

## **CURACION DEI SÍNDROME DE RETT: ¿CÓMO LO CONSEGUIREMOS?**

Presentación de Mónica Coenraads 28 de junio de 2009

Centro del Síndrome de Rett en el hospital infantil en Montefiore

Es maravilloso ver una concurrencia tan grande. Creo que a algunos de vosotros os conozco; con algunos nos encontramos por primera vez y espero que lleguemos a conocernos mejor. Yo también tengo una hija con el síndrome de Rett; tiene 12 años, y vivimos en Connecticut. Así pues definitivamente uso dos gorras: La gorra de Madre, que es la de impaciente, "¿donde está la curación?", y también la gorra de director Científico y Ejecutivo, donde me doy cuenta de que la ciencia necesita tiempo, desgraciadamente, pero ahí estamos progresando.

Y por eso hoy he querido afrontar alguna de las preguntas que varios de vosotros tenéis. Esta investigación de la cual hemos oído hablar -- ¿qué significa, y cuál es el impacto que tendrá en mi criatura, y cuándo puede eso suceder? A menudo tengo la pregunta del "calendario".

Así pues, la Rett Syndrome Research Trust puesta en marcha no hace demasiado tiempo -- el pasado mes de septiembre -- es una organización que está muy centrada en la investigación, y específicamente la investigación dirigida a curaciones y tratamientos. Y tenemos una página web, que les daré al final, les animo a entrar y conocerla mejor. Quiero hoy centrarme-- no tenemos demasiado tiempo—así que quiero centrarme en las preguntas en cuestión.

(DIAPOSITIVA). La primera publicación sobre el Síndrome de Rett vez fue en 1966 por Andreas Rett. Desgraciadamente se trataba de una modesta revista Alemana que la mayoría de los clínicos no leen, por consiguiente la enfermedad permaneció en la sombra y el desconocimiento general durante algunos años. El Dr. Rett era un pediatra del desarrollo que ejercía en Viena, Austria. En 1983 apareció otro artículo sobre el Síndrome de Rett del Dr. Hagberg, en una revista mucho más conocida, así que el síndrome de Rett se reconoció más extensamente, y las primeras casos de síndrome de Rett fueron diagnosticadas en los Estados Unidos a mediados de los años ochenta. En 1992, Adrian Bird -- también por casualidad trabajando en Viena -- publicó un artículo describiendo la identificación de la proteína MeCP2. Trabajaba en un campo llamado "metilación del DNA" -- del cuál hablaremos un poco más adelante -- e identificó esta nueva proteína llamada MeCP2 de la que nadie antes tenía conocimiento, y que era realmente el patriarca de una familia de proteínas que ahora sabemos que tiene otros cinco miembros. En 1999, en *Nature Genetics*, Huda Zoghbi del Baylor College of Medicine publicó un artículo anunciando que las mutaciones en el gen MECP2 causan el síndrome de Rett. Y el campo se abrió realmente de par en par. Ese fue un momento crucial que permitió dar todos los frutos que la ciencia ha dado desde entonces. En 2007, *Science* publicó el experimento de reversibilidad de Adrian Bird, del cual hablaremos de él un poco más tarde, y ese fue también un artículo increíblemente importante, porque cambió realmente la manera que pensamos sobre los tratamientos potenciales no solo para el Síndrome de Rett, sino para las enfermedades del desarrollo neurológico en general. Esto es solamente para daros una pequeña perspectiva de lo que ha pasado durante los últimos 40 años en términos de publicaciones clave.

Quiero enmarcar mi charla hoy en cuatro secciones. [DIAPOSITIVA]. Hablar un poco sobre la genética del síndrome de Rett: ¿Qué creemos que MECP2 esta haciendo? Poner el experimento de reversibilidad en perspectiva. Y luego hablar de como pueden ser los tratamientos y curaciones potenciales, y cómo pensamos que pueden llegar a ser.

Revisemos la genética del Síndrome de Rett. (DIAPOSITIVA). Algunos de vosotros puede que conozcáis esto—Trataré de pasarlo bastante rápido. Pero cuando hablo para padres, encuentro que a veces hay un entendimiento nebuloso de lo que la mutación de su niño puede significar. Así que pienso que puede ser bueno mostraros algunas de las bases, si ya las conocéis, simplemente tened paciencia conmigo. Así que, para devolveros a la biología del instituto (DIAPOSITIVA), el ADN es una hélice doble construida con cuatro bases de nucleótidos A, T, C, y G. Y cada grupo de tres bases de nucleótido codifica un aminoácido, y entonces tomando muchos aminoácidos se compone una proteína. Y en los resultados de la prueba de MECP2 de su hija, usted verá típicamente dos grupos de números. Usted verá, por ejemplo, c.473C>T y p.T158M. Ambos describen la misma mutación, pero el primer número le da el número de mutación de la base de nucleótido y el segundo es la mutación correspondiente del aminoácido. ¿Tiene esto sentido? A propósito, no he dicho esto, pero si tenéis una pregunta, parádmela. No tenemos que esperar hasta el final. Decididamente preferiría hacer esto interactivo y que podáis hacer las preguntas sobre la marcha. ¿Así pues, esto tiene sentido?

Cada grupo de tres bases de nucleótido codifica un aminoácido, y hay diversos tipos de mutaciones que se ven en el síndrome de Rett, y en trastornos genéticos en general. [DIAPOSITIVA]. Tenemos mutaciones '*frameshift*' (mutación que cambia la pauta de lectura), que significa que se insertan o suprimen algunas bases de nucleótido, y desde el punto donde la inserción o la falta comienza, se produce una especie de corrupción de todos los aminoácidos desde ese punto de inicio. Esa es la mutación '*frameshift*' (mutación que cambia la de lectura).

Una mutación "*missense*" (mutación de cambio de aminoácido) significa que solamente hay una base nucleótido equivocado—donde tenemos un error. Ahora tenemos una codificación defectuosa para un solo aminoácido que no debería estar allí. Todo está perfectamente bien, pero solamente una base de nucleótido equivocada que corresponde a ese aminoácido es suficiente para producir los síntomas del Síndrome de Rett en algunos casos. Esa es la mutación "*missense*" (una mutación que da lugar a un cambio de aminoácido, hay proteína MeCP2 pero no funciona igual).

Además tenemos la mutación "*nonsense*" (mutación terminadora). La mutación "*nonsense*" finaliza la construcción de la proteína antes de que esté completa. Cuando un gen produce una proteína normal, el último aminoácido que codifica es llamado "codón finalizador" que dice, esto acaba ahora—hemos acabado de producir la proteína. Si la mutación codifica accidentalmente el codón finalizador en lugar del aminoácido que debería codificar, básicamente esa proteína recibe una señal falsa—una falsa instrucción de que está acabada, y tenemos una proteína truncada prematuramente que es más corta de lo que debería ser. Y esto es lo que llamamos una mutación "*nonsense*" (mutación terminadora). Y esas son las mutaciones que siempre acaban en X--R168X—la X es el codón finalizador. ¿Tiene esto sentido?

Tenemos también deleciones. Deleciones son -- por ejemplo, el gene MECP2 tiene cuatro exones, así que se podría pensar en él como un libro con cuatro capítulos. Si tenemos una mutación "*nonsense*" (mutación terminadora), puede ser que tengamos una página incorrecta entre millares de páginas. Pero si tenemos una deleción grande, puede ser que falte un capítulo entero, así que los capítulos tres y cuatro de un libro de cuatro capítulos se pueden haber perdido. Así es como son las deleciones grandes.

