

La dificultad de diagnosticar síndromes esqueléticos: nuevas aproximaciones para resolver casos con variantes de significado incierto

The difficulty of diagnosing skeletal syndromes: New approaches to solving cases with variants of uncertain significance

Iván Durán

Investigador principal del proyecto DIAGSKEL. Biomedicina esquelética en IBIMA-Plataforma Bionand. Profesor de Biología Celular, Genética y Fisiología. Centro de Investigación Biomédica en Red. Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER-BBN. (España)

En los últimos años, la investigación sanitaria sobre enfermedades raras se ha establecido como prioridad temática por múltiples organismos científicos, rescatando a un grupo de pacientes que históricamente ha sido casi desahuciado por falta de conocimiento y capacidad para ser atendido apropiadamente en nuestro sistema sanitario. En poco más de 10 años, los descubrimientos sobre el genoma humano, las nuevas tecnologías de secuenciación masiva y el establecimiento de medicina personalizada como nuevo campo biomédico han permitido la identificación de cientos de nuevas enfermedades raras del esqueleto. Esto ha permitido que las displasias esqueléticas dejen de ser medidas por su prevalencia individual para ser reconocidas como uno de los temas pendientes en disciplinas como la endocrinología, la traumatología y la pediatría.

Las displasias esqueléticas son un grupo de trastornos hereditarios raros que afectan al desarrollo, el crecimiento y la homeostasis del esqueleto. Algunas de estas displasias son conocidas para la mayoría de la comunidad médica, como, por ejemplo, la osteogénesis imperfecta (enfermedad de los huesos de cristal) o la acondroplasia (la forma más común de enanismo), pero existen más de 400 formas reconocidas de displasias esqueléticas que afectan a alrededor de 2,4 de cada 10.000 nacimientos (1,2),

todas categorizadas como enfermedades raras o extremadamente raras. Las técnicas de secuenciación masiva (principalmente el análisis de exomas) han permitido la caracterización hasta del 90% de las displasias esqueléticas con mutaciones en 437 genes. Sin embargo, en la práctica, todavía hay una mayoría de casos que no consiguen ser diagnosticados a nivel genético. Esto ocurre principalmente cuando no se encuentra una mutación o se identifican variantes de significado incierto (VUS), lo que nos lleva a preguntarnos ¿qué es exactamente un caso con VUS y cómo podemos resolverlo?

Un caso con VUS es el que, siendo sospecha de afección hereditaria, ofrece resultados genéticos no concluyentes debido a que no se encuentra ninguna de las mutaciones conocidas causantes de la enfermedad sospechada. En vez de una mutación, se identifica una alteración genética de consecuencias desconocidas. En otras palabras, una variación genética que no se sabe si es patológica o benigna.

Este tipo de resultado genético tiene, hoy en día, connotaciones muy negativas para el paciente, ya que no puede interpretarse un diagnóstico ni implementar un cuidado médico específico. Para estos pacientes, el valor del diagnóstico, incluso en ausencia de terapia, es un paso necesario hacia la atención médica adecuada, la prognosis, la atención a morbilidades asociadas y la información esencial para encontrar futuros enfoques terapéuticos. La única solución para estos pacientes es un estudio funcional del caso con VUS con el objetivo de confirmar su patogenicidad y diagnóstico.

Correspondencia:

Iván Durán

Centro de Investigación Biomédica en Red. Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER-BBN, España
ijduran@uma.es

