

Acercamiento a la correlación genotipo- fenotipo en familias cubanas con síndrome Marfan.

Approach to the genotype-phenotype correlation in Cuban families with Marfan syndrome.

Jeanette Hernández Llanes,^I Paulina Araceli Lantigua Cruz.^{II}

Resumen

El síndrome Marfan es una condición hereditaria por mutación del gen de la fibrilina 1. La caracterización de las mutaciones encontradas a nivel mundial ha revelado gran heterogeneidad alélica y clínica. Se realizó un estudio de tipo descriptivo con el objetivo de caracterizar clínicamente a los pacientes con este síndrome atendidos en la consulta de Genética Clínica del Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez entre los años 2000 – 2010. A partir de la relación entre la expresión fenotípica y las mutaciones del gen de la FBN 1 descritas para esta enfermedad se propone una estrategia para el estudio molecular de cada familia y un algoritmo diagnóstico para el estudio molecular de los pacientes cubanos con síndrome Marfan que posibilitará prevenir precozmente las complicaciones.

Palabras clave: Síndrome Marfan, mutaciones, correlación genotipo- fenotipo, diagnóstico.

Abstract

Marfan syndrome is a hereditary condition caused by the mutation of the fibrillin-1 gen. The characterizations of the mutations found worldwide have revealed a great allelic and clinic heterogeneity. A descriptive study aimed at clinically characterizing the patients with this syndrome being attended at the Clinical Genetics Department in the “Juan Manuel Márquez” Pediatric Hospital from 2000 to 2010 was carried out. From the relation between the phenotypic expression and the mutations of the FBN-1 gen described for this disease, a strategy for the molecular study of each family and a diagnosis algorithm for the molecular study of Cuban patients with Marfan syndrome are proposed. The strategy and the algorithm will facilitate the early prevention of possible complications.

Keywords: Marfan syndrome, mutations, genotype-phenotype correlation.

Introducción

El síndrome Marfán (SM) (OMIM #154700) es una condición hereditaria que afecta el tejido conectivo y sigue un patrón mendeliano autosómico dominante; en él se evidencia el efecto pleiotrópico del gen de la fibrilina (FBN 1), pues en este síndrome se afectan los sistemas: musculoesquelético (ME), oftalmológico (OFT), cardiovascular (CV), entre otros.¹ La caracterización de las mutaciones encontradas han revelado gran heterogeneidad alélica y clínica en esta enfermedad,^{1,2} por lo que el análisis clínico de los pacientes debe ser el punto inicial y final en cualquier estudio relacionado con el síndrome.

El gen de la FBN 1 se localiza en 15q-21.1 y abarca 235 Kb de ADN genómico con secuencia codificadora de 65 exones a partir de los cuales se genera un ARN m. El propéptido que resulta de la traducción es la profibrilina-1. El producto proteico maduro que

sucede es la fibrilina-1, una glicoproteína monomérica de 350 KD que se encuentra como agregado estabilizado por puentes disulfuro asociados (aorta) o no (zona ciliar) con la elastina, así como formando las microfibrillas de 10-12 nm de la matriz extracelular.¹ Los estudios moleculares del gen FBN 1 en pacientes con criterios clínicos del SM, reportan más de 1 000 mutaciones en este gen (The UMD-FBN1 mutations database, <http://www.umd.be/FBN1/>) distribuidas en todos los exones.³ No se ha podido identificar una región del gen que ofrezca la posibilidad de considerar en un primer análisis el enfoque del estudio molecular a un exón determinado, esto ha limitado la caracterización molecular de pacientes con el síndrome en el país y por ello se desconocen las mutaciones más frecuentes en los pacientes cubanos; todos han sido diagnosticados desde el punto de vista clínico según los criterios de Ghent para el síndrome.⁴

^I Máster en Ciencias en Genética Médica. Especialista de Primer Grado en Medicina Interna. Profesor Auxiliar. Hospital Calixto García Iñiguez. La Habana. Cuba. E-mail: jeanette@infomed.sld.cu.

^{II} Doctora en Ciencias Médicas. Especialista de Segundo Grado en Genética Médica. Profesor Titular. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba.