Las mutaciones "*nonsense*" (mutación terminadora) se encuentran en cerca de 30% de los casos de Síndrome de Rett, las grandes deleciones, creo que lo último que he visto escrito eran el cerca de 10%, y el resto '*frameshift*' (mutación que cambia la de lectura) y mutaciones "*missense*" (mutación de cambio de aminoácido)

Cerca del 95% de niñas con un diagnóstico clínico del Síndrome de Rett tienen una mutación detectable en MECP2. Sin embargo, el síndrome de Rett sigue basándose en un diagnóstico clínico. Es decir la mutación confirma el diagnóstico, pero no lo establece necesariamente. Podemos tener un diagnóstico clínico del síndrome de Rett sin tener una mutación MECP2. ¿Entonces, qué les pasa a las niñas con diagnóstico de Síndrome de Rett pero sin mutación en el gen MECP2? En primer lugar, hay que saber que hay áreas de este gen que no se están analizando en este momento por razones técnicas, y su niña puede tener una mutación en una de estas áreas. Obviamente si no están mirando y hay una mutación allí, no van a encontrarla. Con el tiempo pienso que la prueba llegará a ser más exhaustiva. Pero hay áreas del gen que no codifican proteína. Hay las áreas que se llaman áreas reguladoras, y pueden decir a la proteína cómo unirse a otras proteínas, o cómo expresarse, o qué cantidad expresar, y si en una parte reguladora de la proteína hay una mutación, puede que eso se pierda. Existe una posibilidad de que puedan haber otros genes – la probabilidad es pequeña -- como CDKL5, que cuando está mutado se asocia con síntomas que son similares al síndrome de Rett, pero con crisis epilépticas que comienzan muy temprano en la infancia. Por consiguiente si sus hijas no tienen ningún resultado MECP2 y no han sido analizadas del CDKL5, sugeriría hacerlo (Nota 1).

Otra cuestión importante—la siguiente pregunta que la gente siempre plantea es: "Conozco la mutación de mi hija, ¿puede Ud decirme como de grave va ser el tipo de Síndrome de Rett que va a desarrollar? Y la respuesta, en términos individuales, es no, no podemos. Y es porque hay una gran cantidad de factores que influyen en la gravedad – o levedad -- de los síntomas. (DIAPOSITIVA). Las publicaciones que han salido y que han mostrado correlación entre ciertos tipos de mutación y los fenotipos – significa síntomas – están basadas en muestras bastante grandes.

Así pues si la muestra es bastante grande, se pueden hacer estadísticas sobre ciertas correlaciones y ciertas predicciones. Pero caso por caso, es muy difícil de hacer. Estas son algunas de las

correlaciones que han salido [DIAPOSITIVA]: Las mutaciones que truncan la proteína (*nonsense* y *frameshift*) son más severas que mutaciones “*missense*”. Y las mutaciones que truncan más tarde son menos severas que las que truncan más hacia el principio, lo cual que tiene sentido -- si tenemos más parte de la proteína intacta, tendría sentido que fuera menos perjudicial que si la proteína es muy corta. Así pues hay algunas mutaciones que parecen ser menos severas -- el p.R306C y un par más- - y la p.R168X que parece ser más severa. Pero tomaría esta información con mucho cuidado si usted la va a aplicarlo a su niña, debido al resto de factores, uno de ellos, por ejemplo, los patrones de inactivación del cromosoma X.

Inactivación del cromosoma X. Cada hembra tiene dos cromosomas X. Los varones tienen un X y un Y. Muy temprano en el desarrollo, cuando el ovulo fecundado se implanta en el útero, en la hembra uno de los cromosomas X se desactiva. Y esto es al azar. En alguna células es un cromosoma X y algunas otras es el otro. La mayoría de las hembras tienen lo que llamamos Inactivación X al azar – alrededor del 50/50. Por consiguiente en chicas con el Síndrome de Rett, aproximadamente el 50% de sus células tienen el cromosomas están produciendo proteína con el MECP2 mutado, y por lo tanto el otro 50% de las células tienen el cromosoma X con MECP2 sano. Por eso es por lo que sobreviven a pesar de estar bastante discapacitadas. Hay algunos casos en los cuales el patrón de inactivación X no es al azar y este sesgo puede favorecer o bien el cromosoma que tiene la mutación o bien el que tiene el MECP2 sano. De esta forma su patrón de inactivación puede influir en la severidad de sus síntomas. ¿Se entiende? La mayoría de laboratorios no analizan por rutina el patrón de inactivación X por varias razones. En primer lugar, si vamos a analizar, va a ser en la sangre y eso no se relaciona necesariamente con lo que está sucediendo con la inactivación X en el cerebro. Y no hay mucho que se pueda hacer todavía para cambiar la inactivación X de su criatura, desgraciadamente. Así pues, no se hace de forma rutinaria, pero si queréis hacerlo hay algunos laboratorios que lo hacen.

Continuamos. Varones con MECP2. (DIAPOSITIVA). Cada vez más estamos teniendo noticias acerca de varones. Hay algunos posibles escenarios que pueden llevarnos a un chico con el Síndrome de Rett. Podríamos tener una mutación MECP2 clásica de las que vemos en chicas, pero él no tiene la copia extra de reserva del cromosoma X. Él tenderá a tener un grado de severidad mayor – los síntomas serán mas severos. Estos chicos pueden tener una encefalopatía neonatal, falta de desarrollo, problemas de respiración, muy pronto hay que entubarlos y a menudo mueren al año o dos de vida (Nota 2).

Pero hay otros dos escenarios que pueden ocurrir, incluso con mutaciones clásicas de MECP2, que hacen que estos chicos se parezcan mucho a sus equivalentes femeninos. Uno es el Síndrome de Klinefelter. Cerca de 1 cada 500 varones en realidad tiene un cromosoma X extra – XXY. Cerca de 1 de cada 1000 varones XXY presenta síntomas clínicos. Un chico que tiene el Síndrome de Klinefelter más una mutación MECP2 puede ser afectado por síntomas Rett similares a los que se ven en chicas, porque tiene dos cromosomas X.

Hay también algo llamado Mosaicismo somático. Esto significa que la mutación no viene del óvulo o del espermatozoide, sino que cuando el embrión se estaba desarrollando y dividiendo, una única célula desarrolla esporádicamente una mutación., y entonces todas las células “hijas” de esta “madre” defectuosa también tendrán la mutación. Así pues nuevamente este chico, si esto le sucede, presentará síntomas muy parecidos a una chica porque algunas células tienen la mutación MECP2, y algunas otras células tienen el MECP2 sano. Hay también alguna mutaciones observadas en chicos con Síndrome de Rett – o quizá no deberíamos llamarlo Síndrome de Rett—pero también mutaciones que vemos en trastornos MECP2 que no se ven en chicas. Ellos tienen diferente fenotipo.

Hay un síndrome relativamente nuevo del que tenemos noticias hace unos tres años llamado síndrome de duplicación de MECP2. Esto no es una mutación, sino dos copias del gen MECP2 en el cromosoma X. Y hasta donde se conoce casi exclusivamente en chicos, a pesar de que se ha observado en un par de niñas. Sus madres, curiosamente, también lo tienen, pero han sesgado su patrón de inactivación, de esta manera han desactivado el cromosoma X que tiene dos genes MECP2, y han conservado activo su cromosoma X que tiene solamente uno. Así ellas son sintomáticas pero cuando tienen niños tienen un 50% de riesgo de transmitir la duplicación. Y estos chicos son bastante severos. Tienen una gran cantidad de síntomas Rett, pero también tienen infecciones graves, graves problemas inmunológicos, y normalmente mueren de infecciones en la adolescencia o a los veinte y pocos años.

Hay algunos casos de triplicación de MECP2. Estos son chicos que tienen tres genes en MECP2 en un X, en lugar del que deberían tener, y sus síntomas son muy, muy severos.

Estos están confirmados en estudios con ratones del laboratorio de Huda Zoghbi. Ella ha desarrollado modelos animales que tienen una duplicación de MECP2, y en realidad esto se hizo antes de ser identificado en pacientes. Así pues conocimos a través del trabajo con animales que una duplicación

de MECP2 era perjudicial, y luego fue rápidamente confirmado encontrándolo estos pacientes en la clínica. ¿alguna pregunta sobre los chicos?

Como a menudo ocurre con una enfermedad genética, se empieza con un grupo de pacientes -- en nuestro caso con el Síndrome de Rett -- y se comienza a entender la enfermedad, luego conforme son diagnosticados más y más niños y adultos, se comienza a ver que el espectro es realmente mucho más amplio, mucho más extenso de lo que se pensó inicialmente. Y eso ha pasado también con los trastornos del MECP2. Pienso que el campo está empezando a pensar no solamente sobre el Síndrome de Rett, sino que estamos empezando a pensar en trastornos del espectro MECP2, y el Síndrome de Rett es una parte bajo este paraguas mucho mayor. Y habrá otros trastornos como la duplicación (DIAPO). Uno o dos por ciento de los casos de autismo son causados por mutaciones de MECP2. Tenemos, por ejemplo, mujeres que tienen una mutación de MECP2 pero tienen un patrón de inactivación favorable. Ciertamente no tienen el Síndrome de Rett. Tienen dificultades en el aprendizaje. Pueden tener ansiedad. Pueden tener enfermedad bipolar. Pero desde luego no tienen Rett, sin embargo tienen un trastorno de MECP2. ¿Cómo les llamamos?

