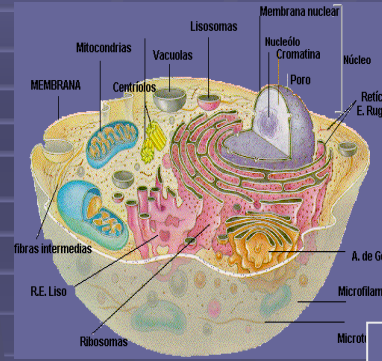
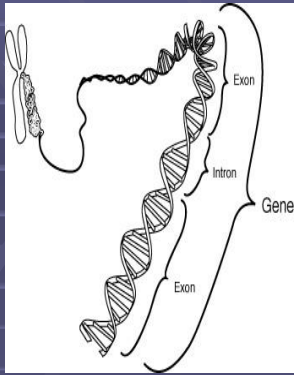


Entendiendo la Atrofia Muscular Espinal Mecanismos patogénicos de la enfermedad

CONCEPCIÓN HERNÁNDEZ CHICO
Unidad de Genética Molecular

LA GENÉTICA REVERSA



- Desde el conocimiento del **gen** llegamos a la **proteína**.
- Mediante la utilización de modelos celulares y/o animales investigamos la **función de la proteína** en la célula (tejido u órgano).
- Conociendo el **mecanismo patogénico**, se diseñan terapias: génicas, celulares, y/o farmacológicas

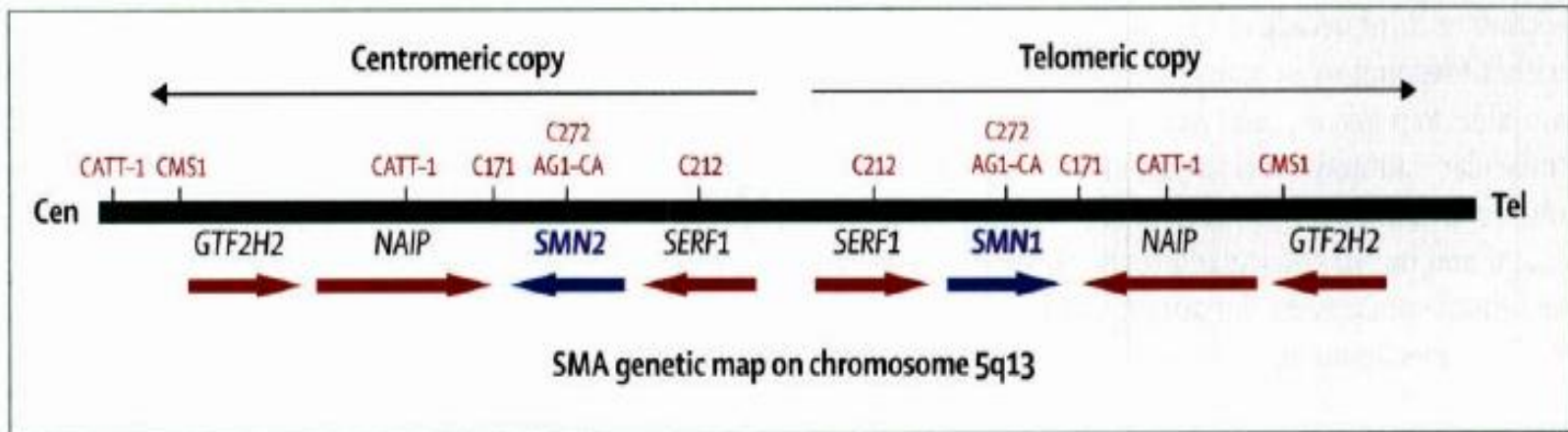
ATROFIAS MUSCULARES ESPINALES INFANTILES

- Degeneración de las motoneuronas del asta anterior de la médula espinal. Parálisis progresiva extremidades y tronco, atrofia muscular.
- **Herencia autosómica recesiva**
- **Incidencia 1/ 6.000 - 8.000 nacidos.**
- **Frecuencia de portadores 1/40 - 1/60.**
- Tres tipos según gravedad y edad de aparición de los síntomas.

