

USO DE MAPAS DE EXPRESIÓN GÉNICA PARA IDENTIFICAR GENES CANDIDATOS DE PATRONES CLÍNICOS MORFOGENÉTICOS: ANÁLISIS LA UNIDAD DE DESARROLLO ACRO-RENAL

M.L. Martínez-Frías¹⁻³ y Salvador Martínez⁴.

¹ ECEMC, Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), del Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid.

³ Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense. Madrid.

⁴ Instituto de Neurociencias Universidad Miguel Hernández -UMH-CSIC. San Juan de Alicante.

Summary

Congenital anomalies of human morphology have been classified under two criteria: 1) according to a catalogue of affected organs and systems or, 2) the pathogenic relationship explaining the detected malformations. This second approach seems to be the adequate way to look for the causal mechanisms involved in the clinical manifestations of multiorganic congenital alterations: malformations, deformations and disruptions when organs are affected and dysplasia when tissues are affected (or combination of them). Sometimes a group of organs and tissues appear frequently affected in congenital anomalies suggesting that they could share regulatory processes and molecular mechanisms during embryonic development. Therefore, these organs are part of a morphogenetic field (developmental field). The way to discover molecular candidates to development field alteration is to explore correlations between anatomic alterations and gene expression patterns. To test the efficiency of this approach methodology we have analyzed gene expressions in an extensive expression data webpage: EUREXpress, where the expression of 14,000 mouse genes has been mapped at 14th days of embryonic development, genes showing multiorganic expression patterns coincident with the organic anomalies described in our data base for acro-renal syndrome. From 704 genes expressed in the footplate or kidney, 6 genes have a complex expression pattern covering most of the organs affected in acro-renal developmental field defect. Then, this approach identifies easily possible candidate genes for the acro-renal syndrome. Further basic and clinical analysis will be necessary to demonstrate the possible pathogenic relationship.

Introducción

Conceptos de Dismorfología

El desarrollo de la investigación sobre los errores de la morfogénesis humana, ha devenido en la estructuración de una serie de grupos clínicos basados en dos grandes aspectos. Por un lado, en función al número de órganos o sistemas corporales que estuvieran afectados y, por otro, a la relación patogénica, conocida o sospechada, de las diferentes alteraciones del desarrollo presentes en cada niño recién nacido (Figura 1).

El primer aspecto consiste en separar los casos en dos grupos, siendo uno de ellos el considerado como de casos "aislados", que incluye a los niños que presentan una única alteración del desarrollo afectando a un órgano o, incluso, un sistema. El segundo grupo es el de los casos "polimalformados" agrupando a los niños con afectaciones en varios órganos y/o sistemas. Esta separación ha sido de gran

FIGURA 1.