Así pues el campo, creo yo, se está empezando a mover hacia trastornos del espectro MECP2. Y el Síndrome de Rett entra en esa categoría, juntamente con muchas otras cosas. ¿Cómo es de frecuente en la población general el tener una mutación MECP2? Realmente no lo sabemos, porque no sabemos cuántas mujeres hay por ahí con funcionalidad alta que pueden tener en realidad una mutación, pero tienen su inactivación X sesgada, o tiene algo más es su carga genética que las está protegiendo de los verdaderos efectos de tener una mutación MECP2. Así pienso que con el tiempo se hará más evidente que los clínicos empezarán a darse cuenta de que el análisis de MECP2 es algo que probablemente se debería hacer más rutinariamente, incluso si los síntomas que presentan sus pacientes no se parecen a los del Síndrome de Rett clásico. ¿Se entiende?

Sabemos positivamente que la dosificación adecuada de MECP2 es crítica. Así pues tener incluso un poquito de más o un poquito de menos es importante.

(DIAPO). Es esporádico. Normalmente provienen del esperma mutado. Y esto está realmente soportado -- las mujeres nacen con todos los óvulos que necesitarán por siempre. Los hombres van produciendo esperma, como sabéis, continuamente, de esta forma la posibilidad de una mutación en el esperma es mucho más frecuente que la de tener una mutación en un óvulo. Esto es estadística. ¿Alguna pregunta en la genética de esto?

(DIAPO). ¿Qué sabemos acerca del MECP2?: Esto es en realidad una representación de una sección de la proteína MECP2. Algunos fundamentos sobre MECP2:

- Ya he mencionado que es una proteína del (dominio ligado al metilo, la metilación) "methyl binding domain", y voy a hablar un poco brevemente sobre lo que esto significa.
- Forma parte de un grupo mayor de proteínas que engloba 4 o 5 proteínas
- Está localizada en el cromosoma X, y en particular en el brazo largo del cromosoma X -- está abajo en la punta.
- Se compone de 48 aminoácidos
- Su expresión es ubicua -- está por todas partes. MECP2 está casi en todos los sitios -- en cada tipo de tejido de su cuerpo -- y sin embargo en el Síndrome de Rett es principalmente neurológica. No sabemos realmente por qué es así.
- Su expresión en las neuronas es muy alta. Encontramos recientemente que también está expresada en la glía, y voy a decirles más acerca de lo que eso significa, pero la glía son células del cerebro que son diferentes y más numerosas que las neuronas. Así sabemos que el cerebro probablemente es exquisitamente sensible a la cantidad precisa de MECP2 -- puede ser que mucho más sensible que el hígado, riñones y otras partes del cuerpo. Esta es un área que necesita de una explicación adicional.
- Y sabemos que hay dos isoformas. ¿qué significa esto? Estábamos acostumbrados a pensar que un gen haría una proteína -- simple-- un gen, una proteína. Eso era una especie de dogma de su tiempo. Ahora sabemos que como todo en ciencia, no es así de fácil. Un gen puede hacer más de una proteína, y en algunos casos puede hacer varias proteínas. Voy a hablar más un poco más tarde sobre cómo sucede eso -- se debe hacer con un término llamado "*splicing*" (corte y empalme). En cualquier caso, se ha descubierto hace pocos años en el laboratorio de Adrian Bird, y también en un laboratorio en Canadá -- Berge Minassian -- que realmente se producen dos proteínas MECP2, y una de ellas es expresada 10 veces más que la original que conocíamos, y están hechas a partir del mismo gen MECP2.

Sabemos que MECP2 se adhiere al ADN metilado. Probablemente estéis escuchando eso desde que vuestra hija fue diagnosticada y podéis pensar ¿qué es la metilación? (DIAPO). Pues, la metilación es algo que le pasa al ADN. Es una de esas moléculas que se enganchan a sí mismas al ADN, y ayudan a evaluar qué genes están haciendo proteína y qué genes están siendo silenciados y no hacen proteína. Todos nosotros tenemos cerca de 30000 genes en nuestro cuerpo. Pero si pensamos, por ejemplo, un corazón y el cerebro, tejidos absolutamente muy diferentes. Así pues, ¿qué hace de un corazón un corazón y de un cerebro un cerebro? Bien es a causa del número de genes que están siendo expresados. ¿Qué conecta? En un corazón, los genes del corazón están en marcha los genes del cerebro están apagados, y al revés en el otro sitio, y así lo mismo en todos nuestros tejidos. Así no es solo cuestión de tener estos genes en las células, sino son las instrucciones las que determinan qué genes se conectan y desconectan en el momento adecuado. Es un fenómeno muy complicado, y un área de la ciencia duramente estudiada y un campo caliente ahora mismo. Y como podéis imaginar, tiene implicaciones para muchas enfermedades, porque la raíz de cantidad de enfermedades es una expresión anómala de proteína.

Así la metilación es algo que es usado para conectar y desconectar los genes, y los genes que están activos – significa que están haciendo proteína – normalmente no están metilados. Así que su ADN no tiene grupos metilo enganchados a él. Pero si queremos desactivar una proteína, normalmente ahí estarán esos grupos metilo unidos al ADN de ese gen en particular, y eso deja el gen silenciado de manera que no hace su proteína.

(DIAPO). Así el MECP2 es lo que se llama un represor transcripcional. Podemos imaginarnos el ADN como un *slinky* (el muelle helicoidal de juguete) ¿ok? Y en las partes del muelle que están extendidas existe la posibilidad de poner los dedos dentro y acceder a los genes en particular que están en esa parte del ADN. Y en las células, si necesitamos que un gen produzca proteína, éste necesita tener la maquinaria molecular para entrar allí y leer los genes. Así las áreas que están extendidas y no compactadas son las áreas del ADN donde los genes están activos y están fabricando proteína. Esas áreas no están metiladas. No hay grupos metilo enganchados al ADN. Las áreas que deben ser silenciadas – no queremos que esos genes fabriquen proteína – se van a encontrar en partes del ADN que están muy compactadas y que tienen grupos metilo enganchados a ellas. Y ahí es donde vamos a encontrar MECP2. MECP2 está enganchado al ADN metilado y ayuda a mantener genes silenciados.

(DIAPO) La metilación forma parte de un fenómeno llamado epigenética. No se si habéis oído acerca de la epigenética – Creo que vais a oír mucho más al respecto en los principales medios. He notado que el *New York Times* está comenzando a escribir sobre ello. *Nova* recientemente a hecho un documental sobre epigenética. La epigenética es un campo muy animado en este momento. Lo que significa es “más allá de la genética”. Sabemos que tenemos nuestro genoma, pero cuando el genoma fue secuenciado no hace muchos años, fuimos impactados al descubrir que en realidad los humanos no tienen muchas más proteínas que una mosca de la fruta o un gusano. Y sin embargo somos mucho más complejos. ¿cómo sucede eso?. Bueno eso pasa por la epigenética. Así eso pasa a causa de esas modificaciones de la expresión del ADN. Y la metilación es uno de esos aspectos, y es el mejor entendido, pero hay otros. Podemos pensar en una pulsera con colgantes (dijes). Así la pulsera es el ADN y luego estos colgantes que puedes enganchar, pero también los puedes desenganchar. Esas son las modificaciones. Se puede pensar en la metilación como un colgante. Y así es como los genes son conectados y desconectados, y es como tenemos mucha mayor complejidad a pesar de tener el mismo número de genes que organismos mucho menos sofisticados. Los colgantes no alteran el propio ADN, lo modifican. Algunos cánceres, por ejemplo, están relacionados con problemas con la metilación. Así pues tales cánceres son enfermedades epigenéticas, y pensamos que el Síndrome de Rett es también una enfermedad epigenética. Lo bueno de la epigenética es que es reversible. Se pueden enganchar esos grupos metilo; también se pueden desenganchar. Así se están empezando a desarrollar lo que se llaman “epi drogas”—drogas epigenéticas.