Durante años el diagnóstico clínico se ha basado en la experiencia de las familias estudiadas y ha servido para comparar el comportamiento del síndrome. El SM se manifiesta con variaciones dentro de una misma familia y a su vez, entre familias se encuentran expresiones fenotípicas diferentes que pueden estar en relación con la propia enfermedad o con la interacción de la misma con el medio ambiente.⁵ Lantigua, en 1981,⁶ así como otros autores,^{5,7} hace referencia al diagnóstico difícil en el caso de las enfermedades dominantes y con efecto pleiotrópico del gen, así como a la variabilidad de la expresión en este síndrome.

La delineación fenotípica de las familias cubanas con SM registradas a través de años de atención clínico - genética es necesaria para sugerir la estrategia de estudios por técnicas de genética molecular que permitan la identificación de las mutaciones en el gen de la FBN 1 descritas para esta enfermedad, lo cual responde a la necesidad de utilizar las técnicas moleculares de manera eficaz ante la imposibilidad en el país de búsquedas de mutaciones en todo el gen por métodos de secuenciación.

Métodos

Se realizó un estudio transversal descriptivo con el objetivo de caracterizar clínicamente, entre los años 2000 – 2010, a 10 familias cubanas con diagnóstico clínico de SM, en las que los individuos afectados fueron atendidos durante la edad pediátrica en la consulta de Genética Clínica del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez”. Estas familias están registradas en

la base de datos del Grupo Nacional de Marfan. En todas se tuvieron en cuenta los datos de pacientes fallecidos tomada de la HC de estos pacientes.

Se excluyeron todos los pacientes con diagnóstico de SM sin Antecedentes Patológicos Familiares (APF). Como fuente primaria de información se utilizaron la base de datos del Grupo Nacional de Marfan y las historias clínicas de la consulta de Genética del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez”.

Todos los pacientes fueron evaluados en el momento del estudio en una consulta de Medicina Interna del hospital “Calixto García” habilitada al efecto, donde previo consentimiento informado fueron interrogados y se les realizó el examen físico. En caso necesario se interconsultaron con otros especialistas, como parte del seguimiento multidisciplinario necesario en este síndrome.

Resultados y Discusión

En este estudio se examinaron 113 individuos, de estos 39 presentaron los criterios de Ghent incluyendo la historia familiar, 17 presentaron manifestaciones variables del síndrome y 57 no mostraron evidencias del fenotipo Marfan. El fenotipo completo o con variaciones de expresividad fue detectado en el 49,6 % de los 113 individuos estudiados en correspondencia con la segregación del 50 % de una mutación con herencia autosómica dominante. En la tabla 1 se presenta un resumen numérico de los resultados de la caracterización fenotípica de las familias con SM estudiadas.

Tabla 1. Número de individuos de cada familia con SM según variable estudiada.

Familias	Total de individuos analizados	A Número de pacientes con criterios de Ghent	B Número de pacientes con defectos/ Frustrés	C Número de pacientes sin defectos
I	10	2	4	4
II	7	2	1	4
III	18	11	1	6
IV	7	2	0	5
V	11	4	2	5
VI	23	2	2	19
VII	14	7	2	5
VIII	9	3	3	3
IX	9	3	2	4
X	5	3	0	2
Total	113	39	17	57

Se observó un comportamiento diferente entre familias en correspondencia con la gran variabilidad en la expresión reportada para el síndrome. El síndrome Marfan clásico con fenotipo cardiovascular severo se observó en 7 familias, mientras solo una presentó el fenotipo clásico pero sin compromiso cardiovascular

severo. Se consideró compromiso cardiovascular severo en presencia de dilatación o disección aórtica, insuficiencia aórtica, mitral, pulmonar o tricuspídea que produzcan insuficiencia cardíaca e incluso otras complicaciones que incluye a la muerte súbita.

El fenotipo atípico severo (sin ectopia lentis) versus síndrome MASS (OMIM #604308), se sugirió en otra familia. Otra familia mostró un fenotipo leve del síndrome versus síndrome MASS. Las características clínicas de cada familia se presentan más adelante, en detalle.