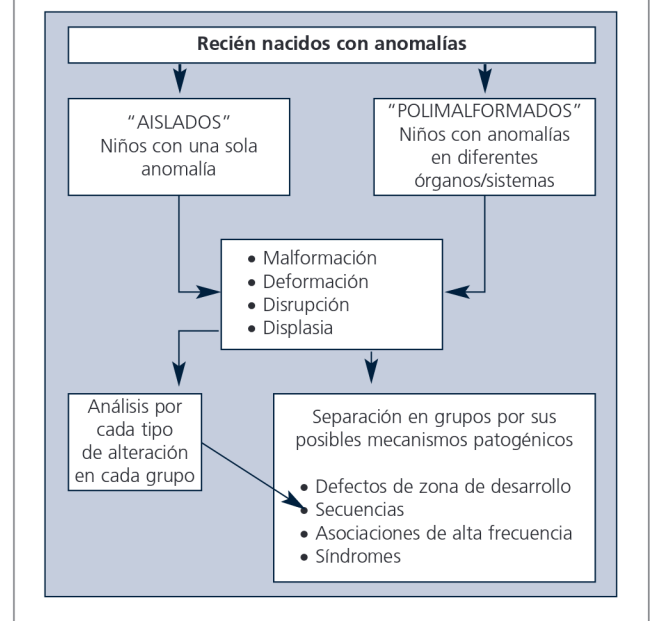
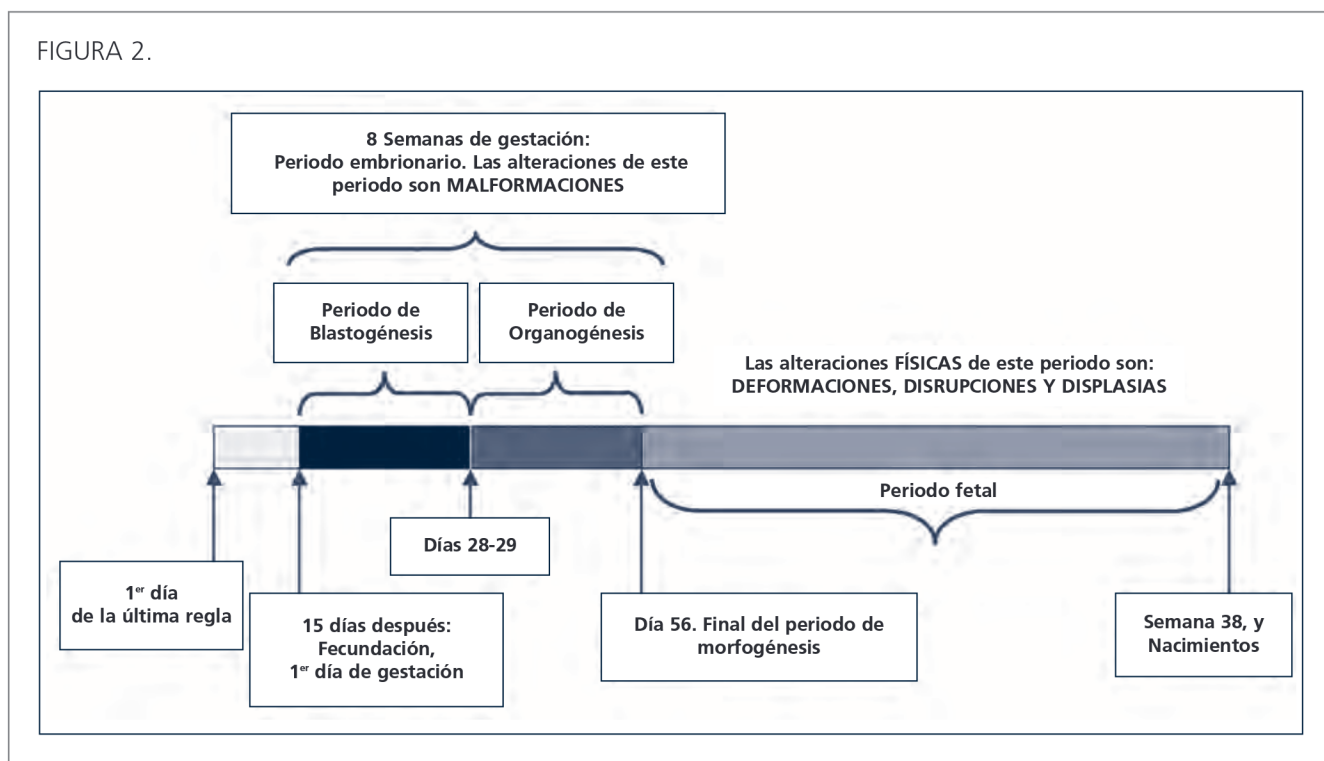


FIGURA 2.



utilidad para establecer categorías y clasificaciones descriptivas, así como para los estudios sobre las características de cada tipo de alteración en función a su presentación como único defecto del niño, o formando parte de cuadros polimalformativo.

El segundo aspecto, que es el relacionado con los posibles mecanismos patogénicos implicados, ha sido de gran utilidad para la búsqueda de factores causales. Un resultado muy importante de este enfoque, ha sido mostrar que no todas las alteraciones físicas (dismorfológicas) presentes en los niños recién nacidos, son auténticas malformaciones. Como resultado se han diferenciado los cuatro tipos siguientes¹⁻²:

“Malformaciones”. Como el propio nombre indica, se refiere a las alteraciones de la forma; es decir, a las que se producen durante la fase de formación de las estructuras corporales (etapa de morfogénesis), que corresponde al período embrionario. Este período abarca desde el momento de la fecundación hasta el final de la octava semana de embarazo (10 semanas si se cuenta desde el primer día de la última regla). Pero en este largo período se distinguen dos partes en relación con el desarrollo morfológico. La denominada *“blastogénesis”*, que abarca las primeras cuatro semanas (28-29 días de gestación), es cuando se forma la blástula y se produce el fenómeno de gastrulación con la generación las capas blastodérmicas y la inducción (especificación) de los esbozos o primordios de los órganos. La segunda, que comprende las cuatro semanas siguientes (desde el día 30

al 56 de gestación), corresponde a la *“organogénesis”* propiamente dicha, ya que durante estas cuatro semanas tiene lugar el desarrollo de los primordios establecidos en el período anterior, dando lugar a todos los órganos. Al terminar la semana octava, el futuro hijo ya ha adquirido la forma humana, por lo que durante las 30 semanas restantes, se va a producir el crecimiento y la maduración funcional de todos los órganos y estructuras.