TIPO	Edad de aparición de los síntomas	Evolución	
I (Werdnig-Hoffmann)	0- 6 meses	Nunca se sientan	Fallecen antes de los 2 años
II (Forma Intemedia)	< 18 meses	Nunca caminan	
III a	< 3 años	Marcha asistida	
III b	3- 20 años		

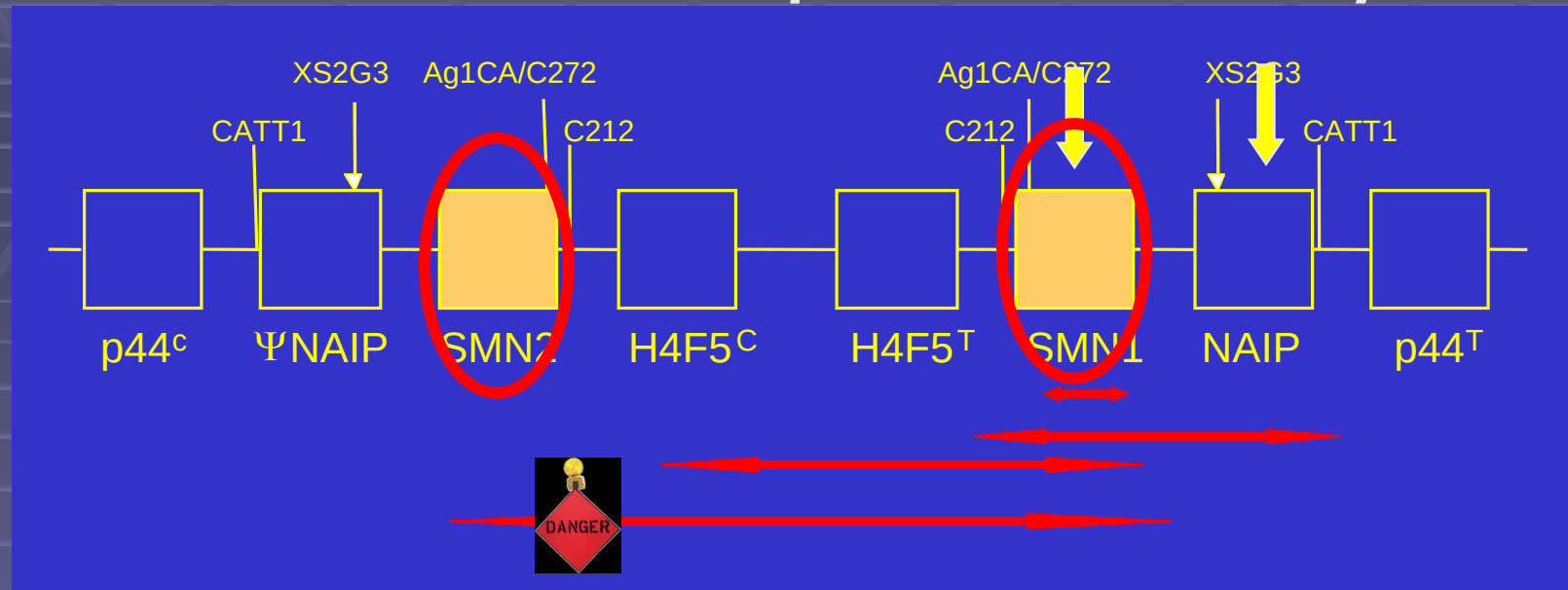
En 1990, se determinó la posición del locus AME
en el genoma humano

- Análisis de ligamiento genético: tres tipos AME ligados a **5q13 (1990)**.
- Análisis físicos: región compleja con **duplicación invertida de 500Kb (1995)**
- **GENES DUPLICADOS: NAIP, SMN, p44 y H4F5** y pseudogenes