La atribución de patogenicidad en los casos con VUS mediante un análisis funcional puede sonar sencillo y coherente con pruebas de diagnóstico, pero, desafortunadamente, no es el caso por las siguientes razones: en primer lugar, cada caso debe analizarse mediante un estudio personalizado: tengamos en cuenta que cada VUS implica una situación desconocida y única para la medicina; en segundo lugar, las pruebas que se deben realizar conllevan metodologías experimentales no puestas a punto en sistemas hospitalarios, dichas técnicas suelen desarrollarse en laboratorios de investigación para usarlas un número limitado de veces; en tercer lugar, dichas metodologías son increíblemente variables y especializadas, hasta tal punto de que ningún laboratorio del mundo es capaz de ejecutar todas las metodologías necesarias para resolver todos los tipos de VUS que se encuentren en un grupo de enfermedades como las displasias esqueléticas; y, por último, es importante admitir la limitación financiera de los grupos de investigación que son capaces de llevar a cabo estudios funcionales, ya que la realización de este tipo de investigación personalizada consume importantes recursos de laboratorio y genera un bajo rendimiento académico, lo que impide justificar el gasto de financiación en estas actividades. Todo esto desincentiva tanto a médicos como a investigadores biomédicos para comprender las consecuencias de las VUS, a pesar de su alto valor clínico. Gracias a las nuevas perspectivas de la medicina personalizada e investigación en enfermedades raras, se está produciendo un cambio de paradigma en el que a los laboratorios de investigación se les anima a participar en el diagnóstico clínico no con fines de publicación, sino para su aplicación clínica. De modo que sólo queda pendiente el problema financiero para promover la coordinación entre clínicos e investigadores para conseguir una verdadera medicina personalizada.

En España, tenemos la suerte de encontrar una importante red de endocrinólogos pediátricos y adultos, reumatólogos pediátricos, traumatólogos y genetistas que son capaces de identificar y clasificar la mayoría de los casos de displasia esquelética en los protocolos de pruebas genéticas; sin embargo, estos grupos se enfrentan continuamente a la impotencia no poder resolver casos con VUS. Esto deja claro que lo más difícil de coordinar en España son los grupos experimentales, que, en el caso de displasias esqueléticas, son muy escasos comparados con otros países, como Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Suiza, Francia o China, con numerosos grupos de investigación esquelética. La importancia de esta pobreza científica va más allá de la investigación, porque provoca un sesgo sanitario, donde los pacientes españoles con displasias esqueléticas dependen de los descubrimientos en otros países donde las VUS pueden ser

poblacionalmente muy diferentes. La única solución a este sesgo sanitario-social es el establecimiento de consorcios de investigación especializados en los que España tenga autonomía propia. Actualmente, el autor de este artículo lidera uno de estos consorcios a nivel europeo y autonómico (proyecto DIAGSKEL), que une varios grupos especializados con una amplia experiencia en las técnicas aplicadas a los estudios funcionales. Este consorcio, con sede principal en el Instituto Bionand (IBIMA-Plataforma Bionand) en Málaga, se centra en analizar casos con VUS y resolverlos mediante estudios *in vitro*, *in vivo* y de ingeniería tisular. Mediante la aplicación de dos de estas aproximaciones, se establece un sistema de doble prueba de patogenicidad, ya que los estudios funcionales necesarios para confirmar las VUS están establecidos por la comunidad científica internacional como dos metodologías independientes que apuntan a una conclusión similar de patogenicidad. En este sentido, se combinan ensayos moleculares con análisis de modelos celulares de cada paciente con VUS mediante técnicas de edición genética, inducción de pluripotencialidad e ingeniería de organoides esqueléticos. En este consorcio también se establecen modelos animales para probar la expresión *in vivo* de las VUS⁽³⁻⁷⁾.