Sin embargo, existen recién nacidos con alteraciones morfológicas (físicas) que no son malformaciones en sentido estricto, porque no son consecuencia de alteraciones intrínsecas de los mecanismos que regulan la morfogénesis. Por tanto, se pueden producir en cualquier momento del desarrollo, aunque fundamentalmente durante el período fetal (Figura 2), dando lugar a los tipos siguientes (Figura 1):

“Deformaciones”. Se refieren a estructuras cuya morfogénesis fue normal, pero que, como el propio nombre indica, posteriormente se deformaron. Por tanto, se producirán una vez finalizado el período embrionario, esencialmente durante el segundo y tercer trimestre del embarazo, siendo más graves cuanto más pronto se produzcan. No obstante, si ocurren en fases tempranas del desarrollo fetal pueden ser muy difícil de distinguir de las verdaderas malformaciones de esas estructuras. Un ejemplo puede ser el pie zambó como consecuencia de una malformación primaria de su desarrollo (por ejemplo, producido por una alteración ge-

nética de los mecanismos que regulan la formación de las estructuras del tarso); y un pie zambo producido por una deformación temprana, que podría ser debida, a fenómenos posturales o compresivos (falta de líquido amniótico, útero con septos...), o también por agentes (infecciones, sustancias químicas tóxicas...) que afecten a las señales moleculares que controlan el crecimiento armónico de las partes de un pie que estaba bien formado.

"Disrupciones". Con este anglicismo, se hace referencia a estructuras que se formaron bien, pero que posteriormente se destruyeron. La destrucción, como la deformación, también ocurre preferentemente durante el periodo fetal, siendo más grave cuanto más precozmente se produzca. Estas también pueden ser difícil de distinguir de ciertas malformaciones. Por ejemplo, la falta de un antebrazo y mano, como resultado de una malformación intrínseca de los mecanismos naturales del desarrollo del miembro, o ser producida por una amputación congénita temprana secundaria a, por ejemplo, bridas amnióticas, altas temperaturas, y cualquier otro factor que altere el flujo sanguíneo. Los procesos "disruptivos" pueden actuar también en cualquier momento del embarazo, hasta pocos días antes del parto, y cuanto más tarde se produzca la alteración, más fácil será su identificación como proceso disruptivo.

"Displasias". Este último grupo de anomalías se refiere a aquellas que afectan a la formación de los tejidos (histogénesis) que forman un órgano o sistema. Por tanto, en muchos casos suelen manifestarse con el crecimiento postnatal.

Defectos de Zona (unidad, o Campo) de Desarrollo (DZD)

Este enfoque dismorfológico, que se inició en la década de los años ochenta del siglo pasado por Spranger y cols.¹ con objeto de definir grupos de defectos que pudieran tener una patogenia común, llevó a la definición de diferentes tipos de malformaciones que cuando se presentaban juntas en el mismo niño se conocía, o presumía, que compartían los mismos mecanismos patogénicos. Conceptos que fueron desarrollados y redefinidos en los años noventa fundamentalmente por Opitz,² y posteriormente documentados mediante estudios epidemiológicos³⁻⁷.

Entre los diferentes grupos, uno de los más estudiados fueron los denominados defectos de zona (o unidad) de desarrollo (DZD), que se consideraban alteraciones de unidades morfogénicas. Esta consideración se basaba en que una "zona morfogénica" es una región o partes del embrión que responde como una unidad coordinada a las in-

ducciones embrionarias, dando lugar a estructuras anatómicas sencillas o complejas⁵⁻⁷. Por tanto, si son unidades reactivas *morfogenéticas*, tendrán siempre una misma respuesta *dismorfológica* (o malformativa), ante el efecto adverso de distintos factores (sean genéticos o ambientales) por lo que darían lugar a un patrón clínico de defectos que son los que constituyen el DZD⁸.

En consecuencia, para determinar que un conjunto de defectos son parte de una unidad de desarrollo, lo primero que hay que demostrar es que esos defectos tienden a darse juntos en el mismo niño, con una frecuencia mayor de la esperada por azar. Segundo, que ese agrupamiento de defectos se observa como consecuencia de múltiples factores etiológicos. Y es precisamente esa heterogeneidad etiológica, una de las vías que tenemos para reconocer unidades reactivas morfogénicas en el ser humano^{1,2,8}. Estas características teóricas de las unidades reactivas morfogénicas que daban lugar a una estructura final, fueron documentadas mediante estudios epidemiológicos del ECEMC³⁻⁷.

En la actualidad, con el desarrollo de métodos muy sensibles de detección de la expresión génica, junto con los grandes avances de los estudios de genética molecular, se está observando que ciertas unidades morfogénicas están reguladas por genes únicos con patrones de expresión multiorgánica (PAX, HOX, SHH, FGF, ...), e incluso por relación entre diferentes genes que establecen relaciones cooperativas durante el desarrollo (regulando la expresión o codificando elementos que interactúan en una misma ruta molecular).

Además, se ha desarrollado una base de datos de transcriptómica (estudio de la transcripción de genes) en embriones de ratón, (de la que el Dr. Salvador Martínez es uno de los autores), que puede ser utilizada para detectar expresiones multiorgánicas de un gen determinado (se va a mapear la expresión de 16.000 genes). Por otra parte, debido al tipo de análisis clínico seguido en el ECEMC y la versatilidad del código que ha desarrollado, tenemos la posibilidad de identificar niños que presentan grupos específicos de defectos. Estas dos posibilidades, nos llevó a considerar que sería de gran utilidad utilizar nuestra base de datos y la del transcriptoma, para la búsqueda de genes candidatos de los patrones clínicos que tenemos definidos en el ECEMC como DZD.

