

Revista Clínica Española

www.elsevier.es/rce



ACTUALIZACIÓN CLÍNICA

De la mutación al fenotipo; variabilidad clínica en la enfermedad de Lesch-Nyhan. El papel de la epigenética



M. Trigueros Genao^{a,*} y R.J. Torres^b

^a Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

^b Servicio de Bioquímica, Unidad Metabólica Vascular, IdiPAZ, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

Recibido el 27 de enero de 2014; aceptado el 31 de marzo de 2014

Disponible en Internet el 23 de mayo de 2014

PALABRAS CLAVE

Epigenética;
Metilación fenotipo;
Genotipo;
Enfermedad de
Lesch-Nyhan;
Hiperuricemia

KEYWORDS

Epigenetics;
Methyl phenotype;
Genotype;
Lesch-Nyhan disease;
Hyperuricemia

Resumen La enfermedad de Lesch-Nyhan es una enfermedad genética considerada dentro de las enfermedades raras, caracterizada por un déficit en la función de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HPRT). Los pacientes afectados presentan hiperuricemia, trastornos motores, retraso mental y, en los casos más graves, automutilaciones. Las manifestaciones clínicas dependen de la actividad enzimática de la HPRT, que clásicamente se vincula al tipo de alteración en el gen HPRT, habiéndose encontrado más de 400 mutaciones. En la actualidad uno de los aspectos controvertidos de la enfermedad es la relación existente entre el genotipo y el fenotipo, habiéndose descrito casos en ausencia de mutación (como el paciente que presentamos), así como familias que, a pesar de compartir un mismo defecto genético, muestran afectaciones con distinta gravedad. Los procesos epigenéticos, que modifican la expresión genética sin alterar la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN), podrían explicar la variabilidad clínica observada en esta enfermedad.

© 2014 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

From genotype to phenotype; clinical variability in Lesch-Nyhan disease. The role of epigenetics

Abstract Lesch-Nyhan disease is a rare genetic disease characterized by a deficiency in the function of the enzyme hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT). Patients affected by this disease experience hyperuricemia, motor disorders, mental retardation and, in the most severe cases, self-mutilation. Its clinical manifestations depend on the enzymatic activity of HGPRT, which is classically linked to the type of alteration in the HGPRT gene. More than 400 mutations of this gene have been found. At present, one of the controversial aspects of the disease is the relationship between the genotype and phenotype; cases have been described

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marinatrigueros@gmail.com (M. Trigueros Genao).

lacking a mutation, such as the patient presented in this article, as well as families who despite sharing the same genetic defect show disorders with differing severity. Epigenetic processes, which modify the genetic expression without changing the sequence of the deoxyribonucleic acid (DNA), could explain the clinical variability observed in this disease.

© 2014 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Un varón de 3 años de edad, natural de Alcira (Valencia), sin antecedentes familiares de interés, consulta por retraso psicomotor. En una primera valoración en otro centro destacaron niveles elevados de ácido úrico en sangre, sin que mostrase otras anomalías. Se determinó la actividad de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HPRT) tanto en eritrocitos intactos como en hemolisado, resultando indetectable en ambos casos. Por otra parte, se secuenció el gen *HPRT*, incluyendo los 9 exones y el promotor, sin detectar mutaciones. Además se analizaron regiones intrónicas buscando mutaciones de *splicing*, sin hallar alteraciones. Se cuantificó la expresión del ácido ribonucleico (ARN) mensajero del gen *HPRT* mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, demostrando un descenso significativo de la misma. La madre del paciente mostró una actividad de la enzima HPRT normal. Con el diagnóstico de enfermedad de *Lesch-Nyhan* se inició tratamiento con alopurinol. Posteriormente el paciente ha presentado episodios de pielonefritis asociados a litiasis renal de urato, persistiendo el retraso psicomotor.

¿Cómo podemos explicar a los padres que aunque no haya antecedentes familiares ni mutación conocida su hijo padece una enfermedad genética?