(DIAPO) Así pues si MECP2 está involucrado en un proceso que apaga otros genes, entonces la hipótesis es que los síntomas que vemos en el Síndrome de Rett son debidos a una expresión defectuosa de genes situados más abajo en la cadena de expresión de genes. Si se supone que MECP2 apaga cierto número de genes, pero está mutado y por lo tanto no puede hacer su trabajo, entonces los genes que se supone que deben ser apagados probablemente permanecen activos. Así pues el primer diagrama muestra cómo podemos tener niños normales cuando los genes apropiados

están desactivados. Y cuando el interruptor no funciona los genes permaneces activos, y tenemos el Síndrome de Rett. Esa es la hipótesis con la cual hemos comenzado, pero desgraciadamente ha sido muy difícil identificar esos genes-objetivo (regulados por MECP2). Y recientemente los datos van mostrando que probablemente hay miles de genes-objetivo, y que puede haber diferentes grupos de genes dependiendo del tejido con el que estemos trabajando. Así en una parte del cerebro pueden ser trescientos, cuatrocientos o quinientos genes, y en otra parte del cerebro puede ser un grupo diferente de genes. Así que pensar en tratar el Síndrome de Rett influyendo en esos genes regulados por MECP2 va a ser un proceso bastante complicado. Además, hay un artículo que ha sido publicado recientemente por el laboratorio de Huda Zoghbi que muestra que en algunos casos MECP2 puede ser un activador -- puede realmente estar poniendo en marcha genes. Tanto si es un activador como un represor, al final de todo hay varios genes regulados por MECP2 que están afectados y que no están haciendo lo que se supone que deben hacer ([Nota 3](#)).

Otra función que MECP2 tiene que hacer es lo que llamamos arquitectura de la cromatina. (DIAPO). Así si tomamos el ADN que está en cada una de las células y lo estiramos, tiene dos metros de largo. Lo cual a mi me deja perpleja. Y hay que pensar que no es simplemente como tomar un ovillo y apretujarlo en el núcleo. Tiene que ser plegado adecuadamente de forma que los genes a los cuales hay que acceder sean accesibles, y los que tienen que ser desactivados puedan ser desactivados. Así pues es un proceso muy sofisticado y necesita cambiar – es dinámico. Como sabéis, conforme envejecemos, conforme nos desarrollamos, las cosas cambian. Así pensamos que MECP2 puede estar desempeñando un papel ayudando a mantener el ADN, la cromatina en el núcleo, plegada en su posición correcta.

Otra función en la que creemos que MECP2 juega un papel es en algo llamado “plasticidad sináptica” (DIAPO). Así, la ‘plasticidad sináptica’ es otro gran campo de la ciencia el que trabajan miles y miles de investigadores en todo el mundo.

Básicamente tiene que ver con las conexiones en el cerebro. Cuando estamos aprendiendo una nueva lengua, o estamos leyendo un libro, o estamos expuestos a estímulos, pasan cosas en el cerebro. Cuando alimentamos la memoria, pasan cosas en el cerebro. Cuando tienes Alzheimer y comienzas a olvidar tus recuerdos, pasan cosas en el cerebro. Eso afecta a las conexiones entre neuronas. Con un equipo muy sofisticado – microscopios muy potentes – los científicos ahora pueden ver realmente las conexiones entre neuronas reforzándose y perdiéndose. Si de niños aprendimos una lengua pero no la hemos practicado durante años, perdemos esa habilidad. Y eso son conexiones que estaban allí, que después se han perdido. A mi me gusta pensar siempre como ejemplo de plasticidad sináptica en una persona que se quedó ciega en avanzada edad y cuyos sentidos la compensaron por ello. Así su oído se volvió mucho más agudo. Su sentido del gusto se hizo mucho más agudo. Esto es un ejemplo de plasticidad sináptica. Y pensamos que el MECP2 juega un papel en la plasticidad sináptica. El crecimiento de la comunicación entre células.

Y está también la potenciación a largo plazo que puede ser medida a través de equipo de electrofisiología. Se puede medir la tensión de una comunicación eléctrica a través de las células cerebrales. Y los ratones con el MECP2 anulado muestran problemas con la potenciación a largo plazo y con la plasticidad sináptica

He mencionado que la regla de “un gen/una proteína” se la llevó el viento hace algunos años, y ahora sabemos que un gen puede producir múltiples proteínas, y que MECP2 en realidad tiene dos isoformas, y eso ocurre a través de un proceso llamado “*splicing*” (corte y empalme) (DIAPO). Y hace unos pocos años salieron un par de artículos, nuevamente del laboratorio de Huda Zoghbi -- y ahora de uno de sus postdoctorados que es un investigador independiente, John Young – que muestran datos que sugieren que MECP2 está involucrado en el proceso de “*splicing*”. Básicamente, he mencionado antes que un gen tiene diferentes exones e intrones. Y cuando está produciendo proteínas se cortan los intrones y se empalman los exones. Pero los exones se pueden empalmar de diferentes formas. Así se podría tener una proteína que tenga cuatro exones y se podría tener otra proteína que solo tenga tres. Y entonces acabas con proteínas diferentes. Así, en resumen, pensamos que MECP2 es un represor transcripcional. Que se supone que desactiva o quizá en algunos casos activa ([Nota 3](#)), genes. Esta involucrado en la arquitectura de la cromatina, la plasticidad sináptica, el “*splicing*”, y ¿qué sabemos más? Estoy segura que habrá otras funciones que se descubrirán. Los genes son cosas complejas.

De acuerdo, hablemos un poco de la reversibilidad. (Diago). Esto salió en febrero de 2007. Fue un experimento largo en su realización – Creo que un experimento de tres años. Se usaron tecnologías muy complicadas. Voy a emplear unos minutos y realmente explicar el experimento porque creo que

hay mucha confusión entre las familias acerca de él, “Bien, si lo hicieron en ratones, por qué no podemos hacerlo exactamente de la misma forma en personas? Y creo que es importante comprender por qué es un tema de concepto – experimento fundamental. Y lo que nos enseña, pero también ¿qué es lo que no sacamos de ese experimento? Así pues lo que enseña – que el Dr Djukic ha mencionado en sus observaciones de introducción – estos ratones eran ratones adultos, y pensamos que esto son noticias muy esperanzadoras para nosotros los padres. No eran recién nacidos. Estos experimentos no fueron hechos en el nacimiento. Eran ratones que se les dejó llegar a adultos. Tuvieron todos los síntomas que tiene un ratón típico con el Síndrome de Rett, incluyendo rechinar de dientes, por cierto. Muestran los dientes desalineados y ellos saben – no podemos oírlo pero lo sabemos – que estos ratones rechinan los dientes. Y después de que se hizo el tratamiento (explicaré que significa esto) durante cuatro semanas los síntomas que pudieron ser “ensayados” – que pudieron ser detectados – mostraron una increíble normalización. Observaron diferentes cosas como la manera de andar, inercia (en el sentido de falta de actividad -- cuánto se mueve un ratón), respiración, agarre con sus patas traseras (cuando los agarras por la cola, apretaban sus patas traseras una contra otra), temblor, y también estado general del ratón – cómo de saludable o enfermo parecía. Y la mortalidad. Quiero decir que estos ratones vivieron por mucho más tiempo. A propósito, el experimento fue hecho en ambos, ratones machos y hembras y los ambos se recobraron. En términos de función cerebral, pudieron medir la potenciación a largo plazo que he mencionado anteriormente. Hicieron experimentos de electrofisiología para ver esas células nerviosas en el cerebro, las neuronas, comunicadas unas con otras, y el problema de potenciación a largo plazo que se ve en los ratones con el Síndrome de Rett también fue completamente resuelto. Ahora desde que salió ese experimento, el profesor Bird ha observado otros síntomas en ratones, y hasta donde debo decir todo lo que he oído es alentador. Todo lo que han mirado ha ido a mejor. Ahora todavía no han hecho cosas muy detalladas sobre el comportamiento. No han observado la ansiedad, aprendizaje – quiero decir que el lenguaje obviamente no lo pueden hacer en ratones. Pero esos ensayos están ahora en curso. Obviamente, no se puede probar el lenguaje en ratones, pero evaluarán la ansiedad, comportamiento social, patrones de aprendizaje, y va a ser muy interesante ver sus resultados.