Con objeto de validar este enfoque, hemos realizado un estudio preliminar comparativo usando un DZD clínico bien conocido, el DZD Acro-renal, y buscar genes candidatos cuya alteración funcional pueda producir de forma directa o indirecta las alteraciones más frecuentes del DZD Acro-renal.

Material y Métodos

1. Material

Para este trabajo hemos utilizado dos tipos de bases de datos: la del ECEMC, y la base de datos pública de patrones de expresión que se viene desarrollando bajo el patrocinio de un proyecto Europeo llamado Eurexpress y que es accesible por Internet en la dirección: www.eurexpress.org.

Los datos clínicos sobre el DZD Acro-renal proceden del ECEMC, que es un registro de recién nacidos con cualquier tipo de defectos congénitos identificables durante los tres primeros días de vida. No vamos a describir su estructura y funcionamiento, ni la clasificación clínica, porque aparte de que han sido ampliamente publicadas⁹, se describen brevemente en otro artículo de este boletín (pag 28-47).

La base pública de datos de transcriptómica, se basa en el estudio del patrón de expresión (transcripción) de 16.000 genes en el embrión de ratón de 14 días de gestación (en la actualidad se han estudiado ya 13.265 de esos genes). Los datos obtenidos hasta el momento demuestran una importante conservación funcional de la mayoría de los genes entre vertebrados y, más aún entre mamíferos (ver revisión en Pomero y col.)¹⁰. Además, dada la gran cantidad de trabajos en los que se ha mostrado la similitud entre los mecanismos genético-moleculares entre el ratón y los seres humanos, se ha llegado a la conclusión de que se puede establecer de forma prácticamente segura, un paralelismo entre el patrón de expresión de los genes de ratón y sus homólogos en humanos. En relación con el tiempo de gestación del ratón el estudio de expresión se hace en un periodo intermedio, donde la fase de morfogénesis ha terminado completamente y algunos órganos ya han comenzado a diferenciar sus tejidos característicos. Este momento se corresponde con un feto humano de alrededor de las 8-9 semanas (56-63 días de gestación).

La posibilidad de obtener información sobre la expresión de cada gen en todo el organismo, mediante la detección del ARN mensajero con una técnica de hibridación in situ con el ARN complementario marcado, es de vital importancia para buscar patrones multiorgánicos de expresión que podrían explicar la afectación combinada de distintos órganos.

2. Métodos

Para buscar genes candidatos que pudieran explicar el DZD Acro-renal, en un primer paso hemos analizado las distintas manifestaciones clínicas de los casos del ECEMC. En total se han identificado 57 casos en los que se había iden-

tificado algún patrón de malformaciones correspondientes al DZD Acro-renal. Sin embargo, por las características del código del ECEMC en tres niveles⁹ (descrito en el trabajo de la página...), los casos se han separado en diferentes grupos según el diagnóstico global de cada niño.

Para identificar posibles genes candidatos del DZD Acro-renal, primero se hizo una selección de los genes que se expresan en el riñón embrionario (metanefros) en la base de datos de Eurexpress. El resultado fue la identificación de 704 genes con expresión en el riñón embrionario. Seguidamente se buscaron cuales de esos 704 genes se expresaban también en la región distal del esbozo de los miembros (sobre todo en la placa palmar).

Por último, se trató de correlacionar la expresión de esos genes con los aspectos clínicos observados en los casos de niños detectados en la base de datos del ECEMC.

Resultados

Como se muestra en la Tabla 1, los 57 niños que tenían un código de DZD Acro-renal, se separaron por el tipo de diagnóstico de cada niño. Así, en 27 casos (47,37%), los niños tenían otros defectos además del DZD Acro-renal en los que se pudo llegar a un diagnóstico de síndrome genético, ambiental, o una sospecha clínica de síndromes genéticos pendiente de confirmar. En 6 (10,53%) casos sólo se presentaban los defectos que habíamos considerado incluidos en el patrón de expresión clínica del DZD Acro-renal, y en 24 (42,11%) el DZD ACRO-renal se asociaba a defectos de otros sistemas, pero en los que no se identificó o sospechó síndrome alguno. Por tanto, para este estudio se va a mostrar los tipos de defectos asociados al DZD Acro-renal de estos 30 (52,63%) casos, aunque para la búsqueda de genes candidatos, en este análisis preliminar sólo se han considerado los 6 casos en los que todos los defectos que tenían los consideramos incluidos dentro de DZD Acro-renal.