La idea de este consorcio es que los grupos clínicos de cualquier centro de salud nacional o europeo accedan fácilmente a su uso a través de una consulta rápida con la información clínica del paciente (autorización previa), incluyendo los resultados genéticos no concluyentes. Inmediatamente, cada caso lo estudiará un comité de expertos (en el que se incluirá al médico responsable del caso) para concurrir una estrategia de estudios funcionales que confirmen la patogenicidad de la VUS y permitan el diagnóstico. Se estima que, dependiendo del tipo de alteración genética, se puede confirmar o descartar la patogenicidad de la VUS entre tres y 12 meses. El comité de expertos personalizado informa al paciente a través de su médico para concluir un diagnóstico entre los casi 400 síndromes esqueléticos reconocidos. Este informe se complementa, en la medida de lo posible, con recomendaciones de cuidados sanitarios y posibles tratamientos. Paralelo a este procedimiento, los datos de patogenicidad de la VUS se publican a modo de informes clínicos en bases de datos internacionales de genómica humana (como OMIM, ExAC o REFSEQ) y se aprueban por la comunidad científica en revistas de investigación clínica indexadas. Esto permite que estos resultados se puedan implementar a pacientes similares por todo el mundo. Este procedimiento lleva años establecido en otros sistemas sanitarios en múltiples países, lo que ha permitido la identificación de nuevos genes y nuevas displasias esqueléticas, y resolver casos con VUS a través de estudios mecanísticos que no sólo implementan un diagnóstico, sino que permiten el acceso de los pacientes a nuevos tratamientos emergentes⁽⁸⁻²⁵⁾.

En resumen, las enfermedades raras y, en concreto, las displasias esqueléticas son uno de los nuevos desafíos alcanzables por nuestro sistema biosanitario. Debemos fomentar la interacción entre clínicos e investigadores biosanitarios para hacer llegar resultados clínicamente útiles a nuestros pacientes. Nuestros obstáculos son las limitaciones financieras para que el tejido de I+D+i pueda acercarse a la clínica y el exceso burocrático, que obstaculiza la generación de nuevos lazos cooperativos entre grupos clínicos y experimentales. Esto ha de llevarse a cabo no sólo en hospitales y centros de investigación individualizados, sino a nivel multicéntrico y generalizado para beneficiar a la población total de pacientes con displasia esquelética.

Referencias bibliográficas

1. Krakow D, Rimoin DL. The skeletal dysplasias. *Genetics Med* 2010; 12: 327-41.
2. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Mundlos S, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. *Am J Med Genet A* 2019; 179: 2393-419.
3. Zhang W, Taylor SP, Ennis HA, Forlenza KN, Duran I, Li B, et al. Expanding the genetic architecture and phenotypic spectrum in the skeletal ciliopathies. *Human Mutat* 2017; 7: 248.
4. Lu T, Forgetta V, Wu H, Perry JRB, Ong KK, Greenwood CMT, et al. A polygenic risk score to predict future adult short stature among children. *J Clin Endocrinol Metab* 2021; 106: 1918-28.
5. Manousaki D, Kämpe A, Forgetta V, Makitie RE, Bardai G, Belisle A, et al. Increased burden of common risk alleles in children with a significant fracture history. *J Bone Miner Res* 2020; 35: 875-82.
6. Mari-Beffa M, Mesa-Román AB, Duran I. Zebrafish models for human skeletal disorders. *Front Genet* 2021; 12: 675331.
7. Lu Z, Chiu J, Lee LR, Schindeler A, Jackson M, Ramaswamy Y, et al. Reprogramming of human fibroblasts into osteoblasts by insulin-like growth factor-binding protein 7. *Stem Cells Transl Med* 2020; 9: 403-15.
8. Duran I, Zieba J, Csukasi F, Martin JH, Watchell D, Barad M, Dawson B, et al. 4-PBA treatment improves bone phenotypes in the *Aga2* mouse model of osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res* 2022; 37: 675-86.
9. Kimura T, Bosakova M, Nonaka Y, Hrubá E, Yasuda K, Futakawa S, et al. An RNA aptamer restores defective bone growth in FGFR3-related skeletal dysplasia in mice. *2021 Sci Transl Med* 2021; 13: eaba4226.
10. Barad M, Csukasi F, Kunova-Bosakova M, Martin J, Zhang W, Taylor SP, et al. Mutations in LAMA5 disrupts a skeletal noncanonical focal adhesion pathway and produces a distinct bent bone dysplasia. *EBioMedicine* 2020; 62: 103075.
11. Kunova Bosakova M, Abraham SP, Nita A, Hrubá E, Buchtova M, Taylor SP, et al. Mutations in GRK2 cause Jeune syndrome by impairing Hedgehog and canonical Wnt signaling. *EMBO Mol Med* 2020; 12: e11739.
12. Csukasi F, Duran I, Zhang W, Martin JH, Barad M, Bamshad M, et al. Dominant-negative SOX9 mutations in campomelic dysplasia. *Hum Mutat* 2019; 40: 2344-52.
13. Kunova Bosakova M, Nita A, Gregor T, Varecha M, Gudernova I, Fafilek B, et al. Fibroblast growth factor receptor influences primary cilium length through an interaction with intestinal cell kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019; 116: 4316-25.
14. Csukasi F, Duran I, Barad M, Barta T, Gudernova I, Trantirek L, et al. The PTH/PTHrP-SIK3 pathway affects skeletogenesis through altered mTOR signaling. *Sci Transl Med* 2018; 10: eaat9356.
15. Bosakova MK, Varecha M, Hampl M, Duran I, Nita A, Buchtova M, et al. Regulation of ciliary function by fibroblast growth factor signaling identifies FGFR3-related disorders achondroplasia and thanatophoric dysplasia as ciliopathies. *Hum Mol Genet* 2018; 27: 1093-105.
16. Duran I, Tenney J, Warren C, Sarukhanov A, Csukasi F, Skalansky M, et al. NRP1 haploinsufficiency predisposes to the development of Tetralogy of Fallot. *Am J Med Genet* 2018; 176: 649-56.
17. Duran I, Taylor SP, Zhang W, Martin J, Qureshi F, Jacques SM, et al. Mutations in IFT-A satellite core component genes IFT43 and IFT121 produce short rib polydactyly syndrome with distinctive campomelia. *Cilia* 2017; 6: 7.
18. Duran I, Weis MA, Lietman C, Martin J, Li B, Krejci P, et al. An endoplasmic reticulum chaperone complex modulates lysyl hydroxylation of type I procollagen. *J Bone Miner Res* 2017; 32: 6.