Enfermedad de Lesch-Nyhan

En 1964 *Michael Lesch* y *William Nyhan* describieron el cuadro clínico que hoy conocemos como enfermedad de Lesch-Nyhan¹. Se caracteriza por hiperuricemia, déficit motor, alteraciones cognitivas y trastornos conductuales con autolesiones. Se trata de una enfermedad causada por el déficit de la enzima HPRT. El déficit enzimático fue descubierto 3 años después por Seegmiller et al.². La mutación de esta enzima es el primer evento en la génesis de la enfermedad. El gen *HPRT1* se localiza en el cromosoma x; se han descrito más de 400 mutaciones diferentes que incluyen sustitución de bases, deleciones, inserciones y otras alteraciones complejas^{3,4}.

La enzima HPRT desempeña un papel importante en el reciclaje de las bases hipoxantina y guanina, catalizando la conversión de estas en inosina monofosfato (IMP) y guanosina monofosfato (GMP), respectivamente, usando el fosforribosil pirofosfato (PRPP) como cosubstrato y fuente de energía (fig. 1). En ausencia de esta enzima, la hipoxantina no reciclada se degrada a xantina y posteriormente a ácido úrico, proceso catalizado por la enzima xantina oxidasa. Por otra parte, la vía de síntesis *de novo* está aumentada para compensar la disminución en el reciclaje

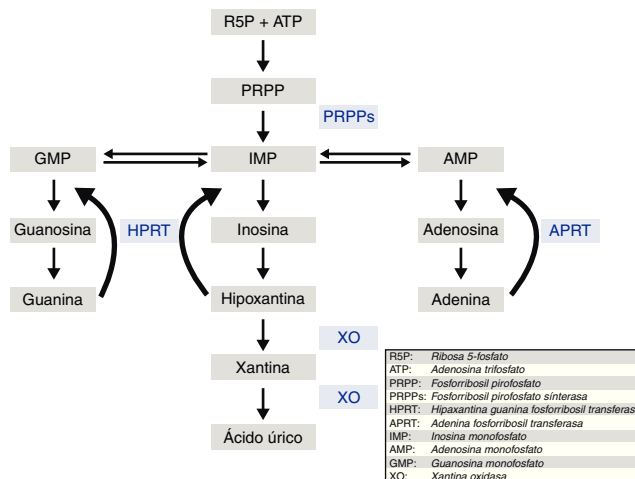


Figura 1 Resumen de la alteración en la vía catabólica de las purinas que justifica la patogenia de la enfermedad de *Lesch-Nyhan*.

de purinas. Estos 2 procesos conllevan una sobreproducción de ácido úrico.

La hiperuricemia mantenida aumenta el riesgo de precipitación de cristales de urato en las articulaciones, produciendo artritis gotosa y, en tejidos blandos, formando tofos. El aumento de la excreción renal puede dar lugar desde alteraciones del sedimento a nivel microscópico hasta obstrucción del flujo, litiasis renal e infecciones secundarias.

La patogenia de la afectación neurológica en la deficiencia de la enzima HPRT no ha sido esclarecida. Estudios neuroquímicos y de neuroimagen han demostrado anomalías en las vías dopaminérgicas de los ganglios basales y sugieren un defecto en el desarrollo neurológico, sin signos de que se trate de un proceso degenerativo⁵.

La forma clásica de la enfermedad de *Lesch-Nyhan* se caracteriza por hiperuricemia, afectación neurológica (trastornos del movimiento y cognitivos) y automutilaciones. Por el contrario, en las variantes de la enfermedad de *Lesch-Nyhan* (deficiencia parcial de la enzima), los pacientes presentan hiperuricemia de manera constante asociada a una afectación neurológica de grado variable pero en ningún caso conductas autolesivas⁴. Los casos más leves presentan hiperuricemia en ausencia de clínica neurológica o síntomas menos llamativos que posibilitan una vida independiente. Estas formas se describieron clásicamente como enfermedad de *Keelley-Seegmiller*; no obstante este epónimo clínico

ha sido ampliamente cuestionado y actualmente es poco utilizado^{6,7}.

Neurológicamente, los pacientes con esta enfermedad, tanto con la forma clásica como sus variantes, presentan trastornos motores, que en su forma más severa incluyen distonía severa generalizada con movimientos involuntarios tipo coreoatetosis o balismo³, mientras que los casos leves se expresan como discreta torpeza en la ejecución del movimiento. La sintomatología parece estar relacionada con la actividad residual enzimática de HPRT^{4,8}. Paralelamente al déficit motor, la mayoría de los pacientes, tanto en el fenotipo completo como en sus variantes, cursan con déficit cognitivo⁷.