En la Tabla 2, se describen los defectos que presentan cada uno de los 6 niños con DZD Acro-renal. En ellos se aprecia que las anomalías renales más frecuentes fueron las de agenesia renal unilateral seguida de displasia renal. En cuanto a los defectos de extremidades, 5 casos tenían ausencia o hipoplasia marcada, del pulgar, y en cuatro de los casos también ausencia/hipoplasia del metacarpiano. En un caso los defectos de extremidades afectaron sólo a los miembros inferiores, y la alteración renal era fusión renal con displasia renal. En cuanto a otras manifestaciones clínicas de este DZD, hemos incluido defectos de columna y atresias intestinales ya que, por su alta frecuencia de asociación con los defectos renales, nos pareció que debían formar parte del mismo patrón. En dos de los tres casos con agenesia renal,

TABLA 1

TOTAL DE NIÑOS RECIÉN NACIDOS (VIVOS O MUERTOS) QUE TIENEN ALGÚN DEFECTO RENAL Y TAMBIÉN ALGUNO DE REDUCCIÓN (AUSENCIA O HIPOPLASIA) DE PARTES DE LAS EXTREMIDADES

DEFECTOS	SOLO CON DZD-ACRO-RENAL	CON DZD-ACRO-RENAL MÁS OTROS DEFECTOS (MÚLTIPLES)	CON DZD-ACRO-RENAL MÁS OTROS DEFECTOS (SOSPECHA DE SÍNDROME)	DZD-ACRO-RENAL EN SÍNDROMES CROMOSÓMICOS	DZD-ACRO-RENAL EN SÍNDROMES GÉNICOS	DZD-ACRO-RENAL POR TERATÓGENOS
Casos	6	24	3 1- Diabetes 1- Trisomía 18 1- S. Jeune	13 7- Trisomía 18 5- Trisomía 13 1- 45,X	6 Varios	5 3- Diabetes 1- Alcohol 1-Hipertermia
TOTAL	6	24		27		

TABLA 2

NIÑOS SÓLO CON DZD ACRO-RENAL

NIÑOS SÓLO CON DZD ACRO-RENAL	1	2	3	4	5	6	TOTAL
ANOMALIAS RENALES							
Agnesia Renal Unilateral	+		+			+	3
Displasia Renal		+		+			2
Ectopia Renal					+		1
Hidronefrosis		+					1
AUSENCIA PARTES DE EXTREMIDADES							
Ausen/hipopla marcada PULGAR	+		+	+	+	+	5
Ausencia/hipoplas. metacarpiano	+		+	+	+		4
Ausencia/hipoplasia de miembros/partes Inferiores		+					1
ATRESIAS INTESTINALES							
Atresia de Esófago	+	+			+		3
Atresia/estenosis/Ano-recto		+					1
ANOMALIAS COLUMNA							
Fusión de vertebras			+				1
Hemivertebras	+	+	+				3
Hipoplasia del Sacro	+	+					2
Agen/hipoplasia pelvis/hemipelvis/fusion		+					1
Anomalías de Costillas	+		+				2

y en el que tenía fusión renal, se observaron anomalías vertebrales. En tres casos había atresia de esófago, y en uno atresia de ano

Para el resto de los 24 casos en los que el DZD Acro-renal se presentaba en niños con otros muchos defectos congénitos, en la Tabla 3 se muestran agrupados por los sistemas afectados que presentaban estos niños. Como se expuso en el apartado de métodos, los diferentes niños se ha seleccionado por presentar el DZD ACRO-renal, y se puede observar que los sistemas más frecuentemente afectados a los que se asocian son el SNC seguido de alteraciones intestinales, de columna y, con menos frecuencia, sensoriales. Es

interesante destacar que en 7 casos (29,17%) la alteración renal fue agnesia renal bilateral, mientras que entre los casos con sólo el DZD Acro-renal (Tabla 2), ninguno de los niños tenía esta agnesia bilateral, siendo siempre que se observó (en el 50% de los seis casos) unilateral.

Si la alteración genética causante del DZD Acro-renal fuera un gen único, habría que buscar genes con un patrón de expresión que, al menos, se localizara en la región distal del esbozo de las extremidades y en los órganos metanefricos (riñón y conductos renales). Además, si los genes candidatos también tuvieran expresión en otros lugares, podrían explicar la presencia conjunta de esos otros defectos observados en los 6 casos que hemos considerado incluidos en la expresión del DZD Acro-renal.

Del estudio detallado de los patrones de expresión de los 704 genes que se expresaban en el esbozo de las extremidades y en los órganos metanefricos, hemos seleccionado seis genes cuya expresión podría explicar las alteraciones en la formación del riñón (Figuras 3 y 4: flechas azul) y la región distal de las extremidades (Figuras 3 y 4: flechas negras). Los seis genes y sus homólogos humanos entre paréntesis, son:

1. Rarb: Receptor-beta de ácido retinoico (RARB, localizado en el cromosoma 3p24. OMIM:180220)
2. Enpp2: Nonucleótido de fosfodiesterasa (ENPP2, localizado en cromosoma 8q24).
3. Nfkbil2: Factor de transcripción (NFKB2, localizado en cromosoma 10q24).
4. Cd9: Antígeno Cd9 (CD9, localizado en cromosoma 12p13. OMIM: 143030)
5. Sall-like 1: (SALL 1, localizado en cromosoma 16q21. Es el gen que produce el síndrome de Townes-Brocks. OMIM: 602218)
6. Adamts 16: Metalopeptidasa parecida a disintegrina 16 (ADAMTS16, localizada en el cromosoma 5p15. OMIM: 607510).