19. Marques F, Bateman JF, Tenney J, Duran I, Martin J, Nevarez L, et al. Altered mRNA splicing, chondrocyte gene expression and abnormal skeletal development due to SF3B4 mutations in Rodriguez acrofacial dysostosis. *PLoS Genet* 2016; 12: e1006307.
20. Duran I, Taylor SP, Zhang W, Martin J, Forlenza FN, Spiro RP, et al. Destabilization of the IFT-B cilia core complex due to mutations in IFT81 causes a spectrum of short-rib polydactyly syndrome. *Sci Rep* 2016; 6: 34232.
21. Taylor SP, Kunova Bosakova M, Varecha M, Balak L, Barta T, Trantirek L, et al. An inactivating mutation in intestinal cell kinase, ICK, causes short rib-polydactyly syndrome and impairs hedgehog signaling. *Hum Mol Genet* 2016; 25: 3998-4011.
22. Zieba J, Forlenza K, Khatra JS, Sarukhanov A, Duran I, Rigueur D, et al. TGF β and BMP dependent cell fate changes due to loss of Filamin B produces disc degeneration and progressive vertebral fusions. *PLoS Genet* 2016; 12: e1005936.
23. Toriyama M, et al. A ciliopathy protein complex directs cytoplasmic assembly of the IFT machinery. *Nat Genet* 2016; 48: 648-56.
24. Taylor SP, Dantas TJ, Duran I, Wu S, Lachman RS, University of Washington Center for Mendelian Genomics Consortium, et al. Mutations in DYNC2LI1 disrupt cilia function and cause short rib polydactyly syndrome. *Nat Commun* 2015; 6: 7092.
25. Duran I, Nevarez L, Sarukhanov A, Wu S, Lee K, Krejci P, et al. HSP47 and FKBP65 cooperate in the synthesis of type I procollagen. *Hum Mol Genet* 2014; 24: 1918-28.