Quiero hablaros un poco a cerca de cómo fue llevado a cabo el experimento. Adrian Bird ya había desarrollado un ratón knock-out (desactivado) el cual fue publicado, creo en 2001, y Huda Zoghbi tenía un ratón knock-out (desactivado), Rudolf Jaenisch tenía un ratón knock-out (desactivado). Pero para llevar a cabo el experimento tuvo que desarrollar un nuevo ratón knock-out. Y la razón para ello es que él quería crear un animal que no tuviera expresión de MECP2, y por consiguiente desarrollara todos los síntomas, pero luego quería activar de nuevo MECP2 según le conviniera para ver qué pasaba con los síntomas. Así que ¿cómo crear el interruptor de apagado/encendido? Implementaron tecnología que ya había sido desarrollada pero que tuvo que ser modificada para este experimento en concreto. Lo que hicieron fue en el estado embrionario de células madre únicas de un ratón, en el gen MECP2, insertaron piezas ajenas de ADN llamadas “loxP” a cada lado del gen MECP2. Y básicamente es como poner un atasco (no permite al gen MECP2 generar la proteína). Los atascos mantuvieron MECP2 inactivo de manera que no funcionara. Entonces cogieron la célula madre embrionaria y crearon un ratón a partir de ella, de manera que el ratón y cada una de sus células tuviera el gen MECP2, pero debido a los bloqueos, no estaba generando la proteína. Y así el ratón creció y desarrolló todos los síntomas.

Entonces cogieron otro ratón, un tipo que ha sido genéticamente diseñado para llevar una proteína llamada “Cre”. Y esta Cre reside en el citoplasma de las células -- no en el núcleo sino en todo lo que se encuentra alrededor, dentro de la pared de la célula. Hicieron criar ambos ratones conjuntamente (el ratón Cre con el ratón con MECP2 knock-out debido a loxP). La cría de ratón ahora no sólo tiene MECP2 con los bloqueos, de manera que no genera ninguna proteína, sino que además tienen Cre en el citoplasma de cada célula. Ahora cuando el investigador quiere usar el interruptor y activar el gen MECP2 de nuevo, inyecta en el ratón un medicamento llamado Tamoxifen. Y algunos de vosotros sabréis que Tamoxifen es un medicamento para el cáncer de mama. Pero la razón por la que se usa Tamoxifen es porque interactúa con la proteína Cre que se encuentra en el citoplasma y la libera. La proteína Cre sale del citoplasma, entra en el núcleo y une las regiones loxP que mantienen al gen MECP2 silenciado. Bastante sofisticado. Bien, cuando los bloqueos se unen, el gen empieza a generar su proteína y cuando la proteína empieza a estar disponible, los síntomas empiezan a desaparecer. Durante un periodo de cuatro semanas, los ratones (al menos mirándolos a simple vista) se volvieron indistinguibles de los de tipo salvajes – en el sentido de sanos. Este es el experimento y eso es por lo que no podemos hacer lo mismo con nuestros niños. Si les damos a ellos Tamoxifen, probablemente les haría daño. No les ayudaría. No tienen la proteína Cre y no tienen los bloqueos a

cada lado de su gen MECP2. Así que darles Tamoxifen no va a hacer nada. Debemos encontrar una manera de normalizar su proteína MECP2 por otras vías.

Así que esto no apunta a un tratamiento, pero lo que sugiere firmemente es que si tuviéramos tratamientos, y pudiéramos normalizar MECP2, los síntomas desaparecerían. OK. Ahora, una de las preguntas que siempre le hacen al profesor Bird: “¿Qué crees que MECP2 está haciendo si un ratón no lo ha tenido durante meses y meses y entonces lo recibe y los síntomas desaparecen? ¿Qué crees que la proteína hace? Y la respuesta es: “Sabemos que MECP2 lee los patrones de metilación”. Este es uno de sus trabajos, ¿verdad? “Si los grupos metilo están dónde deberían en el ADN, el MECP2 localiza los grupos metilo y lleva a cabo su trabajo”.

Por tanto, no importa si el ratón (o con suerte nuestros hijos), no importa si no han tenido MECP2, porque el cerebro igualmente se desarrolla bastante normalmente. Quiero decir, estructuralmente no hay nada mal. Y una vez devuelves la proteína activa, la proteína sabe dónde ir, y simplemente lleva a cabo su tarea. Así que nuestros niños no tienen un problema de metilación. Los grupos metilo están ahí. Están en el lugar adecuado. Lo que falta es la proteína que lee el patrón de metilación y traduce lo que se supone que debe hacer. Y traduce el patrón apagando o encendiendo los genes apropiados. ¿Tiene sentido?

Así, que este era realmente un experimento de cambio del paradigma (modelo general). Y creo que todo el mundo se sorprendió con el hecho de que la enfermedad fuera reversible hasta el punto que lo fue en el experimento y por el hecho de que fuera llevado a cabo en ratones adultos. Creo que mucha gente pensó: Ratones recién nacidos (bien, si los tratas antes de que desarrollen los síntomas puede funcionar). Pero fue bastante revolucionario pensar que podrías llevar a cabo esto con ratones adultos. Ahora, desde que salió el experimento, ha habido otros similares, a pesar de que ni mucho menos con reversiones tan dramáticas, para otras enfermedades que han sido realizados con diferentes metodologías (y han sido llevadas a cabo para el Síndrome de Down, el X Frágil y para Neurofibromatosis y otras enfermedades). De manera que veo el cambio de paradigma justo delante de mis ojos en la comunidad neurocientífica tal como empiezan a pensar en las enfermedades del neurodesarrollo como enfermedades que se pueden curar. No sólo al nacer, sino potencialmente en adultos también. Y lo bueno del Síndrome de Rett es que tenemos las ventajas de tener un gen conocido y otras cosas que comentaré en un momento.

(DIAPO)OK, así que ¿A dónde vamos a partir de aquí? Bien, tenemos el experimento. Tenemos un gen. Tenemos modelos de animal. ¿A dónde vamos a partir de aquí? Quiero hablaros a cerca de, probablemente, lo que estéis más interesados: ¿Cuáles son los tratamientos y curas potenciales que pueden venir? Bien, así que voy a hablar de tres amplias áreas de tratamientos potenciales y la primera es incrementar los niveles de MECP2. (DIAPO) El Síndrome de Rett, en la mayoría de casos, creemos que se debe a bajos niveles de MECP2. Hay una mutación en el gen (la proteína no se genera en cantidades suficientes). Puede haber casos en los que algunas de las mutaciones, tal vez, pueden resultar en demasiada proteína. No sabemos esto todavía. Pero ahora mismo creo que el consenso en el campo es que se debe a niveles bajos de MECP2. Así que necesitamos incrementar los niveles de MECP2. ¿Cómo podemos pensar en llevar eso a cabo? Bien, la primera manera es activando el MECP2 silenciado que se encuentra en el cromosoma X inactivo. Recordaran que las mujeres tienen dos cromosomas X. Uno de ellos está inactivo. Si pudiéramos activar el MECP2 en este cromosoma X que está inactivo, en teoría curamos la enfermedad. Ahora, es fácil decirlo: Bien, seguro, ¿por qué no lo activamos simplemente? En realidad es muy difícil de hacer. Y todavía no ha sido conseguido por nadie para ninguna enfermedad. Pero este un método que encuentro extremadamente intrigante. Y debo decir que cuando saco a relucir el tema en reuniones científicas o por teléfono con gente, normalmente se ríen de mí. Como, “Sí, sabes...es genial pero es demasiado difícil de hacer”. Esto ha cambiado en el último año o dos. Y parcialmente ha cambiado porque tenemos nuevos datos a cerca de cómo los genes son silenciados en el cromosoma X inactivo. Por ejemplo, sabemos que incluso en el X inactivo sobre el 20% de los genes se escapan de la inactivación y realmente generan proteína. Sabemos que los genes en el X inactivo se apagan en diferentes fases. No es como si el X inactivo...¡BOOM!...se vuelve inactivo. Sucede a lo largo del tiempo en diferentes fases. De manera que el mensaje es que, creo que se pensaba en el X inactivo como en una fortaleza inexpugnable donde no se podría pensar en activar un gen. Creo que la gente piensa ahora que en realidad puede ser más susceptible de modificaciones. Además, la tecnología

está mejorando. La gente está entendiendo más a cerca de la epigenética. Parece haber más interés en explorar esta área.

