de interés en genes involucrados en respuesta a hormonas, reparación de ADN, regulación de la transcripción o receptores de diferentes moléculas.

El colágeno tipo I es el principal componente de la matriz ósea trabecular, por lo que este tipo de estudios tienen especial interés en variaciones de esta proteína. Si bien el análisis exómico arrojó un importante número de variantes para los genes del colágeno (78 diferían de las mayoritarias entre la población para TPF, 20 para COA y 43 para ANHNF), la variación parece ser mucho menor para el tipo I (6, 0 y 1, respectivamente). El desarrollo de OA en un paciente joven como TPF es poco frecuente, y podría relacionarse con esas seis variaciones en su colágeno tipo I. Los resultados del paciente COA parecen confirmar que los genes del colágeno tipo I no son determinantes en el desarrollo de OA relacionado con la edad. La única variación observada en la paciente ANHNF no tendría efecto sobre la proteína traducida, por lo que tampoco debería jugar un papel en el desarrollo de OA.

CONCLUSIÓN

Trabajos como el aquí descrito facilitan la identificación de genes potencialmente involucrados en el desarrollo de una enfermedad tan compleja como la OA. En fases sucesivas se deberá estudiar la expresión de esos genes y las proteínas que codifican para evaluar su importancia y su potencial como dianas terapéuticas en el estudio de la enfermedad.

Bibliografia:

1. Sarah B. Ng, Kati J. Buckingham, Choli Lee, Abigail W. Bigham, Holly K. Tabor, Karin M. Dent, Chad D. Huff, Paul T. Shannon, Ethylin Wang Jabs, Deborah A. Nickerson, Jay Shendure, Michael J. Bamshad. Exome sequencing identifies the cause of a Mendelian disorder. Nature Genetics 2010;42(1): 30-35.

2. Cirulli ET, Goldstein DB. Uncovering the roles of rare variants in common disease through whole-genome sequencing. Nat Rev Genet 2010;11:415-25

3. Loeser RF. Molecular mechanisms of cartilage destruction: mechanics, inflammatory mediators, and aging collide. Arthritis Rheum 2006;54:1357-60.

4. Barquet A, Mayora G, Guimaraes JM, Suárez R, Giannoudis PV. Avascular necrosis of thefemoral head following trochanteric fractures in adults: a systematic review. Injury 2014;45:1848-58.

Palabras clave:
artrosis
exoma
bioinformática
wes

Autores:

Artículo original: Enrique Caso, Cristina C. Sabiers, Daniel López-Guillén, Jaime Caso, Manuel Toledano, Raquel Osorio, Estrella Osorio, Carmen Lozano, Enrique Guerado. Inter-individual gene variants associated with trabecular bone plasticity: A step forward in the personal genomics of degenerative bone disease. Injury 2017; 48: 12-25.

Nº:3 de 2018