En la familia I se detectó que el propósito tiene manifestaciones más severas que su progenitora, abuelo materno y tías abuelas maternas, que incluso alcanzaron edades seniles con defectos musculoesqueléticos y oftalmológicos. Las familias que tienen algunos miembros con expresión incompleta del síndrome (forma frustre), además de la familia I, fueron la II, III, V, IX.

Las múltiples mutaciones descritas en el gen FBN 1, se relacionan con las variaciones en la expresividad clínica inter e intrafamiliar. La distribución en diferentes sistemas y órganos de la proteína fibrilina, hace que mutaciones en este gen tengan un efecto pleiotrópico.^{8,9}

Una de las causas que pudiera incidir en la expresividad variable es el hecho de que los individuos sean heterocigóticos digénicos, lo que pudiera explicar las características clínicas de las familias I, III, V y IX, en relación con la presencia de várices, epístaxis y escleras azules. Estas manifestaciones clínicas se pueden observar en cualquiera de las entidades del tejido conectivo incluyendo el SM, pero en familias donde existe hiperlaxitud de forma agravada, como por ejemplo en las familias III y V, estas características clínicas pudieran sugerir una probable interacción de la fibrilina con otras proteínas del tejido conectivo como el colágeno.

La presencia de escleras azules fueron descritas en el SM desde 1955 y puede explicarse debido a la delgadez del tejido conjuntivo de la esclerótica a través de la cual se observa el tinte azulado correspondiente a la coroides. En el año 1962 esta alteración fue encontrada con más frecuencia en la osteogénesis imperfecta.⁶

En el caso de la familia IV, quizás no tenga el mismo valor el carácter digénico, pues no existe fenotipo que haga sospechar imbricación con otras entidades del tejido conectivo, ni expresividad variable que sugiera que hay manifestaciones solapadas entre el SM y otras conectivopatías.

En las familias VI y VII se detectaron hemorragias cerebrales. En el caso de la familia VI, el fenotipo que se segrega es leve con tendencia a considerar el síndrome Mass y en la familia VII hay un comportamiento de homocronicidad y homotipicidad en los tres sistemas afectados. Las hemorragias cerebrales

se pueden encontrar en todas las entidades mencionadas del tejido conectivo incluido el SM¹⁰ No se encontraron las causas de estas hemorragias en los dos casos descritos.

Algunos estudios donde se detectan mutaciones del gen de la FBN 1 orientan hacia la correlación genotipo-fenotipo en el SM, al menos en ciertas mutaciones y han demostrado una gran variabilidad en cuanto al comienzo de la enfermedad, la afectación de los diversos órganos y sistemas y el grado de severidad clínica.¹¹ En tal sentido se han establecido las siguientes pautas:^{9,12}

- "Mutaciones en diferentes motivos estructurales y en diferentes regiones del gen pueden producir los mismos efectos globales".

- "Mutaciones idénticas en diferentes regiones pueden implicar severidad diferente".

- "Mutaciones idénticas en secuencias ligadoras de calcio pueden implicar fenotipos diferentes, dependiendo del contexto dominal".

- "Mutaciones involucradas en el SM clásico y severo atípico difieren de las que dan lugar al SM neonatal, aunque estén en los exones 24-32".

- "Mutaciones asociadas con el SM neonatal se concentran en los exones 24-32".

- "Las formas leves, sin disección, suelen asociarse con mutaciones en los exones 59-65 y/o implican introducción de nuevas cisteínas".

Otros autores, consideran dos características que no están en contradicción con lo discutido acerca de las mutaciones del SM:¹

La primera es, que casi todas las mutaciones se pueden clasificar en tres grupos que afectan la formación de uniones disulfuro, las uniones al calcio y las interacciones inter e intramoleculares. La segunda, que según las variedades del SM, con mutaciones conocidas del gen de la FBN 1, se ha clasificado al síndrome según el grado de severidad fundamentalmente en:

a) "SM ligero". Dado por una mutación puntual del codón 1409. Cambio de cisteína por serina.

b) "SM severo clásico". Se presenta como una mutación puntual del codón 716; transversión G-C. Cambio de arginina por prolina.

c) "SM neonatal". Caracterizado este por mutación en los exones 24 al 32 en regiones de dominios EGF.