En 1995,
se proponen dos genes asociados a la enfermedad :
SMN y NAIP

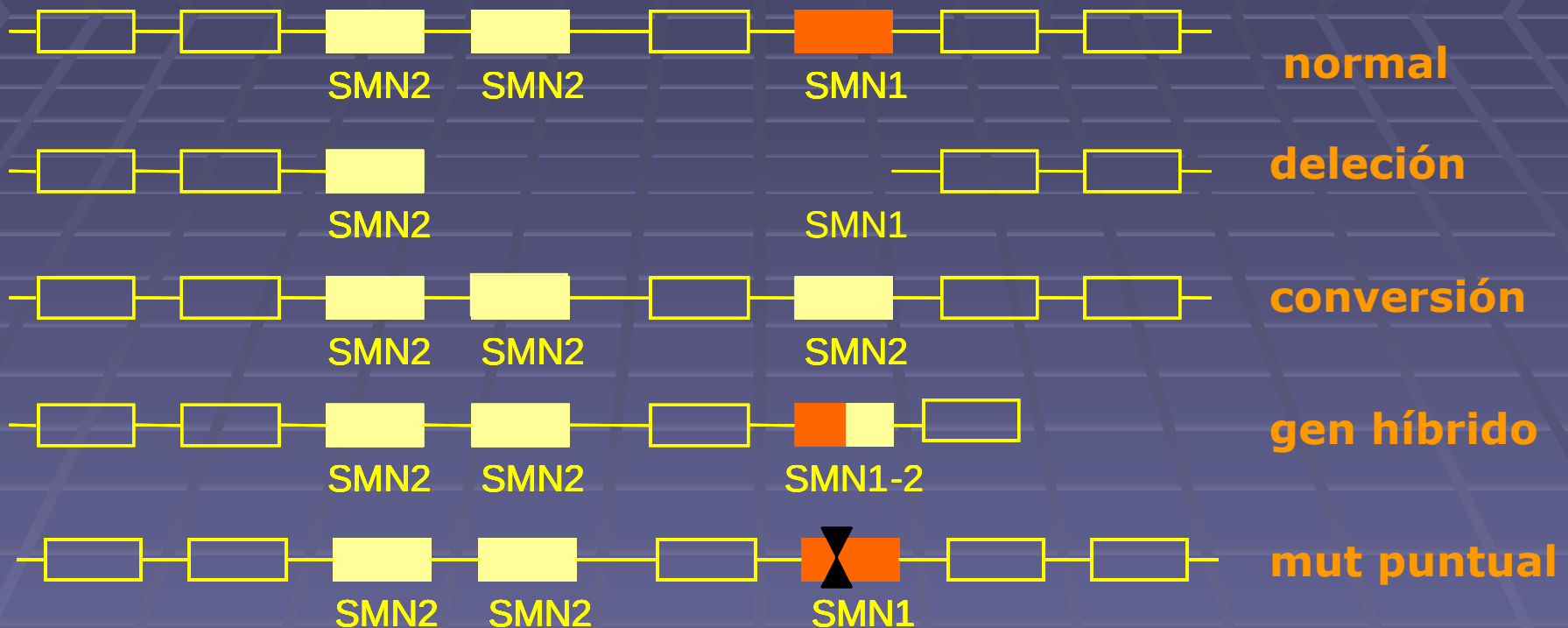
Se encuentran deleciones que eliminan *SMN1* y *NAIP*



DOS GENES CANDIDATOS
SMN1 (*SMN* copia telomérica) y *NAIP*

Genes AME
SMN1 (gen de la supervivencia de la motoneurona)
Y
SMN2 (Copia centromérica de *SMN1*)