El manejo terapéutico de estos pacientes gira en torno a la prevención de las complicaciones de la hiperuricemia. El alopurinol actúa bloqueando la conversión de xantina e hipoxantina en ácido úrico y permite alcanzar el nivel deseado de urato en suero^{6,9}. La hiperuricemia no se relaciona con la clínica neurológica. Ningún tratamiento ha demostrado ser efectivo para controlar los síntomas neurológicos¹⁰.

Genética

El gen *HPRT1* se localiza en el cromosoma x en la región q26. Hasta el momento se han descrito más de 400 mutaciones. La mayoría de los casos se deben a mutaciones heredadas. No obstante, alrededor de un 30% de los pacientes presentan mutaciones esporádicas. Se asocia a un patrón de herencia recesiva ligada al cromosoma x, por lo que la enfermedad afecta a varones, siendo las mujeres portadoras³, aunque existen casos descritos en mujeres¹¹.

El diagnóstico de mujeres portadoras en familias con casos de *Lesch-Nyhan* se enfoca en función de si se ha identificado la mutación del gen *HPRT*. Cuando esta se conoce, el diagnóstico de mujeres heterocigotas se lleva a cabo mediante métodos moleculares dirigidos a identificar secuencias concretas. Si se desconoce la alteración genética, se hace igualmente por diagnóstico molecular o por el método de O'Neill¹² ya que, dado que la actividad en hemolisado es normal en las mujeres portadoras, no puede hacerse con fiabilidad por métodos bioquímicos ni enzimáticos. O'Neill et al. desarrollaron un procedimiento basado en el análisis de la resistencia a análogos de purina en clones de linfocitos T obtenidos de una muestra de sangre periférica¹².

Las mujeres portadoras transmiten la mutación al 50% de sus hijos varones, teniendo las hijas una probabilidad del 50% de ser portadoras. Ante la posibilidad de tener descendencia, clásicamente se planteaban métodos de reproducción asistida con selección de los embriones femeninos, sin embargo esto no evitaba la posibilidad de que la hija fuese portadora. En la actualidad puede efectuarse el diagnóstico preimplantacional, que detecta entre los embriones, ya sean masculinos o femeninos, la presencia de mutaciones de modo que permite la selección de embriones sanos. Mediante este método el grupo de trabajo de Ray et al. publicó el nacimiento de una niña sana, no portadora, hija de una madre portadora que previamente había tenido un hijo varón con la enfermedad¹³.

Algunos estudios previos han comparado genotipo y fenotipo, concluyendo que no existe relación entre la localización de la mutación y la gravedad de la variedad clínica.

Sin embargo, la cantidad de enzima residual funcionante es útil para predecir la severidad clínica. Se ha postulado que aquellas mutaciones que dan lugar a menor cantidad de enzima funcionante (mutaciones sin sentido, deleciones, inserciones...) son menos frecuentes en los pacientes que presentan síndrome con fenotipo parcial o formas variantes de la enfermedad^{3,14}. Por tanto, el tipo de mutación puede ser útil como herramienta para establecer un pronóstico^{7,14}.

Áreas de incertidumbre

Esencialmente son 2 los aspectos en los que a día de hoy se centran los investigadores y la mayoría de publicaciones en torno a la enfermedad de *Lesch-Nyhan*, la afectación neurológica y la diversidad fenotípica. ¿Qué vínculo existe entre el genotipo y el fenotipo? ¿Cómo se explica que no haya podido detectarse ninguna mutación en el gen de ciertos pacientes?¹⁵ ¿Cómo justificar que pacientes con una misma mutación presenten formas clínicas dispares?^{16,17}.