TABLA 3

NIÑOS CON DZD ACRO-RENAL Y OTRAS MALFORMACIONES

NIÑOS CON DZD ACRO-RENAL CON AFECTACIÓN DE OTROS SISTEMAS	TOTAL	%
Anomalías renales	24	100
Ausencia partes de extremidades	23	95,83
Atresias intestinales	9	37,50
Anomalías de columna	8	33,33
Anomalías del sistema nervioso central.....	14	58,33
Alteraciones de órganos sensoriales	7	29,17
Fisuras del labio y/o paladar	2	8,33
Anomalías de corazón	4	16,67
Anomalías genitales.....	7	29,17
Otras	14	58

Por otra parte, se analizó si alguno, o todos, de esos 6 genes se expresaba también en la columna y en el intestino. De los seis, tres de ellos tenían expresión en estos lugares:

El gen *Nfkbil2* (Factor de transcripción), que se expresa, aunque en forma moderada, en el esófago, ano y en las articulaciones de los cuerpos vertebrales (Figura 5).

El gen *Rarb* (Receptor-beta de ácido retinoico), que se expresa en la mucosa esofágica y ano, y como receptor de ácido retinoico, puede intervenir en la segmentación vertebral (Figura 6).

El gen *Cd9* (Antígeno Cd9), que muestra una fuerte expresión en esófago, ano, y articulaciones de los cuerpos vertebrales (Figura 7).

Por tanto, son tres genes candidatos para este DZD Acro-renal, aunque, en principio, los dos últimos podrían ser los más indicados.

Discusión

Este DZD, se conocía como Síndrome Acro-renal, siendo postulado como una entidad malformativa independiente por Salmon y Wakefield en 1977¹¹. Esta entidad se caracterizaba por la presencia conjunta de alteraciones simétricas en las partes distales de las extremidades, anomalías del tracto reno-ureteral y moderado retraso mental. Hasta el presente, se han descrito múltiples casos de esta entidad, así como otros en los que se añadían nuevas anomalías de otros órganos que se afectaban con mayor o menor frecuencia; por lo que incluso fueron recibiendo diferentes nombres según el tipo de alteraciones asociadas, tales como el "síndrome Acro-renal-mandibular"¹², y el "síndrome Acro-renal-ocular"¹³.

De todos los tipos publicados, sólo en algunos casos de "síndrome Acro-renal-ocular" se ha podido encontrar un gene candidato: el gen del factor de transcripción *SALL4*, localizado en el cromosoma 20q13.13-q13.2, que también se ha visto implicado en el síndrome IVIC (alteración morfológica del miembro superior, oftalmoplejia externa y sorde-ra congénita progresiva)^{14,15}. Sin embargo, esto no es extraño, debido a la heterogeneidad, tanto clínica como probablemente etiológica, de todos estos "síndromes". Heterogeneidad que también se observa en los 24 casos del ECEMC, en los que el DZD Acro-renal se presentó tanto en niños con otros defectos congénitos deferentes a los renales y de extremidades, como con síndromes etiológicos bien definidos.

Desde un punto de vista transcriptómico, los 3 genes que hemos seleccionado podrían ser candidatos para explicar funcionalmente las alteraciones que definen al DZD Acro-renal. Aunque, como se aprecia por las zonas marcadas de las Figuras 3 y 4, algunos de esos genes se expresan también en otros órganos, pero con un patrón heterogéneo, que no se ajusta bien al total de defectos observados en los 6 casos. En general podríamos destacar que la mayoría también se expresan en el sistema nervioso central y en las glándulas, sobretodo salivares y tiroides. Pero, incluso se aprecian diferencias en la expresión en los órganos relacionados con el DZD Acro-renal. Por ejemplo, en el riñón, unos se expresan en la parte cortical (donde se desarrollan las nefronas), como el gen *Sall1* (Figura 4e), y otros, como el *Cd9* (Figura 4d), lo hacen en el sistema de secreción (tubos renales). No obstante, como por la manifestación clínica que presentan los casos no sabemos cual es la causa primera del defecto renal, la alteración clínica final que se observa puede ser debida a defectos de genes expresados en cualquiera de las partes.

Por otro lado, para los casos en los que se presentan alteraciones de otros órganos/sistemas diferentes, cabe la posibilidad de que puedan ser debidos a genes cercanos. Pero su estudio es más complejo, aunque ya se están desarrollando modelos comparando los mapas de expresión (transcripción) con mapas físicos de los genes (su localización en los cromosomas). Esto va a permitir detectar grupos de genes que están juntos en los cromosomas, y se parecen mucho en cuanto a su patrón de manifestación morfológica.

Es evidente que con este tipo de aproximaciones no estamos seguros de que podamos abarcar el genoma completo ni todas las alteraciones posibles; ahora bien, es una forma de acercarnos de un modo realista al diagnóstico genético de asociaciones complejas y multiorgánicas que concurren en el desarrollo humano, como es el patrón de este DZD.