¿Y cómo podemos pensar a cerca de llevar esto a cabo? Bien, dos proyectos, por ejemplo, que el *Rett Syndrome Research Trust* está financiando ahora mismo tienen dicha finalidad. Uno de los proyectos es desarrollar un ensayo que detecte activación de MECP2 en el X inactivo, y la exploración de compuestos y la búsqueda de genes que puedan activarlo. Así que básicamente es un método donde no nos preocupa el mecanismo que mantiene MECP2 silenciado. Simplemente queremos ver si podemos encontrar un medicamento o un gen que pueda activar de nuevo MECP2. Es una especie de método a ciegas. El ensayo está siendo desarrollado ahora y así encontraremos cuán sensible es y empezar a explorar compuestos y buscar genes. Y ver si esto arroja alguna información. También estamos financiando un proyecto que mira al polo opuesto. Y esto es que vamos a intentar encontrar e identificar cuál es el mecanismo que está manteniendo el MECP2 silenciado en el X inactivo. Si supiéramos lo que es, tal vez pudiéramos revertirlo. Y diferentes laboratorios van a intentar pensar a cerca de cómo encender el gen MECP2 de diferentes maneras. Puede ser a través de medicamentos. Puede ser mediante terapia génica. Pero lo bueno es que la gente está pensando a cerca de ello, mientras que un año o dos atrás se creía inalcanzable. Ambicioso. Ciertamente ambicioso. Pero la belleza de ello es que no tenemos que saber necesariamente que es lo que MECP2 lleva a cabo. No importa cuáles son los genes-objetivo. No importa cuáles son las funciones. No lo tenemos que saber. Todo lo que sabemos es que si podemos encenderlo de nuevo y normalizar los niveles de la proteína, los síntomas desaparecen. Y esto nos lleva al problema genético subyacente sin tener que comprender la neurobiología de la enfermedad. Y esto es lo que encuentro bastante interesante.

OK, la restauración de la proteína de longitud completa. El medicamento PTC y otros medicamentos hacen esto. Para aquellos de vosotros cuyas hijas tienen un codón stop prematuro (mutación terminadora) (la letra X al final de la mutación) hay una clase de medicamentos (principalmente antibióticos) que pueden leer a través de estos codones stop prematuros. En otras palabras pueden ver la diferencia entre un codón stop que no se encuentra donde se supone que debe estar y un codón stop que se encuentra al final de la proteína que debe estar ahí. Y pueden básicamente unirse y ayudar a la proteína a finalizar y tener su tamaño normal. El medicamento PTC es uno de ellos. Hay otros. Algunos de ellos se encuentran en el mercado y se usan como antibióticos. Un par de desafíos. Uno es que algunas de esos medicamentos son bastante tóxicos. Una cosa es estar bajo una dosis de antibiótico durante un par de semanas para combatir una infección. Otra cosa completamente distinta es poner a un niño para el resto de su vida. El otro tema es que lo necesitamos en el cerebro. E introducir estos medicamentos en el cerebro puede ser más difícil. Pero hay un esfuerzo considerable en dicha área. Así que creo que para aquellos de vosotros cuyas hijas con codón stop (este particular tipo de mutación) esta es un área para estar al corriente. Lo interesante es que estos medicamentos son genéricos, en el sentido que PTC no está diseñado para el Síndrome de Rett, por ejemplo. En este sentido, es genérico. Quiero decir, cualquier enfermedad, cualquier enfermedad genética donde hay un subconjunto de mutaciones que causan este codón stop prematuro es un indicador potencial para uno de estos medicamentos. Esa es su belleza. No tiene que ser específico para la enfermedad. También deberíais saber, que cuando lee a través y une el codón stop, eso introduce otra mutación. Esperamos que esta otra mutación no cause más problemas que el codón stop que la niña tenía de entrada.

En cualquier caso, esta es un área que creo que es bastante interesante. Y hay empresas de biotecnología y farmacia que están trabajando en estos medicamentos, y ahora mismo están siendo probados (por ejemplo PTC está siendo probado para fibrosis quística y distrofia muscular). Estas no son enfermedades neurológicas. Será mucho más difícil introducirlo en el cerebro. Pero en cualquier caso, estas son cosas que puedes hacer con un medicamento a través de lo que se llama química médica que cambia (juegas con ello) el medicamento cambiando su estructura y sus atributos de manera que puedes esperar, con suerte, reducir su toxicidad, reducir las cosas malas, y ayudar, por ejemplo, a incrementar su permeabilidad en el cerebro.

OK, lo siguiente es el plegamiento inadecuado de proteínas. Esta es un área que todavía está muy, muy inmadura y muy, muy preliminar para el Síndrome de Rett. Pero en general sabemos que hay proteínas en muchas otras enfermedades, incluidas Parkinson y otras enfermedades, que se deben al plegamiento inadecuado de proteínas. La proteína no está doblada correctamente, y si no está doblada correctamente no puede llevar a cabo su función de la manera apropiada. Y hay una nueva clase de medicamentos nuevos llamados "*pharmacological chaperones*" (acompañantes farmacológicos) que ayudan a volver a plegar la proteína apropiadamente. Y algunos de esos son más o menos genéricos y otros no lo son (es un área bastante nueva de la ciencia). Pero hay algunos artículos que sugieren que tal vez algunas de las mutaciones del Síndrome de Rett causen

plegamiento inadecuado de proteínas. De nuevo, muy preliminarmente, pero sólo quiero poner esto como un ejemplo de otra área que puede ser de interés para el Síndrome de Rett (estos plegamientos inadecuados de proteínas y los acompañantes farmacológicos).

Y luego tenemos la terapia génica y el reemplazo de proteínas. Una pregunta que se me hace a menudo es: "Bien, conocemos el gen, MECP2, sabemos que muta. ¿Por qué no podemos simplemente hacer terapia génica y ponerlo dentro de nuevo?". Tiene sentido y tal vez con el paso del tiempo seremos capaces de llevarlo a cabo. El problema es que la terapia génica por el momento tiene muchos desafíos. Empiezan a haber algunos resultados significativos y creo que es un campo que finalmente está avanzando y creo que vamos a empezar a ver un progreso significativo. Pero específico para el Síndrome de Rett, los desafíos que existen son: Uno, ¿dónde lo ponemos? El cerebro es un órgano muy grande. Todavía no sabemos cuales son las partes específicas del cerebro que causan los síntomas. El retorcimiento de las manos, ¿de qué parte del cerebro proviene? No es factible pensar en llevar a cabo terapia génica en cualquier lugar del cerebro. Es por eso por lo que, por ejemplo, cuando oyes hablar de terapia génica, a menudo lo oyes para la enfermedad de Parkinson. Esto es porque el área del cerebro que causa Parkinson es un área muy específica (substantia nigra) que puede ser el objetivo, y hay pérdida celular, y se puede reemplazar la proteína, reemplazar las células. En el Síndrome de Rett, todavía no sabemos qué partes del cerebro son el mejor objetivo. Esto es un obstáculo significativo. Además simplemente como campo en general, meter genes en el cerebro, la entrega es un problema. Así que es más fácil pensar a cerca de la terapia génica para un corazón lesionado o reemplazar genes en la sangre. Aquí se trata de meter los genes en el cerebro. Así que estos son los inconvenientes. Lo bueno del caso es que estas son áreas en las que hay gente trabajando, incluso no específicamente para el Síndrome de Rett. La entrega de genes en el cerebro es un área que está siendo investigada. Cualquiera que sea el progreso llevado a cabo en estas áreas seremos capaces de subirnos al tren. Así que es ciertamente un campo que creo que es interesante, y está progresando, y creo que al final tendrá un beneficio para nosotros.

Así que creo que un conjunto importante de experimentos de los cuales tenemos que aprender incluyen: ¿Cuáles son las partes del cerebro que son cruciales para el Síndrome de Rett? Y este es otro proyecto que estamos financiando con Adrian Bird, dónde él (y otros también, Huda Zoghbi lo está haciendo y otros también lo están haciendo) está rehaciendo el experimento de reversibilidad, pero en lugar de usar un ratón que tiene Cre por todas partes, hay ahora ratones que sólo tienen Cre en partes específicas del cerebro. Así que cuando rehaces los experimentos de reversión que él hizo (cuando das Tamoxifen y el Cre va al núcleo y empalma el emplazamiento loxP y enciende MECP2) esto sólo ocurre dónde hay Cre. Si sólo tienes Cre en ciertas partes del cerebro, y entonces analizas qué síntomas se han revertido, entonces deberías ser capaz de correlacionar los síntomas con partes específicas del cerebro. Así que estos son los experimentos que están siendo llevados a cabo en los laboratorios de Adrian Bird, Huda Zoghbi y otros. Yo desearía que en un par de años fuéramos capaces de trazar un mapa de los síntomas del Síndrome de Rett con el cerebro de un ratón. Y seremos capaces de decir: "Esta parte del cerebro causa esto, esa parte causa aquello". O debería decir: "La deficiencia de MECP2 en esta parte del cerebro, o esa parte del cerebro". Cuando sepamos esto, con suerte el campo de la terapia génica y la entrega en el cerebro habrán avanzado también y entonces seremos capaces de unirlos y pensar en llevar a cabo terapia génica en el cerebro con las nuevas opciones de entrega.