No hay una relación constante entre el tipo de mutación o la localización de esta dentro del gen *HPRT1* y la gravedad fenotípica; a menudo se solapan mutaciones con expresiones clínicas muy diferentes o incluso una misma mutación se asocia a más de una variante clínica^{3,17}. En líneas generales la mutación condiciona la actividad enzimática residual; las mutaciones de *cambio de sentido* en las que se altera un aminoácido dan lugar a proteínas similares a la normal, que conservan cierta actividad catalítica y suelen asociarse a fenotipos parciales. Otras mutaciones *sin sentido*, deleciones, duplicaciones, inserciones u otras mutaciones complejas se vinculan a proteínas con actividad nula o muy escasa y suelen acompañar a fenotipos más graves^{3,14}. Probablemente sea la actividad enzimática de la HPRT el parámetro que se correlaciona mejor con el fenotipo⁴. De hecho, se ha comprobado que existe una relación inversa entre la actividad de enzima HPRT y la gravedad clínica^{7,8}. Los pacientes con una actividad enzimática HPRT por debajo de 1,5% de lo normal suelen presentar el espectro clínico completo del síndrome, esto es, la enfermedad clásica. Por el contrario cuando la actividad enzimática se sitúa entre el 1,5 y el 8% los pacientes suelen tener las formas clínicas variantes con afectación neurológica. Los pacientes con formas variantes sin afectación neurológica evidente, exclusivamente con hiperuricemia secundaria a deficiencia de HPRT, pueden presentar actividades anormales, en todo caso superiores al 8%⁸. Diversos estudios han mostrado discrepancias entre la gravedad de la enfermedad y la actividad catalítica residual; así se han descrito pacientes con actividad elevada y fenotipo completo, y pacientes con actividad baja y fenotipos parciales^{16,18}. Estas excepciones se han intentado explicar a partir de la existencia de diferencias entre la actividad enzimática *in vitro* e *in vivo*, por las diferentes concentraciones de sustratos empleadas en la técnica, como consecuencia del mosaicismo somático, de la inestabilidad proteica o de alteraciones de la afinidad enzimática por alguno de sus sustratos^{3,8,14,19}.

Otro aspecto pendiente de explicar son aquellos casos de la enfermedad de *Lesch-Nyhan* en los que no se detecta ninguna mutación en el gen *HPRT1* ni en su promotor²⁰⁻²². En estos pacientes se ha comprobado que la cantidad de ARN mensajero del gen *HPRT1* se encuentra disminuida, con una

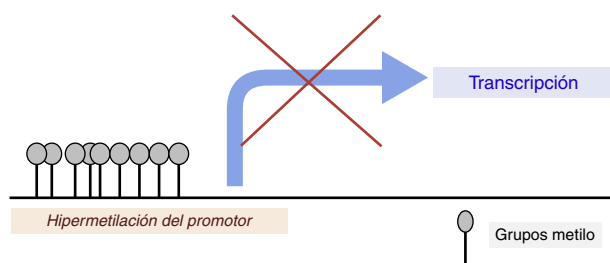


Figura 2 Hipermetilación del «promotor» de un gen: la acumulación de grupos metilo en zonas promotoras del gen impide el inicio de la transcripción.

actividad HPRT enzimática en hemolisado baja con fenotipos parciales o completos. Este hecho orienta a que la clave puede estar en un defecto en la regulación genética. Con relación a esto último, se especuló con la posibilidad de que un exceso de grupos metilo en la región promotora del gen *HPRT* se relacionase con una menor expresión del mismo, dado que la hipermetilación del promotor se ha vinculado con una menor afinidad de la ARN polimerasa, dificultándose la transcripción. No obstante, la hipótesis de hipermetilación del promotor como mecanismo epigenético regulador no se ha podido demostrar al no haber podido demostrar diferencias respecto a los individuos sanos²¹ (fig. 2).

Conclusiones

La gravedad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad de *Lesch-Nyhan* es proporcional a la actividad de la enzima HPRT y depende de 3 aspectos: el nivel de expresión de la proteína alterada, la funcionalidad del producto de la mutación y su estabilidad en las células. El paciente descrito presenta la enfermedad de *Lesch-Nyhan*, con una actividad enzimática nula, sin expresión de la enzima. Sin embargo, la estructura del gen está intacta por lo que, de expresarse, cabría esperar la síntesis de una proteína normal.

¿Qué fenómenos pueden explicar que un gen no mutado no se exprese adecuadamente? La respuesta a esta cuestión podría ser ofrecida por la epigenética, que explica fenómenos que no afectan a la secuencia del ácido desoxirribonucleico de los genes sino a su expresión^{23,24}. Los procesos epigenéticos modifican la expresión génica, produciendo cambios que pueden permanecer durante divisiones celulares sucesivas, incluso a través de generaciones, debido a modificaciones químicas de las bases de los nucleótidos y a cambios en las histonas. Los cambios moleculares descritos que pueden afectar a la expresión génica son: hipermetilación del promotor, pérdida de grupos metilo en el cuerpo del gen, modificación de histonas y micro-ARN^{23,24}. Estos procesos podrían explicar la ausencia de actividad enzimática y por tanto de actividad en un gen estructuralmente «sano» (tabla 1).