FIGURA 3. Tres genes con expresión en riñón y partes distales de las extremidades en el ratón de 14 días de gestación (con la organogénesis terminada). La flecha azul señala el riñón, y la negra las parte distal de las extremidades.



FIGURA 4. Los otros tres genes con expresión en riñón y parte distal de las extremidades en el ratón de 14 días de gestación (con la organogénesis terminada). La flecha azul señala el riñón, y la negra las parte distal de las extremidades.

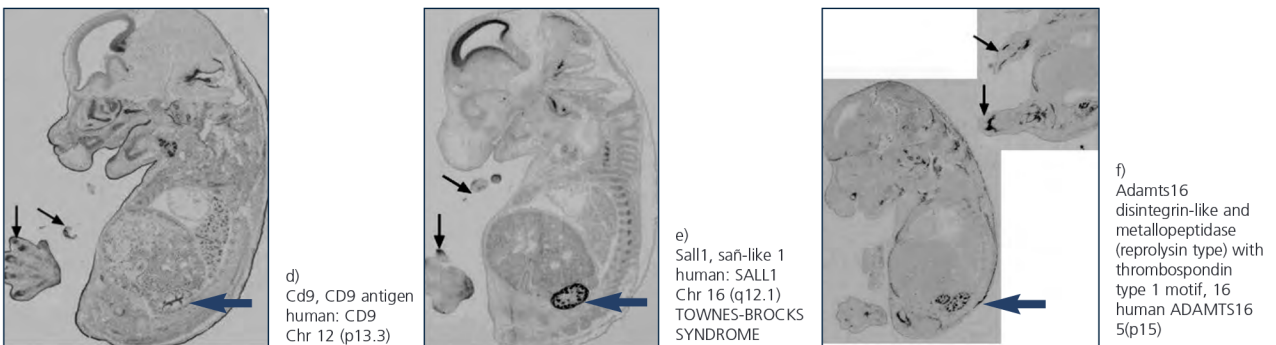


FIGURA 5. Gen **Nfkbil2** que también se expresa, aunque moderadamente, en esófago, ano, y articulaciones de los cuerpos vertebrales.

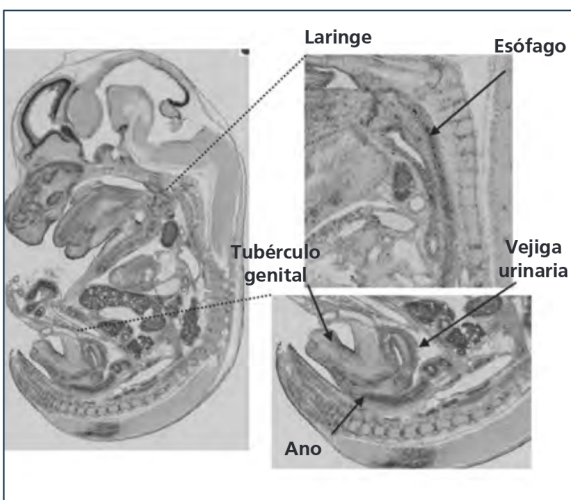


FIGURA 6. Gen **Rarb**, que también se expresa en esófago, ano. Como es receptor del ácido retinoico, puede intervenir en la segmentación vertebral.

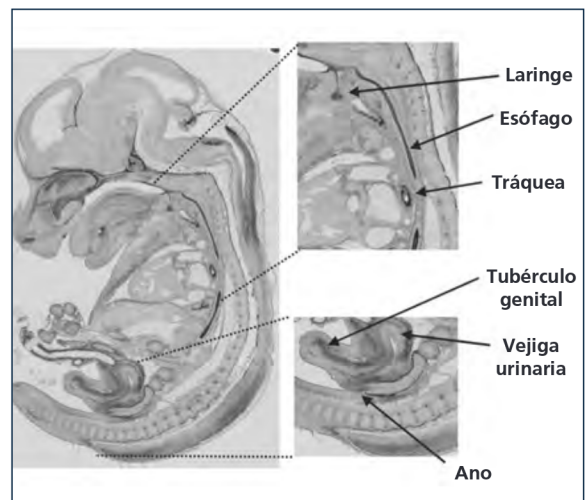
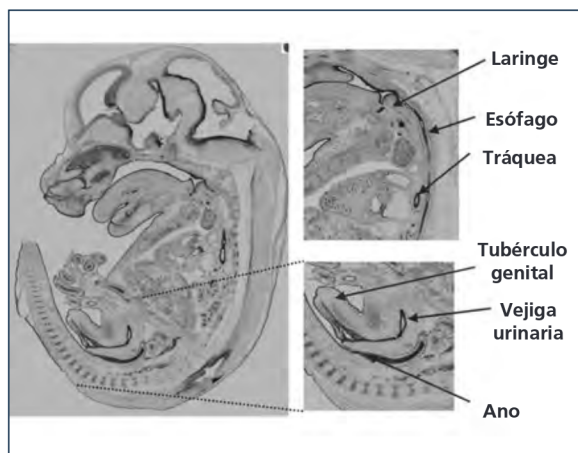


FIGURA 7. Gen *Cd9*, que también se expresa fuertemente en esófago, ano, y articulaciones de los cuerpos vertebrales.