ESPECTRO MUTACIONAL

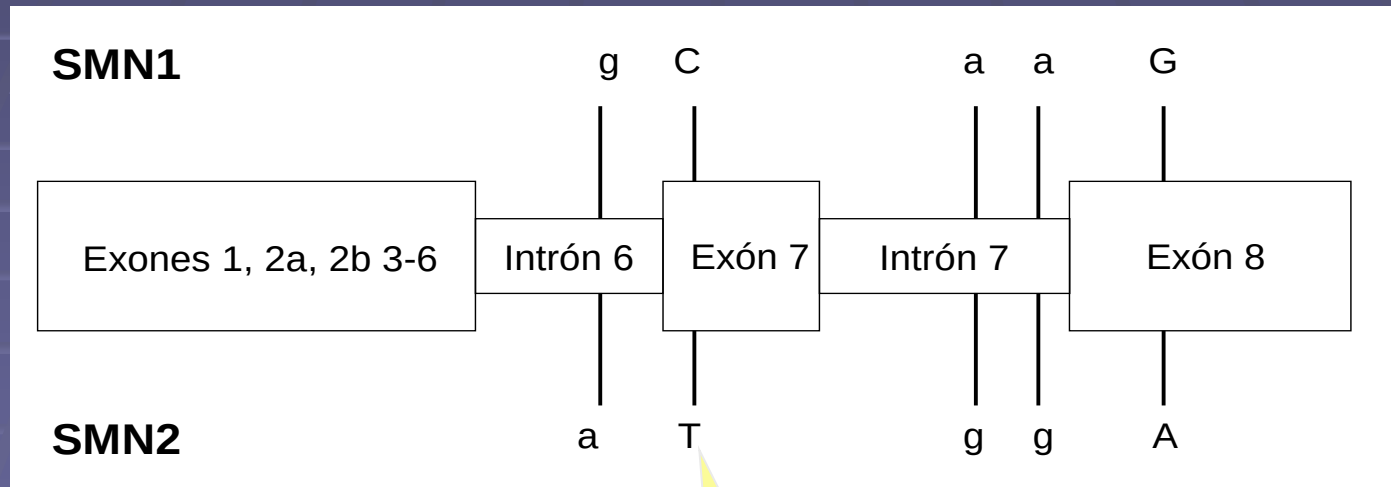


Pacientes SMA : Suceso mutacional más frecuente:
DELECIÓN o CONVERSIÓN, en homocigosis.

GENES SMN

SMN1 (SMN^{TEL}) y SMN2 (SMN^{CEN}): 27 Kb, 9 exones (1, 2a, 2b, 3-8).