La hipermetilación del promotor del gen *HPRT* condicionaría una disminución de la expresión del gen mutado y de la cantidad de proteína alterada y, por tanto, menor actividad enzimática. Esta hipótesis se planteó en los casos de pacientes con enfermedad de *Lesch-Nyhan* que en ausencia de mutación presentaban niveles bajos de ARN mensajero y baja actividad de la enzima, si bien no pudieron demostrarse

Tabla 1 Mecanismos epigenéticos potencialmente implicables en enfermedades genéticas

Mecanismo	Descripción
Metilación del promotor	La hipermetilación de zonas promotoras de un determinado gen impiden que la ADN polimerasa inicie la transcripción
Hipometilación del ADN	La pérdida de grupos metilo en el cuerpo de un gen provoca el inicio de la transcripción en sitios erróneos
Modificación de histonas	Las histonas no son meras proteínas de condensación de la cromatina sino que, mediante modificaciones químicas postraduccionales, van a ser cruciales en la regulación de la estructura de la cromatina y de la expresión de genes
ARN no codificante	Los ARN complementarios a ADN o ARN codificante, al unirse impiden su traducción; si por algún error estos ARN no se transcribieran no se silenciarían determinados genes

diferencias respecto a individuos sanos en las secuencias promotoras de estos pacientes²¹. Los grupos metilo situados en el cuerpo de los genes impiden que se inicie la transcripción en regiones intermedias, dando lugar a productos anormales. La pérdida de estos grupos metilo en la secuencia del *HPRT1* alterado daría lugar a proteínas mutadas e incompletas con menor actividad enzimática.

La modificación de histonas mediante cambios postraduccionales altera el plegamiento de la cromatina y la accesibilidad de la ARN polimerasa a los genes. Esto condiciona en último término un aumento o disminución en la expresión génica. En el caso de la enfermedad de *Lesch-Nyhan*, la cantidad de enzima mutada es lo que determinaría cambios en el fenotipo.

Los mecanismos que se han comentado actúan antes que se produzca la transcripción, alterando la naturaleza o la cantidad de los ARN mensajeros producto del gen *HPRT1*. Sin embargo los micro-ARN van a participar en la regulación a nivel postranscripcional, mediante secuencias cortas de nucleótidos que se unen por complementariedad de bases a los ARN mensajeros, impidiendo que continúe el proceso de expresión génica y, por tanto, de la síntesis de la cadena proteica completa.

Retornemos a esos padres preocupados que buscaban una explicación convincente para la presencia de una importante enfermedad genética en su hijo, aun cuando no supiesen de antecedente familiar alguno y no se hubiese detectado ninguna mutación. La respuesta a sus cuestiones nos la podría dar la epigenética. Los fenómenos epigenéticos condicionan la expresión de los genes, siendo la disponibilidad de proteína funcional la que determinará la forma clínica de la enfermedad más o menos grave.