Los estudios muestran que mutaciones en el extremo 5' de la secuencia codificadora del gen, producen el fenotipo clásico de moderado a severo, con significado importante en las uniones del calcio, en los dominios semejantes al factor del crecimiento epidérmico. Mutaciones que producen señal de terminación de la traducción del ARNm están asociadas a la cantidad

del alelo mutado transcrito y producen un fenotipo de mayor severidad.¹⁴

Con estos antecedentes y la caracterización fenotípica de los pacientes abordada en este estudio, la propuesta de mutaciones en correlación con la severidad del fenotipo de las 10 familias cubanas con SM es la siguiente:

Familia I: En el propósito se encontró afectación mayor en los sistemas ME y OFT y en menor grado en el CV, que se afecta durante los años con ligera dilatación de la raíz aórtica y prolapso de la válvula mitral (PVM) desde la infancia. Presencia en la familia de formas frustres que expone una menor afectación. El fenotipo del propósito es moderado y sugiere por la historia natural de la enfermedad (HNE) el SM clásico con compromiso CV no severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia II: En el propositus mayor afectación de los sistemas ME y OFT que varía respecto a los otros afectados de la familia en cuanto a estos dos sistemas. Se sugiere la presencia de forma incompleta del síndrome dentro de la familia. Por los antecedentes de disección aórtica en el progenitor, se considera el SM clásico con compromiso CV severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia III: SM con predominio de afectación más homogéneas (homocronicidad y homotipicidad) en el sistema ME y OFT y variabilidad en la afectación CV que puede evolucionar en algunos casos más severos que en otros. Posible presencia de heterocigocidad digénica. Se considera el SM clásico que evoluciona a compromiso CV potencialmente severo en algunos miembros de la familia. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia IV: SM con afectación homogénea severa en el sistemas ME y CV y criterios oftalmológicos menores, pero severos. Se considera la posibilidad heterocigótico digénico. Se sugiere, por la ausencia de subluxación del cristalino, un SM atípico severo vs síndrome Mass. Se debe considerar la mutación entre los exones 24-32.

Familia V: SM con predominio de afectación en sistema ME y OFT. Con tendencia a la evolución en el tiempo de la toma CV que aún no es severa. Presencia de formas incompletas. Posible presencia de heterocigótico digénico. Se constata por la HNE, el SM clásico que en el tiempo evoluciona a compromiso CV severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia VI: Fenotipo marfanoide con una expresión leve en el sistema ME y CV con defectos oftálmicos aislados. Síndrome Mass vs SM con expresión leve.

Se sugiere la mutación entre los exones 59-65.

Familia VII: SM con afectación en los tres sistemas clásicos ME, CV y OFT de forma severa (homotipicidad y homocronicidad en los tres sistemas). SM clásico con compromiso CV severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia VIII: SM expresado por alteraciones en sistemas ME y OFT y con afectación del sistema CV que evolucionó en años, incluso de forma severa en cuanto al incremento del diámetro de la raíz aórtica. Probable heterocigótico compuesto para el gen de la FBN 1 en el caso de la muerte prenatal precoz. Presencia de expresividad variable. SM clásico que evoluciona a compromiso CV severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia IX: SM dado por alteraciones en el sistema ME, OFT y CV, que evoluciona con cierta homogeneidad y de forma severa. Posible presencia en la familia de formas frustres. Se debe considerar el heterocigótico digénico. SM clásico que evoluciona a compromiso CV severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Familia X: Severidad en la expresión en los tres sistemas ME, CV y OFT, en el propositus aún mayor y con tendencia dentro de la familia a la evolución grave del sistema CV. Familia más severa en cuanto a la afectación del propositus. SM clásico que evoluciona a compromiso CV severo. Se sugiere la mutación entre los exones 24-32.

Como pudo observarse en el 20% (2/10) de las familias, la IV y VI, no se detectaron los criterios mayores oftalmológicos. Sin embargo, en la familia IV las alteraciones oftalmológicas (criterios menores) son severas, no así en la familia VI que los criterios menores son de afectación leve.