Dos genes homólogos: 2 cambios en la secuencia codificante

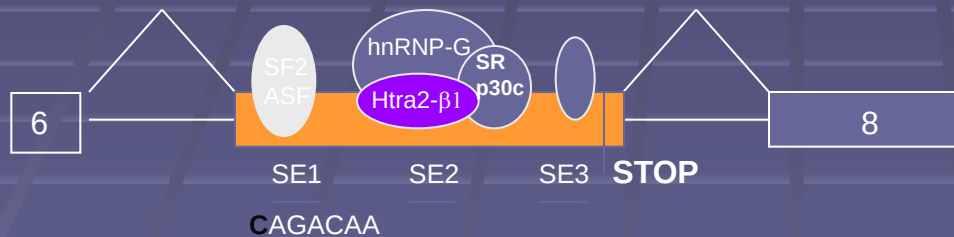


GENES SMN

SMN1 Y SMN2

Diferente patrón de procesamiento del mensajero:
dos proteínas diferentes

SMN1

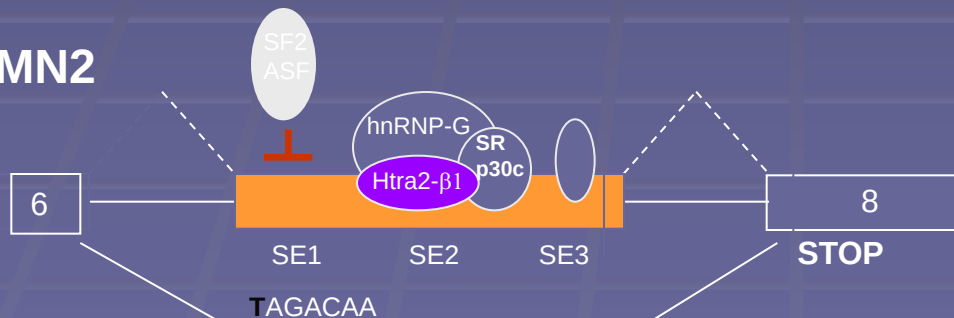


con exon7

100%

SMN

SMN2



sin exon7

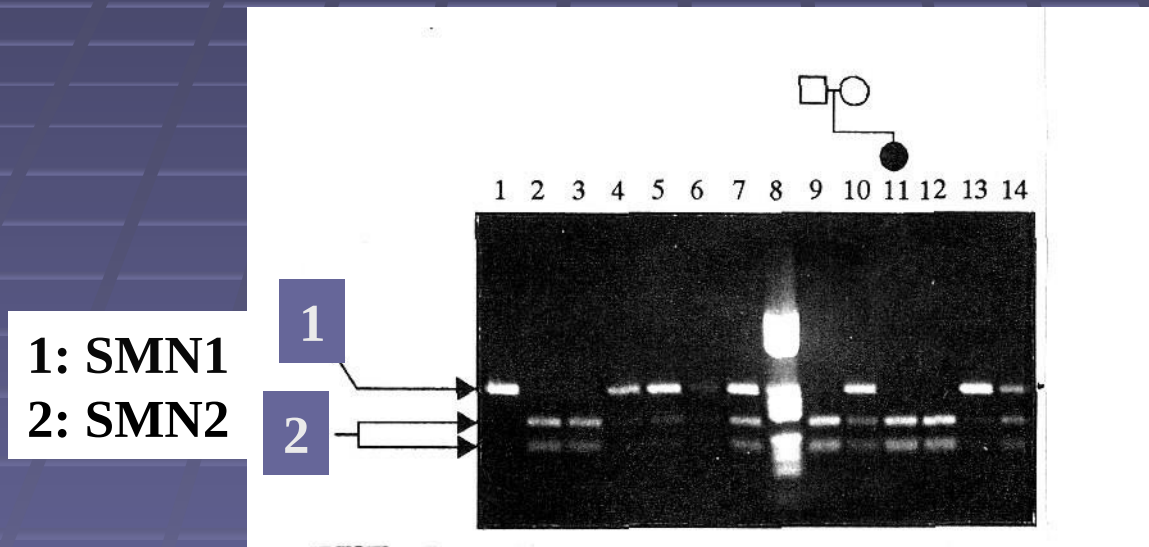
~20%

~80%

SMNΔ7

Los tres tipos de pacientes AME muestran la misma alteración genética:

DELECIÓN EN HOMOCIGOSIS DEL GEN *SMN1*.



Otros factores genéticos condicionan la gravedad de la enfermedad

Moduladores de la enfermedad

© 1996 Oxford University Press

Human Molecular Genetics, 1996, Vol. 5, No. 2 257-263

Molecular analysis of the SMN and NAIP genes in Spanish spinal muscular atrophy (SMA) families and correlation between number of copies of ^cBCD541 and SMA phenotype

Eladio Velasco, Carmen Valero, Ana Valero, Felipe Moreno and Concepción Hernández-Chico*

Unidad de Genética Molecular, Hospital Ramón y Cajal, Ctra. de Colmenar, km 9.1, 28034 Madrid, Spain