Y el reemplazo de proteínas es más de lo mismo. El reemplazo de proteínas (como la insulina, por ejemplo para los diabéticos) no es terapia génica pero estás reemplazando la proteína. Es fácil reemplazar una proteína en la sangre. Es mucho más difícil reemplazar una proteína en el cerebro. Pero de nuevo, los mismos problemas que justo he descrito para la terapia génica frenan el reemplazo de proteínas.

OK, lo siguiente a investigar es genes-objetivos (o modificadores). Hemos hablado a cerca de los genes-objetivo. Desafortunadamente, creo que hay muchos de ellos y creo que es complicado. Y creo que va a pasar algún tiempo antes de que estos genes sean identificados. Y entonces, al final, ¿qué tenemos? Tenemos un montón de genes y, ¿qué hacemos? No podemos idear una estrategia de tratamiento para cada gen que está sub-expresado. Creo que va a ser duro, salvo que podamos encontrar algunos genes mayores (BDNF, por ejemplo, que es *Brain Derived Neurotrophic Factor*, ahora mismo es uno de los genes MECP2 objetivo más interesantes y hay medicamentos que incrementan los niveles de BDNF). Así que este puede ser un ejemplo de un gen-objetivo que puede jugar un papel en tratamientos.

Alguien preguntó: "¿Hay gente con mutaciones MECP2 y sin síntomas?". La respuesta es sí. Hay personas con mutaciones MECP2 comunes que deberían causar verdadero Síndrome de Rett. Tienen patrones de inactivación del X normales, así que no es el sesgo de la inactivación del X lo que los

hace ser “normales” y no ser “Rett” Estos son, en algunos casos, niños que hablan (en algunos casos más de un idioma), montan en bicicleta, van a la escuela y tocan instrumentos. Eso sí, tienen problemas. Tienen ansiedad. Pueden tener dificultades de aprendizaje. Pero ciertamente no tienen el Síndrome de Rett. ¿Qué sucede en esos niños y adultos? ¿Qué les protege de tener verdadero Síndrome de Rett? Bien, sabemos por otras enfermedades que con toda probabilidad se trata de genes modificadores. Se trata de mutaciones en otros genes que les protegen de los síntomas de una mutación MECP2. Un ejemplo en el que podemos pensar es el siguiente. Puedes tomar dos personas que fuman tres paquetes de cigarrillos al día y uno tiene cáncer y el otro no. ¿Por qué? Esto es debido a su propia composición genética individual. Si pudiéramos identificar cuales son esos genes modificadores, esto nos daría otra vía para la intervención. Y con suerte estos genes modificadores serán más “drogables” que MECP2. MECP2 es un gen duro en el que actuar. Es un represor transcripcional. Está en el núcleo. Esta es un área muy interesante. Uno de los proyectos que estamos financiando está intentando identificar estos genes modificadores en ratones. No os voy a aburrir con detalles del experimento. Es farragoso. Ya han pasado por 8000 ratones. Pero están empezando a dar resultados interesantes. Y si podemos identificar esos modificadores, entonces podremos buscarlos en pacientes (esos niños que no tienen síntomas) y empezar a avanzar y con suerte identificar algunos de esos genes. Parte del problema es que es muy difícil identificar a esos niños y adultos que tienen mutaciones MECP2 pero no tienen los síntomas ¿por qué iba alguien a pensar en buscar mutaciones MECP2 si no tienen los síntomas? Así que es una especie de proceso de educación dónde tienes que intentar que los investigadores piensen en llevar a cabo análisis de MECP2 rutinarios a grupos de gente mucho más amplios. Esto es algo que va a llevar tiempo. Además, el análisis de MECP2 no es barato. Así que es difícil encontrar esos casos. OK, y ahora el método síntoma a síntoma. Esto es bastante diferente que intentar solventar el problema original.

PREGUNTA: ¿Estos casos más leves son en familias que ya tienen Rett?

RESPUESTA: No. No los que yo conozco. No. En un caso se trataba de una familia que conocían a una niña Rett y fueron capaces de juntar las piezas del puzzle, y una madre sabía quién fue suficientemente astuta para decir: “¿Sabes qué? Mi hija a la edad de un año perdió algo de manejo de las manos y hay algunos problemas con sus manos”. Insistió en que su hija fuera chequeada y resultó que tiene una mutación común de MECP2.

Bien, así que el método síntoma a síntoma dice: “Bien, mientras trabajamos en el problema genético original e intentamos solventarlo, pueden haber ya medicamentos que puedan ayudar a nuestros hijos”. Entonces, si pudiéramos encontrar algo que reduzca las epilepsias, que reduzca la ansiedad, que incremente el sueño y demás, ciertamente su calidad de vida y la nuestra mejorarían tremendamente. Esto es algo en lo que estamos interesados y no va a resultar en una cura para el Síndrome de Rett, pero puede resultar en tratamientos. Y hay medicamentos que no necesitamos entender su mecanismo. En realidad la mayoría de los medicamentos no sabemos como funcionan. Así que no es inconcebible que algo que primero fuera usado para la epilepsia, ahora se use para la migraña o la pérdida de peso. Se le llama reutilización (nueva utilidad). Así que estamos probando, por ejemplo, muchos compuestos y medicamentos aprobados por la FDA. ¿Cuál es la diferencia entre medicamentos y compuestos? Los medicamentos están aprobados por la FDA y se encuentran en el mercado. Los compuestos están en el proceso de convertirse en medicamentos pero no han llegado suficientemente lejos como para obtener la aprobación de la FDA. Tal vez no han sido usados en pruebas médicas. Tal vez no han sido probados en humanos.

PREGUNTA: ¿Si a tu hija no se le ha detectado una mutación, todas estas curas mencionadas no serían buenas para él?

RESPUESTA: Bueno, el síntoma a síntoma ciertamente podría. No podríamos darle un medicamento, por ejemplo, que activara el MECP2 en el X inactivo si no supiéramos que tenían una mutación MECP2. No. Sé cuan frustrante para aquellos que no tenéis una mutación MECP2. Lo siento por vosotros porque sé lo difícil que es. Os sentís en el limbo. Lo que diría es, primero hacédnoslo saber. Tengo una lista de gente cuyos niños no tienen mutación. Estamos en contacto con estas familias y les notificaremos cuando encontremos algo nuevo. Llevad a vuestros hijos al genetista una vez al año porque hay análisis nuevos, se identifican nuevos genes constantemente. Manteneros informados, y vamos a esperar que con el tiempo lo encontremos. Estoy convencida de que con el tiempo lo haremos. Parte de ello es simplemente un problema técnico de analizar el gen MECP2 completo. Mirando adelante un número de años, mi opinión personal es que el Síndrome de Rett será tratado mediante un método de cóctel. Por ejemplo, potencialmente podemos tener un medicamento que

puede activar MECP2 en el X inactivo, probablemente no puede actuar en todas las células porque requeriría mucho medicamento. Así que tal vez podríamos usarlo quizá en combinación con una proteína de reemplazo combinada con algunas medicinas para reducir los síntomas. Y creo que es una expectativa razonable. Y los obstáculos clave ahora mismo son identificar las regiones del cerebro y la entrega al cerebro. Porque las medicinas, las pequeñas moléculas y la terapia génica y el reemplazo de proteínas tenemos que introducirlos dónde cuenta, que es en el cerebro.

