

ESTUDIOS SOBRE EL USO DE LAS CHAPERONAS EN LOS CDG

¿Qué son las chaperonas?

Las chaperonas constituyen un numeroso grupo de **proteínas** cuya función consiste en facilitar el **correcto plegamiento y ensamblaje de otras proteínas**, **estabilizar las proteínas** desplegadas y **desplegar proteínas** para su translocación a través de las membranas o para su degradación.

Cabe subrayar que la función de las proteínas está determinada por su forma tridimensional, de manera que cualquier pequeño cambio de forma las convierte en proteínas diferentes que, en consecuencia, pierden su función biológica. Esta función también depende de la estructura tridimensional, que, a su vez, depende del orden en el que los aminoácidos se encadenan dentro de las proteínas.

Las chaperonas evitan contactos erróneos y uniones de residuos hidrófobos (que no tienen afinidad por el agua) expuestos en la superficie, y deshacen las conexiones inadecuadas que pudieran haberse formado. Sin embargo, no forman parte de la estructura final de la proteína. Hay chaperonas específicas (para una determinada diana proteica) e inespecíficas.

Además de las chaperonas presentes en el organismo de forma natural, existen «**chaperonas farmacológicas**» que se fabrican en el laboratorio con fines terapéuticos.

¿Por qué pueden ser útiles las chaperonas en el PMM2-CDG?

El **PMM2-CDG** es un defecto congénito de la glicosilación (CDG) caracterizado por una **deficiencia de fosfomanomutasa** (enzima necesaria para suministrar manosa, un azúcar, a las glicoproteínas). Aunque esta deficiencia puede tener distintas causas, en un gran número de pacientes se han identificado **mutaciones genéticas** que provocan un **plegamiento incorrecto** o una **desestabilización** de dicha enzima.

Se piensa que las **chaperonas farmacológicas** podrían utilizarse para **contrarrestar el efecto de esas mutaciones**, ya que contribuirían a que la fosfomanomutasa se plegase de forma correcta, se estabilizase y, en consecuencia, recuperase parcialmente su función.

¿Qué efecto tienen las mutaciones sobre la fosfomanomutasa?

Se han descrito **más de 85 mutaciones de sentido erróneo** del gen que codifica la fosfomanomutasa (PMM) y se ha intentado esclarecer el efecto que dichas mutaciones tienen sobre esta enzima, que es una proteína dimérica (formada por dos subunidades).

Dependiendo de dicho efecto (y de la actividad enzimática residual que se conserva *in vitro*), los investigadores han clasificado una serie de mutaciones en varias categorías:

- **Mutaciones desestabilizadoras**, que afectan a la estabilidad estructural de la proteína PMM. En algunos casos se conserva una actividad enzimática residual intermedia, pero en otros la actividad residual es nula. Mutaciones: p.V44A, p.D65Y, p.R162W, p.F207S, p.C241S, p.F157S.
- **Mutaciones que afectan al plegamiento y las propiedades catalíticas** de la enzima, y con las que no se conserva ninguna actividad residual. Mutaciones: p.R123Q, p.R141H, p.D209G.
- **Mutaciones que afectan a las propiedades catalíticas y estructurales** de la enzima, y con las que se conserva una actividad residual intermedia o nula. Mutaciones: p.L32R, p.P184T, p.T237M.

- **Mutaciones de oligomerización**, que afectan a la dimerización (unión de las dos subunidades) de la proteína PMM, y con las que se conserva una actividad residual intermedia. Mutaciones: p.P113L, p.T118S.

Por otra parte, los estudios¹ realizados también han puesto de manifiesto que algunas mutaciones se relacionan con síndromes más leves (p.R162W, p.T237M), mientras que otras se asocian a síndromes más graves (p.V44A, p.D65Y).

Sin embargo, **las dos mutaciones más habituales son la R141H y la F119L**. De hecho, la situación más frecuente entre los pacientes con PMM2-CDG es que el paciente posea una copia de cada una de estas dos mutaciones. En ambas mutaciones, el cambio que se produce en la enzima consiste en la sustitución de un determinado aminoácido por otro diferente.