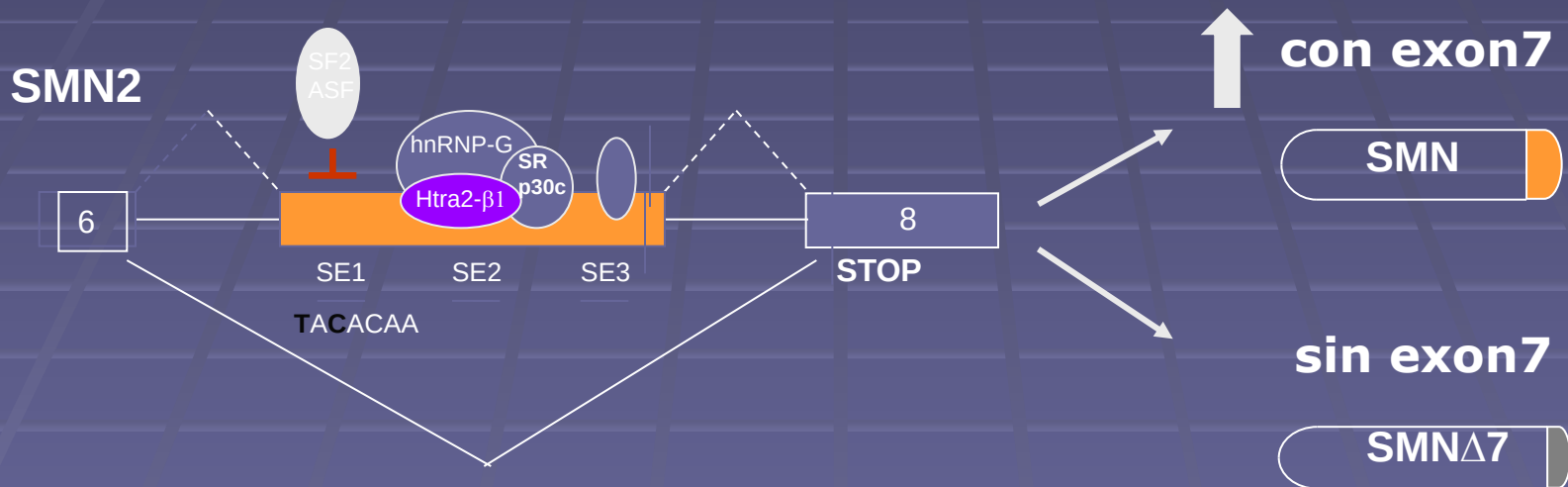
Existe una correlación inversa entre el numero de copias del gen *SMN2* y la gravedad de la enfermedad

- El número de copias de *SMN2* modula el fenotipo, aunque no existe una correlación total.
- Otros factores genéticos o epigenéticos participan en la gravedad de la enfermedad.

Tipo AME	Número casos	Nº de copias <i>SMN2</i>				
		1	2	3	4	5
I	82	2	76 (2cv)	4	-	-
II	59	-	1	58 (1 cv)		
III	38	-	2*	21 (1 cv)	11	1