Por tanto, una vez detectados ciertos genes candidatos, se puede establecer la estrategia clínica a seguir en casos de niños con estas anomalías, para buscar alteraciones en la expresión de estos genes mediante técnicas de genética molecular. Más aún, este sistema comparativo que abordamos en este trabajo, muestra una forma de aproximación de doble dirección. Por un lado, se puede partir de las malformaciones clínicas de niños y buscar en el ratón genes que se expresen en esas mismas zonas (como en este artículo). Por otro, partiendo de la identificación de la zona(s) de expresión de algún gen en el ratón, analizar si ese gene se encuentra implicado en la patogenia de alteraciones clínicas de la zona de expresión identificada en el ratón.

Para finalizar, queremos destacar las ventajas que supone el enfoque multidisciplinar de la investigación sobre alteraciones morfológicas del desarrollo, para identificar los mecanismos funcionales de esas patologías humanas. Además, mostramos, una vez más, el enorme valor que tienen los sistemas de registro de datos sobre niños con defectos congénitos, cuando incluyen una actualizada y completa evaluación clínica-dismorfológica, y un sistema ágil de codificación, no sólo de los diferentes tipos de defectos congénitos y síndromes clínicos, sino de patrones malformativos.

Estamos viviendo unos tiempos en los que se está produciendo una extraordinaria eclosión de conocimientos sobre la estructura funcional del genoma humano, que eran impensables hace tan sólo 15 años. Pero para que esos conocimientos puedan ser de utilidad en la práctica clínica, es

esencial la posibilidad de utilizar buenas bases de datos clínicas y enfoques multidisciplinarios.

Referencias

1. Spranger J., Bernirschke K., Hall J. G., Lenz W., Lowry R. B., Opitz J. M., Pinsky L., Schwarzacher H. G., Smith D. W. Errors of morphogenesis: Concepts and terms. *J Pediatr.* 1982;100:160-165.
2. Opitz JM. Blastogenesis and the "Primary Field" in human development. New York: Alan R. Liss Inc., for the National Foundation March of Dimes, BD:OAS XXIX (1) 1993:3-37.
3. Martínez-Frías ML, Frías JL. VACTERL as primary, polytopic developmental field defects. *Am J Med Genet.* 1999;83:13-6.
4. Martínez-Frías ML. Epidemiological analysis of the association of congenital diaphragmatic hernia with upper-limb deficiencies: a primary polytopic developmental field defect. *Am J Med Genet.* 1996;62:68-70.
5. Martínez-Frías ML, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E. Anal atresia, vertebral, genital, and urinary tract anomalies: a primary polytopic developmental field defect identified through an epidemiological analysis of associations. *Am J Med Genet.* 2000;95:169-73.
6. Martínez-Frías ML, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E, Frías JL. Exstrophy of the cloaca and exstrophy of the bladder: two different expressions of a primary developmental field defect. *Am J Med Genet.* 2001;99:261-69.
7. Martínez-Frías ML. Segmentation anomalies of the vertebrae and ribs: one expression of the primary developmental field. *Am J Med Genet A.* 2004;128:127-31.
8. Martínez-Frías ML, Frías JL, Opitz JM. Errors of morphogenesis and developmental field theory. *Am J Med Genet.* 1998;76:291-296. Review.
9. Martínez-Frías ML. Postmarketing analysis of Medicines. Methodology and value of the Spanish case-control study and surveillance system in preventing birth defects. *Drug Safety* 2007;30:307-316.
10. Pombero A, Valdes L, Vieira C, Martinez S. Developmental mechanisms and experimental models to understand forebrain malformative diseases. *Genes Brain and Behav Jun. Suppl 1:*45-52.
11. Salmon MA, Wakefield MA. The Acro-renal syndrome of Curran. *Dev Med Child Neurol.* 1977;19:521-524.
12. Halal F, Desgranges MF, Leduc B, Théorét G, Bettez P. Acro-renal-mandibular syndrome. *Am J Med Genet.* 1980;5:277-84.
13. Halal F, Homsy M, Perreault G. Acro-renal-ocular syndrome: autosomal dominant thumb hypoplasia, renal ectopia, and eye defect. *Am J Med Genet.* 1984;17:753-62.
14. Kohlhase J, Chitayat D, Kotzot D, Ceylaner S, Froster UG, Fuchs S, Montgomery T, Rösler B. SALL4 mutations in Okihiro syndrome (Duane-radial ray syndrome), Acro-renal-ocular syndrome, and related disorders. *Hum Mutat.* 2005; 26:176-183.
15. Paradisi I, Arias S. IVIC syndrome is caused by a c.2607delA mutation in the SALL4 locus. *Am J Med Genet A.* 2007;143:326-332.