Así que quiero dedicar tan sólo un minuto o dos a hablar a cerca del proceso de descubrimiento de medicinas y algunos de los desafíos. Pueden ver una línea del tiempo aquí y está dividida en básico, translacional, y clínica. Probablemente han estado escuchando mucho de ciencia trasnacional y tal vez se pregunten qué es realmente. La ciencia básica es a lo que se dedican muchos investigadores en los hospitales universitarios y está típicamente financiado por la NIH y otras agencias gubernamentales y otras fundaciones como el *Howard Hughes Medical Institute*. Una vez estás en ello, una vez un objetivo se ha identificado (por ejemplo, si tuviéramos una medicina que pareciera leer a través de los codones stop del MECP2, o si hubiera un compuesto que pareciera activar MECP2 en el X inactivo, o si hubiera un vector que pudiera entregar MECP2 a los lugares apropiados del cerebro dónde lo necesitaríamos) entonces empieza el largo y pesado proceso de trabajo de translación. Y cuando el trabajo de translación se convierte en un poco más refinado y menos arriesgado, entonces es cuando las compañías farmacéuticas y empresas de biotecnología entran en acción. A las compañías farmacéuticas no les gusta asumir demasiado riesgo en ciencia porque deben responder a sus accionistas y necesitan hacer dinero. Este no es un problema único en el Síndrome de Rett. Es lo que cada enfermedad (y las enfermedades raras más) sufre. Así que ¿cuando hay ciencia que se ha desarrollado más allá de la ciencia básica y necesita más trabajo de translación, quién lo financia? ¿Y quién lo incentiva? No estoy muy preocupada a cerca del hecho de que el Síndrome de Rett sea raro, porqué hay modelos de negocio como *Genzyme* que han probado que puedes hacer dinero y tener un modelo de negocio basado en enfermedades raras. *Genzyme* ha desarrollado medicinas de reemplazo de proteínas para enfermedades mucho más raras que el Síndrome de Rett. Estamos hablando de uno de cada cien o dos cientos mil niños. Así que el modelo de negocio está ahí. No es para preocuparse. Lo preocupante es que la ciencia no está suficientemente madura y tenemos que desarrollar más nuestra ciencia. Pero creo que hay muchas razones para mantener la esperanza.

Nota 1 de traducción, las niñas con mutación en el gen CDKL5, son Rett atípicas, con la variante de epilepsia precoz o rebelde al tratamiento. No se han encontrado Rett clásicas con mutación en el gen CDKL5. Desde el 2008 se conoce otro gen que se encuentra mutado en niñas Rett con la variante congénita: el gen FOXP1.

Nota 2 de traducción, estos casos suelen nacer en el seno de familias con más de un caso de Síndrome de Rett.

Nota 3: El doctor Manel Esteller opina, aclarando una pregunta al respecto, que (al menos en el cáncer) el mecanismo es siempre represor. Lo que pasa es que si A desactiva B y B desactiva C entonces cuando A no hace su trabajo es lo mismo que si A activara C. C que debía estar desactivado está activado porque A no está funcionando bien. En ese sentido se podría decir que A activa C pero solo indirectamente.

## **ALGO DE VOCABULARIO GENÉTICO**

[http://www.medtrad.org/panacea/IndiceGeneral/n12\\_tradyterm\\_Claros-Saladriga-Halphen.pdf](http://www.medtrad.org/panacea/IndiceGeneral/n12_tradyterm_Claros-Saladriga-Halphen.pdf)

**chromatin:** cromatina.

Fibras de ADN y de proteína presentes en el núcleo de la mayoría de las células eucariontes que están en interfase. Cada fibra consta de una única y larga molécula de ADN genómico asociado a histonas, otras proteínas y ARN; está organizada en subunidades llamadas nucleosomas, más o menos condensadas en estructuras de 30 o 10 nm de diámetro (véase la figura). En la metafase de las células en división mitótica o meiótica, la fibra en forma de solenoide de 30 nm ya duplicada se pliega y enrolla adicionalmente para formar supersolenoides de mayor diámetro (400-600 nm) que conforman un cromosoma de dos cromátidas unidas por el centrómero. La cromatina, como sustancia que constituye el núcleo interfásico, fue clasificada en un principio en dos categorías distintas según su reacción a la tinción. La cromatina mayoritaria se denominó eucromatina y la que se teñía de forma distinta se llamó heterocromatina. Hoy día se distinguen por otras propiedades: la heterocromatina consta de fibras de nucleoproteína muy condensadas, casi como los cromosomas en la mitosis (lo cual impide la transcripción de genes), se duplica de forma desfasada de la eucromatina y puede contener secuencias extremadamente repetidas; la eucromatina consta de fibras menos condensadas que un cromosoma mitótico. Los genes se transcriben siempre a partir de la eucromatina.

**Observación:** la cromatina se definió a fines del siglo XIX como «la sustancia que constituye el núcleo interfásico y muestra ciertas propiedades de tinción» (Flemming, 1882).<sup>7</sup> Hoy día esta denominación se utiliza mayoritariamente en relación con la organización molecular del material hereditario de los organismos eucariontes.

**nonsense mutation:** mutación terminadora. Mutación puntual que convierte un codón codificante en un codón de terminación en el ARNm transcrito. De esta manera, una mutación puntual en el codón UAU (tyr) que lo transforme en UAG (codón de terminación, denominado «ámbar» por motivos históricos) redundará en la interrupción de la síntesis de una proteína en el lugar donde debería insertarse la tirosina en el polipéptido original (*wild-type*). Un cambio de marco de lectura puede conllevar asimismo la aparición de un codón de terminación.

**missense mutation:** mutación de aminoácido. Mutación puntual que cambia un codón codificante (*sense codon*) por otro que especifica un aminoácido distinto en el ARNm transcrito. La proteína correspondiente contendrá, pues, un aminoácido diferente del original y ello afectará a su función según el sitio en que se produjo la mutación y la naturaleza del reemplazo de aminoácidos. Cualquier sustitución de aminoácidos constituye una *missense mutation*, pero en la práctica éstas sólo se manifiestan fenotípicamente si producen una modificación de la actividad de la proteína. Véase SENSE CODON y POINT MUTATION.

**Observación:** los libros de texto y glosarios específicos recogen traducciones tan variopintas como «mutación de cambio de sentido», «mutación de sentido equivocado», «mutación sustitutiva», etc., sin que ninguna haya sido consagrada por el uso todavía. La última («mutación sustitutiva») puede prestarse a confusión, puesto que en la jerga genética se llaman «sustituciones» los reemplazos de nucleótidos o de bases dentro de un gen sin que ello cause necesariamente un cambio de aminoácido en la proteína correspondiente, como en este caso.

Véase BASE-PAIR SUBSTITUTION y FRAMESHIFT MUTATION

**frameshift mutation:** mutación del marco de lectura. Adición o sustracción de un nucleótido en una hebra de ADN en formación (lo cual puede deberse a la presencia de sustancias intercalares que actúan como mutágenos en la hebra que sirve de plantilla, como los colorantes de acridina) que redundará en un cambio del marco de lectura. Por consiguiente, el ARNm transcrito a partir del alelo mutado (con un nucleótido de más o de menos) será leído sin problemas hasta el punto de inserción o sustracción del nucleótido, pero a partir de allí, como el marco de lectura es diferente, los codones cobrarán otro significado, se incorporarán otros aminoácidos en la proteína o aparecerán codones de terminación prematura de la síntesis de esa proteína.

**Observación:** poco sentido tendría, y sería redundante, traducirlo por «mutación de cambio del marco de lectura» por cuanto la palabra «mutación» deriva del latín «*mutatio, -onis*», que significa precisamente «cambio».

**deletion:** deleción.

Pérdida de uno o más pares de bases en una molécula de ácido nucleico.

**Observación:** no debe escribirse con doble ce. Esta voz nos viene del inglés a través del latín *deletio*. Vertida al castellano da «delección» y no «delección».

**reversion:** reversión.

En sentido amplio, es la restauración parcial o completa del fenotipo normal de un mutante. Se produce por dos fenómenos distintos: la retromutación y la mutación supresora. Véase REVERSE MUTATION y SUPPRESSOR MUTATION.

Para saber sobre el CRE –loxP . visualizar la siguiente página:

<http://www.icampus.ucl.ac.be/courses/SBIM2520/document/genemol/biomolespa/cre-lox/cre-lox.html>

ratón knock-out:

Un **knockout** de un [gen](#) ( gen knock-out) es una técnica [genética](#) que consiste en bloquear la expresión de un gen específico en un organismo (un ratón, una planta, una levadura...), sustituyendo el gen original en su [locus](#) por una versión modificada del mismo, a la que se ha extraído uno o varios [exones](#) para generar una versión no funcional, incapaz de producir la [proteína](#) que codificaba el gen original.

Sustancia negra:

[http://es.wikipedia.org/wiki/Sustancia\\_negra](http://es.wikipedia.org/wiki/Sustancia_negra)

medicina translacional :

«trasladar hasta la cama del enfermo los resultados que se obtienen en los laboratorios»