La **mutación R141H** se ubica en el sitio activo de la enzima, donde esta se une a su diana. Esta mutación **inactiva por completo la enzima** y nunca aparece en homocigosis (dos copias mutadas), situación que sería incompatible con la vida. Los portadores que poseen esta mutación y una copia normal (es decir, un 50 % de actividad enzimática) no padecen la enfermedad y, por tanto, son portadores sanos.

La **mutación F119L** (la segunda más frecuente) **debilita la estructura** cuaternaria de la proteína, que es necesaria para que esta funcione, y causa una **reducción de la actividad enzimática**, que *in vitro* pasa a ser de entre la mitad y un tercio de la actividad normal.

¿Qué mecanismos de acción se han descubierto?

Los resultados obtenidos en distintos estudios^{1,2,3} indican que la pérdida de función de la mayoría de las proteínas mutantes se debe a que su **susceptibilidad a la degradación** o la agregación es mayor que la de las proteínas normales.

Cuando la mutación no afecta a la actividad catalítica de la enzima ni impide su plegamiento, sino que **afecta a la estabilidad de la proteína plegada**, la disminución de la actividad enzimática es tan solo un efecto secundario de la mutación, ya que las proteínas mutantes son inestables y tienen una vida media más corta, lo que reduce su concentración dentro de la célula.

Solamente en este caso es posible **contrarrestar el efecto de la mutación estabilizando la proteína** mediante compuestos como las **chaperonas farmacéuticas**. Al estabilizarse, su concentración aumentará y se recuperará la actividad enzimática.

En uno de los estudios llevados a cabo², se analizaron las enzimas resultantes del **genotipo formado por las mutaciones F119L y R141H** (la combinación genética más habitual entre los pacientes con PMM2-CDG). Los investigadores descubrieron que los **dímeros de fosfomanomutasa** compuestos por **dos subunidades mutadas diferentes** (una con la mutación F119L y otra con la R141H) **poseían actividad, pero eran inestables**.

Así, llegaron a la conclusión de que la reducción de la actividad total que muestran los pacientes con la combinación F119L y R141H se podía atribuir a la inestabilidad y a una cantidad menor de la proteína en las células (más que a una reducción intrínseca de la actividad específica). En consecuencia, los pacientes con el **genotipo F119L/R141H** deberían **responder positivamente a las chaperonas farmacológicas** u otros fármacos similares.

¹ [The Effects of PMM2-CDG-Causing Mutations on the Folding, Activity, and Stability of the PMM2 Protein](#). *Human Mutation*, Vol. 36, No. 9, 851-860, 2015.

² [Heterodimerization of Two Pathological Mutants Enhances the Activity of Human Phosphomannomutase 2](#). *PLoS ONE* 10(10):e0139882. DOI:10.1371/journal.pone.0139882.

¿Que manifestaciones clínicas se asocian a estas mutaciones?

Nuestro conocimiento sobre las **manifestaciones clínicas asociadas a las mutaciones** sigue creciendo. En la siguiente tabla, se describen mutaciones que se han relacionado con síndromes más graves o más leves. Sin embargo, es importante tener en cuenta que **los síntomas específicos y la gravedad varían** entre personas del **mismo subtipo de CDG** e incluso entre miembros de la **misma familia**.

Los datos que se muestran a continuación se han tomado del estudio llevado a cabo por Vega y otros³.