Moduladores de la enfermedad

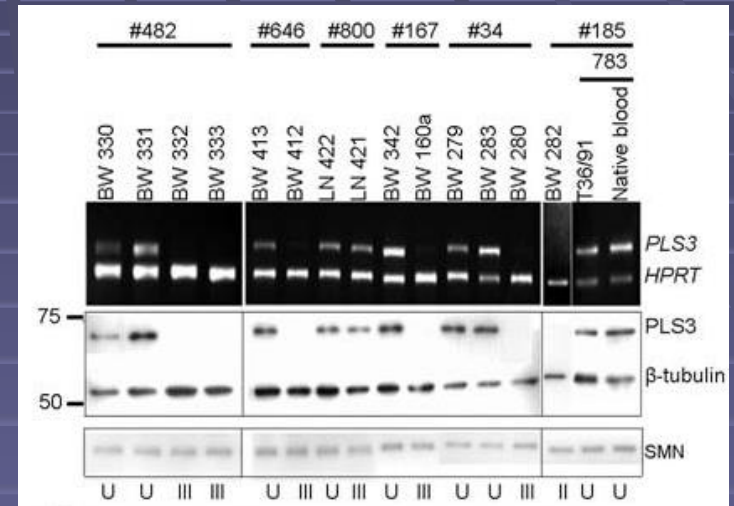
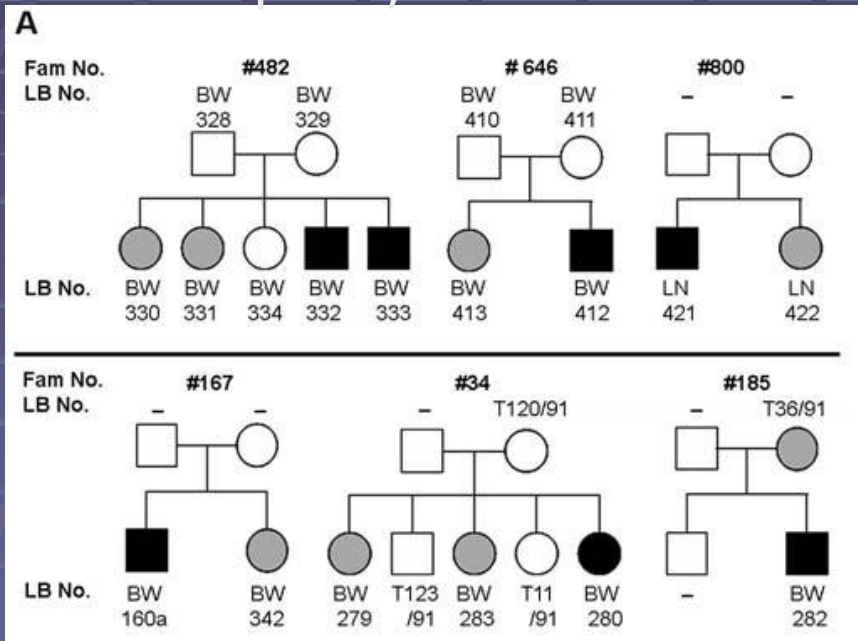
Un cambio en *SMN2* (c.859G>C) aumenta la proporción de tránsitos full-length (Prior et al, 2009) :



DISCORDANCIA FENOTIPICA INTRAFAMILIAR

Plastin3 (*PL53*, Xq23): Modificador positivo de AME

G. E. Oprea, Science 2008



Pacientes AME tipo I-III n=101: 16 casos (6 FM y 10 M) con expresión incrementada de *PL53*; solo 3 FM mostraban un fenotipo más leve que el correspondiente a su n° de copias de SMN2.

PLASTIN MODIFICADOR POSITIVO con BAJA PENETRANCIA

Conociendo la secuencia del gen y,
utilizando el código genético,
deducimos la composición de la proteína

PROTEÍNA SMN

- **Proteína 294 aa**

- Ubícua
- Citoplasma
- Núcleo: gems (Cuerpos de Cajal)