Los mecanismos epigenéticos deben tenerse en cuenta a la hora de explicar la correlación entre genotipo y fenotipo en la enfermedad de *Lesch-Nyhan*, y podrían explicar casos como el del paciente descrito, con genotipo normal, que no es capaz de expresarse adecuadamente, ocasionando la enfermedad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Lesch M, Nyhan WL. A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function. *Am J Med.* 1964;36:561-70.
2. Seegmiller JE, Rosenbloom FM, Kelley WN. Enzyme defect associated with a sex-linked human neurological disorder and excessive purine synthesis. *Science.* 1967;155:1682-4.
3. Jinnah HA, Harris JC, Nyhan WL, O'Neill JP. The spectrum of mutations causing HPRT deficiency: An update. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2004;23:1153-60.
4. Jinnah HA, Ceballos-Picot I, Torres RJ, Visser JE, Schretlen DJ, Verdu A, et al. Attenuated variants of Lesch-Nyhan disease. *Brain.* 2010;133:671-89.
5. Guibinga GH, Hrustanovic G, Bouic K, Jinnah HA, Friedmann T. MicroRNA-mediated dysregulation of neural developmental genes in HPRT deficiency: Clues for Lesch-Nyhan disease. *Hum Mol Genet.* 2012;21:609-22.
6. Torres RJ, Puig JG, Jinnah HA. Update on the phenotypic spectrum of Lesch-Nyhan disease and its attenuated variants. *Curr Rheumatol Rep.* 2012;14:189-94.
7. Puig JG, Torres RJ, Mateos FA, Ramos TH, Arcas JM, Buño AS, et al. The spectrum of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency. Clinical experience based on 22 patients from 18 Spanish families. *Medicine (Baltimore).* 2001;80:102-12.
8. Fu R, Jinnah HA. Genotype-phenotype correlations in Lesch-Nyhan disease: Moving beyond the gene. *J Biol Chem.* 2012;287:2997-3008.
9. Torres RJ, Prior C, Puig JG. Efficacy and safety of allopurinol in patients with hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase deficiency. *Metabolism.* 2007;56:1179-86.
10. Jinnah HA, Visser JE, Harris JC, Verdu A, Larovere L, Ceballos-Picot I, et al. Delineation of the motor disorder of Lesch-Nyhan disease. *Brain.* 2006;129:1201-17.
11. Rinat C, Zoref-Shani E, Ben-Neriah Z, Bromberg Y, Becker-Cohen R, Feinstein S, et al. Molecular, biochemical, and genetic characterization of a female patient with Lesch-Nyhan disease. *Mol Genet Metab.* 2006;87:249-52.
12. O'Neill JP. Mutation carrier testing in Lesch-Nyhan syndrome families: HPRT mutant frequency and mutation analysis with peripheral blood T lymphocytes. *Genet Test.* 2004;8:51-64.
13. Ray PF, Harper JC, Ao A, Taylor DM, Winston RM, Hughes M, et al. Successful preimplantation genetic diagnosis for sex Link Lesch-Nyhan syndrome using specific diagnosis. *Prenat Diagn.* 1999;19:1237-41.
14. Fu R, Ceballos-Picot I, Torres RJ, Larovere LE, Yamada Y, Nguyen KV, et al. Genotype-phenotype correlations in neurogenetics: Lesch-Nyhan disease as a model disorder. *Brain.* 2013;22:1-22.
15. García MG, Torres RJ, Prior C, Puig JG. Normal HPRT coding region in complete and partial HPRT deficiency. *Mol Genet Metab.* 2008;94:167-72.
16. Sarafoglou K, Grosse-Redlinger K, Boys CJ, Charnas L, Otten N, Broock R, et al. Lesch-Nyhan variant syndrome: Variable presentation in 3 affected family members. *Arch Neurol.* 2010;67:761-4.
17. Hladnik U, Nyhan WL, Bertelli M. Variable expression of HPRT deficiency in 5 members of a family with the same mutation. *Arch Neurol.* 2008;65:1240-3.
18. Holland MJ, DiLorenzo AM, Dancis J, Balis ME, Yü TF, Cox RP. Hypoxanthine phosphoribosyltransferase activity in intact fibroblasts from patients with X-linked hyperuricemia. *J Clin Invest.* 1976;57:1600-5.
19. Hersh JH, Page T, Hand ME, Seegmiller JE, Nyhan WL, Weisskopf B. Clinical correlations in partial hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase deficiency. *Pediatr Neurol.* 1986;2:302-4.
20. Dawson PA, Gordon RB, Keough BT, Emmerson BT. Normal HPRT coding region in a male with gout due to HPRT deficiency. *Mol Genet Metab.* 2005;85:78-80.
21. Garcia MG, Torres RJ, Puig JG. Methylation status of HPRT1 promoter in HPRT deficiency with normal coding region. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2010;29:301-5.
22. Nguyen KV, Naviaux RK, Paik KK, Nyhan WL. Lesch-Nyhan syndrome: mRNA expression of HPRT in patients with enzyme proven deficiency of HPRT and normal HPRT coding region of the DNA. *Mol Genet Metab.* 2012;106:498-501.
23. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol.* 2010;28:1057-68.
24. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Eng J Med.* 2008;358:1148-59.