Paciente (edad)	Mutación 1 (actividad residual <i>in vitro</i>)	Mutación 2 (actividad residual <i>in vitro</i>)	Actividad PMM residual en fibroblasto	Proteína PMM2 en fibroblastos	Manifestaciones clínicas
P1 (8 años)	IVS3-1 (0 %)	p.L32R (45 %)	24 %	35 %	Discapacidad intelectual leve, ataxia, hipotonía, hipoplasia cerebelosa.
P2 (2 meses)	p.R141H (0 %)	p.V44A (16 %)	16 %	79 %	Fallecido a los 2 meses de edad. Trombosis en aorta abdominal.
P3 (6 años)	p.F207S (0 %)	p.V44A (16 %)	35 %	ND	Hipotonía, atrofia cerebral y cerebelosa, hepatopatía.
P4 (16 años)	p.V44A (16 %)	p.D65Y (20 %)	ND	ND	Discapacidad intelectual, ataxia, hipoplasia cerebelosa, retraso del crecimiento.
P5 (13 años)	p.R141H (0 %)	p.D65Y (30 %)	22 %	7 %	Discapacidad intelectual moderada-grave, hipotonía, estrabismo, epilepsia, microcefalia, dismorfia, pezones invertidos, hipoplasia cerebelosa, hepatopatía y coagulopatía.
P6 (2 años)	p.R141H (0 %)	p.D65Y (20 %)	31 %	12 %	Discapacidad intelectual moderada, hipotonía, hipoplasia cerebelosa, malformación de Dandy-Walker, pezones invertidos.
P7 (5 años)	IVS7-9 (0 %)	p.D65Y (20 %)	8 %	0 %	Discapacidad intelectual moderada-grave, ataxia, hipotonía, estrabismo, microcefalia, hipoplasia cerebelosa, dismorfia, pezones invertidos, lipodistrofia, hepatopatía y coagulopatía.
P8 (2 años)	p.P113L (43 %)	p.P113L (43 %)	19 %	ND	Discapacidad intelectual.
P9 (4 años)	p.T118S + p.P184T (1 %)	p.P113L (43 %)	39 %	ND	Discapacidad intelectual moderada, hipotonía, dismorfia, pezones invertidos, lipodistrofia.
P10 (7 años)	p.D209G (0 %)	p.P113L (43 %)	16 %	74 %	Discapacidad intelectual leve-moderada, ataxia,

³ [Expression analysis revealing destabilizing mutations in phosphomannomutase 2 deficiency \(PMM2-CDG\): expression analysis of PMM2-CDG mutations. J Inherit Metab Dis \(2011\) 34:929-939.](#)

					hipotonía, pezones invertidos, hepatopatía.
P11 (19 años)	p.R141H (0 %)	p.R162W (13 %)	30 %	39 %	Discapacidad intelectual leve, ataxia, pezones invertidos, hipoplasia cerebelosa.
P12 (6 años)	p.F157S (1 %)	p.R162W (13 %)	ND	ND	Discapacidad intelectual, ataxia, estrabismo, atrofia cerebral, pezones invertidos.
P13 (17 años)	p.R123Q (0 %)	p.F183S	6,2 %	ND	Discapacidad intelectual, ataxia, estrabismo, epilepsia, microcefalia, atrofia cerebelosa, dismorfia.
P14 (8 años)	p.R141H (0 %)	p.T226S	19 %	19 %	Discapacidad intelectual grave, hipotonía, ataxia, rasgos dismórficos.
P15 (9 años)	p.R141H (0 %)	p.T237M (48 %)	14 %	19 %	Discapacidad intelectual leve-moderada, ataxia, hipotonía, estrabismo, epilepsia, microcefalia, hipoplasia cerebelosa, dismorfia, coagulopatía.
P16 (2 años)	p.R141H (0 %)	p.T237M (48 %)	14 %	37 %	Discapacidad intelectual moderada, microcefalia, malformación de Dandy-Walker, rasgos dismórficos, hipotonía, nistagmo.
P17 (1 año)	p.F157S (1 %)	p.T237M (48 %)	30 %	9 %	Discapacidad intelectual moderada, retraso del desarrollo, vómitos, infecciones recurrentes, atrofia cerebelosa, hipotonía, hipotiroidismo.
P18 (7 años)	IVS7-9 (0 %)	p.T237M (48 %)	10 %	12 %	Discapacidad intelectual moderada, ataxia, hipotonía, estrabismo, hipoplasia cerebelosa, coagulopatía.
P19 (12 años)	p.T237M (48 %)	p.T237M (48 %)	22 %	47 %	Discapacidad intelectual leve, hipoplasia cerebelosa, hepatopatía.
P20 (1 año)	p.R123Q (0 %)	p.C241S (60 %)	31 %	ND	Retraso psicomotor, hipotonía con reflejos normales, lipodistrofia; sin evidencias de estrabismo ni retinopatía.
P21 (11 años)	p.R141H (0 %)	p.C241S (60 %)	ND	ND	Discapacidad intelectual, problemas del lenguaje, estrabismo, hipoplasia cerebelosa, hipotonía, ataxia.
P22 (4 años)	p.F157S (1 %)	p.C241S (60 %)	5,5 %	ND	Retraso psicomotor, hipotonía, estrabismo bilateral convergente, temblor y lipodistrofia, hipoplasia del vermis cerebeloso.