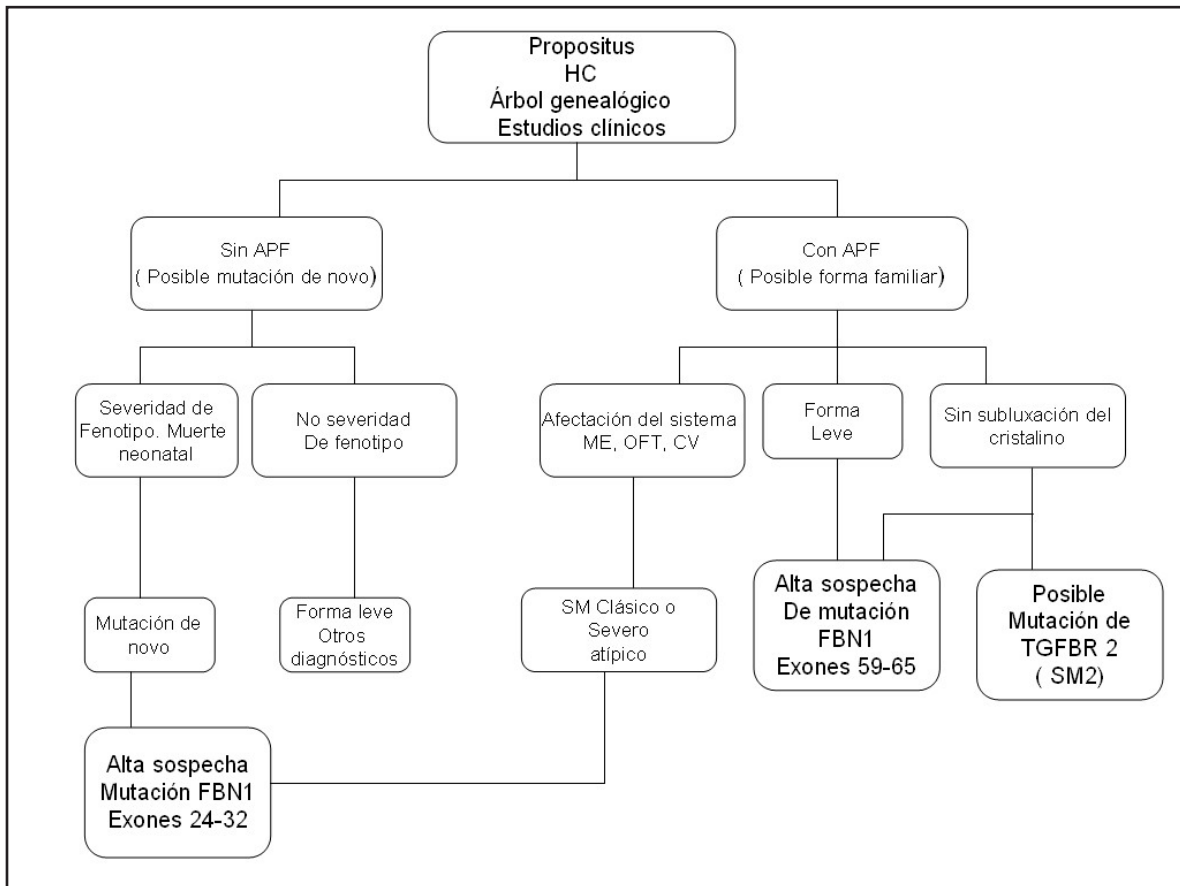
Disabella E. y cols. en el año 2006 reportan mutaciones en el gen TGFBR2 (siglas de su nombre en inglés TGF-beta-receptor) en pacientes con SM no asociado a mutaciones en el gen FBN1, que presentan fenotipo predominantemente cardioesquelético (con criterios mayores en ambos sistemas), sin criterio mayor ocular.¹⁵ En las familias cubanas estudiadas se deberá considerar la búsqueda de mutaciones en este gen de ser negativo el estudio del gen FBN 1.

Los pacientes evaluados tienen HNE, delineación fenotípica del SM en el contexto familiar y argumentos clínicos que apoyan iniciar el estudio molecular de cada familia afectada con SM en el país. Resulta de interés abordar el estudio molecular de los pacientes para comprobar esta propuesta y comparar las mutaciones que se encuentren con las descritas en otras poblaciones. En la figura 1 se presenta una propuesta

de algoritmo diagnóstico que tiene en consideración los resultados de este estudio. Si bien el diagnóstico del SM basado en el método clínico no puede ser sustituido por las técnicas de genética molecular, ambos aspectos deben comple-

mentarse porque el conocimiento de la mutación que se segrega en cada familia posibilita prevenir precozmente las complicaciones y constituye un elemento de valor en el asesoramiento genético de las familias afectadas.