ND: no determinada

¿Cuál es la conclusión fundamental?

La **mayoría de las mutaciones** relacionadas con el PMM2-CDG son mutaciones de sentido erróneo que **causan una inestabilidad estructural** que, a su vez, deriva en disminución de la concentración de fosfomanomutasa y pérdida de la función enzimática.

Sin embargo, los resultados obtenidos en distintos estudios hacen pensar que sustancias como las **chaperonas farmacéuticas**, que contribuyen a **estabilizar las proteínas**, constituirían un tratamiento del que podría **beneficiarse un gran número de pacientes**, sobre todo si se tiene en cuenta que muchos de ellos conservan cierta actividad enzimática residual.

Dos de las características más destacadas de las chaperonas farmacéuticas son que se administran por **vía oral** y que son capaces de **atravesar la barrera hematoencefálica**, rasgos que suponen una gran ventaja con vistas a su uso terapéutico.

Algunas de las enfermedades para cuyo tratamiento se emplean chaperonas en la actualidad son las siguientes: enfermedad de Gaucher, gangliosidosis G_{M1} , síndrome de Morquio de tipo B, porfiria eritropoyética congénita (enfermedad de Günther), fenilcetonuria y enfermedad de Alzheimer.

Glosario

Aminoácidos. Los aminoácidos son las unidades químicas o elementos constitutivos de las proteínas, que a diferencia de los demás nutrientes, contienen nitrógeno.

Barrera hematoencefálica. Barrera fisiológica que se establece entre la sangre y el tejido nervioso que forma el sistema nervioso central. Es responsable de la composición constante y óptima en el micromedioambiente neuronal que facilita el paso de algunas sustancias e impide el de otras (como algunos medicamentos).

Centro activo de las enzimas. Las moléculas de enzimas contienen hendiduras o cavidades denominadas sitio activo. En el sitio activo solamente puede entrar un sustrato (sustancia sobre la que actúa la enzima) concreto, lo que determina la especificidad de la enzima.

Enzimas. La práctica totalidad de las reacciones que tienen lugar en los organismos vivos requiere de la ayuda de un tipo especializado de proteínas denominadas enzimas. Las enzimas actúan como catalizadoras acelerando reacciones químicas específicas. Como tales son muy eficaces, ya que son capaces de aumentar la velocidad de las reacciones químicas mucho más que cualquier catalizador artificial conocido y además son altamente específicas, ya que cada una de ellas induce la transformación de un solo tipo de sustancia y no de otras que se puedan encontrar en el medio de reacción.

Estructura cuaternaria de la proteína. Cuando la proteína consta de varias cadenas polipeptídicas o **subunidades**, se dice que tiene **estructura cuaternaria**. Un ejemplo clásico de proteína con estructura cuaternaria es la hemoglobina. Se trata de una proteína tetramérica (cuatro subunidades) cuya función es el transporte de oxígeno.

Mutaciones de sentido erróneo⁴. Mutación que produce un cambio de aminoácido en la proteína codificada. En este tipo de mutación hay un cambio en una de las bases del

⁴ <http://www.guiametabolica.org/noticia/tipos-mutaciones>

ADN, de forma que el triplete codifica para un aminoácido diferente del que debería, es decir, en esa posición de la proteína habrá un aminoácido incorrecto, lo que puede alterar más o menos la función de la proteína dependiendo de su localización e importancia.

Ejemplo:

Soy sal del mar → Soy sil del mar (varía y pierde el sentido)

The cat ate the rat → The cat ate the wat (varía y pierde el sentido)

Residuos hidrófobos. Aquellas sustancias que son repelidas por el agua o que no se pueden mezclar con ella. Un ejemplo de sustancias hidrófobas son los aceites.

Para más información, recomendamos:

- Guía práctica para las familias afectadas por CDG:
http://www.apcdg.com/uploads/4/1/1/9/41196831/guia_practica_familias_cdg.compressed.pdf
- Capítulo de la *Guía Metabólica* dedicado a las chaperonas farmacológicas:
<http://www.guiametabolica.org/noticia/tratamiento-enfermedades-metabolicas-hereditarias-chaperonas-farmacologicas>
- Capítulo sobre qué son las mutaciones y sus tipos:
<http://www.guiametabolica.org/noticia/tipos-mutaciones>