Figura 1. Propuesta de algoritmo para el diagnóstico molecular del síndrome Marfan en familias cubanas.



Referencias bibliográficas

1. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#154700}; {6/19/2012}; World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
2. Shirley ED, Sponseller PD. Marfan syndrome. J Am Acad Orthop Surg. 2009 Sep;17(9):572-81.
3. Collod-Beroud, G., Le Bourdelles, S., Ades, L., Ala-Kokko, L., Booms, P., Boxer, M., Child, A., Comeglio, P., De Paepe, A., Hyland, J.C., Holman, K., Kaitila, I., Loeys, B., Matyas, G., Nuytinck, L., Peltonen, L., Rantamaki, T., Robinson, P., Steinmann, B., Junien, C., Beroud, C. and Boileau, C. Update of the UMD-FBN1 mutation database and creation of an FBN1 polymorphism database. Hum Mutat. 2003 Sep;22(3):199-208.
4. Bart L Loeys, Harry C Dietz, Alan C Braverman, Bert L Callewaert, Julie De Backer, Richard B Devereux, et. al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. J Med Genet. 2010;47:476-485.
5. Pineda Villaseñor Carlos, Amescua Guerra Luis M. Síndrome Marfan. Archivos de Cardiología de México. Vol. 74, Supl. 2, 60 aniversario/Abril-Junio 2004:S482-S484.
6. Lantigua A. Genética del síndrome de Marfan. Tesis para optar por el grado a candidato a Doctor en Ciencias. La Habana, Cuba. 1981.
7. Kaemmerer H, Oechslin E, Seidel H, Neuhann T, Neuhann IM, Mayer HM, Hess J. Marfan syndrome: what internists and pediatric or adult cardiologist need to know. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2005 Sep;3(5):891-909.
8. Baumgartner C, Matyas G, Steinmann B, Baumgartner D. Marfan syndrome a diagnostic challenge caused by phenotypic and genetic heterogeneity. Methods Inf Med. 2005;44(4):487-97.

9. Robinson PN, Booms P, Katzke S, Ladewig M, Neumann L, Palz M, Pregla R, Tiecke F, Rosenberg T. Mutations of FBN1 and genotype-phenotype correlations in Marfan syndrome and related fibrillinopathies. *Hum Mutat.* 2002 Sep;20(3):153-61.
10. Sztajzel R, Hefft S, Girardet C. Marfan's syndrome and multiple extracranial aneurysms. *Cerebrovasc Dis.* 2001;11(4):346-9.
11. Boileau C., Jondeau G., Mizuguchi T., Matsumoto N. Molecular genetics of Marfan syndrome. *Curr Opin Cardiol.* 2005 May;20(3):194-200.
12. Herrera N. Ramon, Valenzuela Carrero Roque, Luciardi. L. Hector, Ragone R. Silvia, Grados Reyes S. D'Jilmar, Miotti A. Julio. Expresión fenotípica del síndrome Marfán. Seguimiento de tres generaciones sucesivas. *Rev Fed Arg Cardiol.* 2004;33:66-71.
13. G.J. Nollen, B.J.M.Mulder. What is new in the Marfan syndrome? *International Journal of Cardiology.* 2004;97:103-108.
14. Dietz, H. C., McIntosh, I., Sakai, L. Y., Corson, G. M., Chalberg, S. C., Pyeritz, R. E., Francomano, C. A. Four novel FBN1 mutations: significance for mutant transcript level and EGF-like domain calcium binding in the pathogenesis of Marfan syndrome. *Genomics.* 1993;17:468-475.
15. Disabella E., Grasso M., Marziliano N. Two novel and one Known mutation of the TGFBR2 gene in Marfan syndrome not associated with FBN1 gene defects. *Eur J Hum Genet.* 2006 Jan;14(1):34-8.