Funciones: metabolismo de RNAs

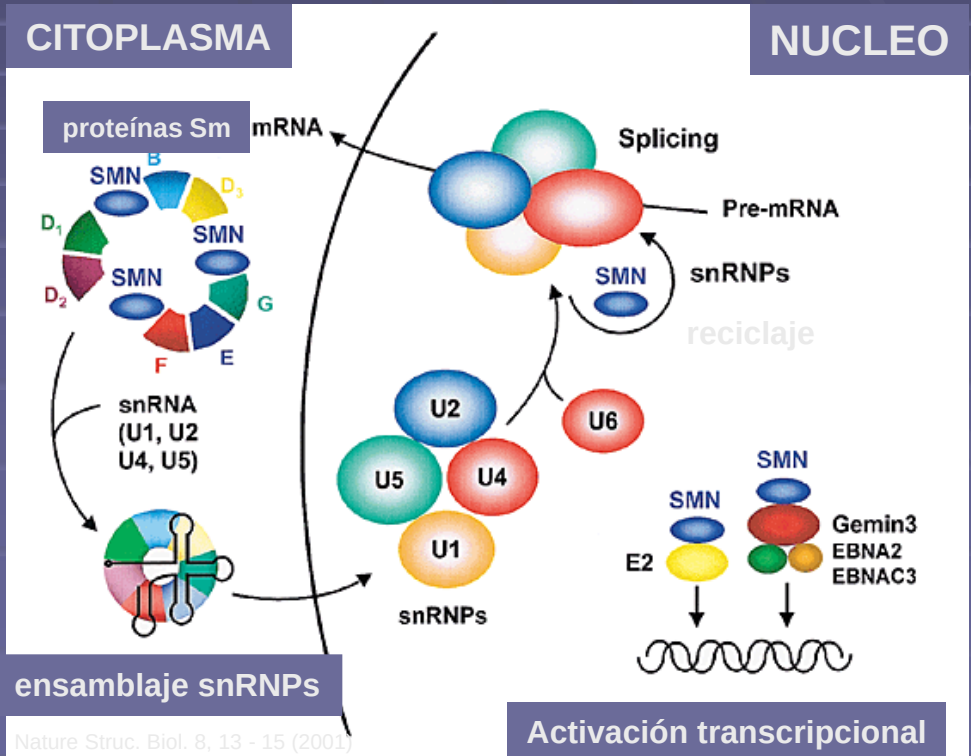
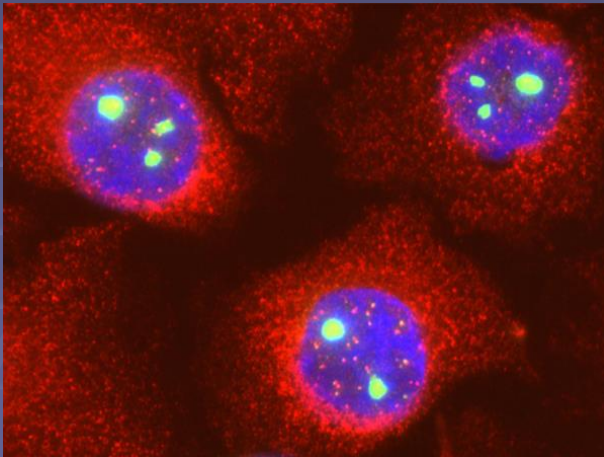
Biogénesis snRNPs → splicing mRNAs

Biogénesis snoRNPs → maduración rRNAs

Ensamblaje spliceosoma

Activación transcripción

Actividad antiapoptótica



Desarrollo de modelos animales
para conocer
la patogenia de la enfermedad

Modelos de ratón

- Los mamíferos inferiores (ratones) carecen de gen SMN2.
- La inactivación de SMN1 en homocigosis es letal.
- Creación del modelo de ratón AME:
En el genoma del ratón knock-out *Smn*^{-/-} se integraron varias copias del gen *SMN2* humano.

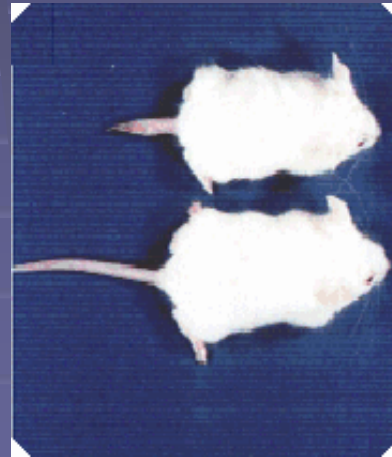
AME tipoI



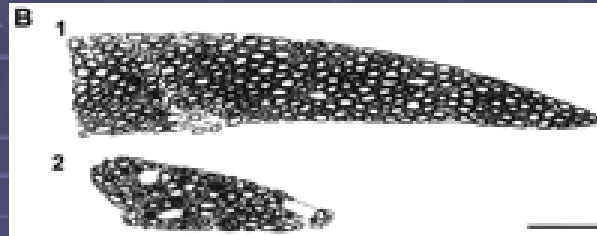
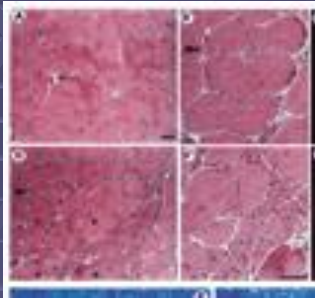
AME tipoII



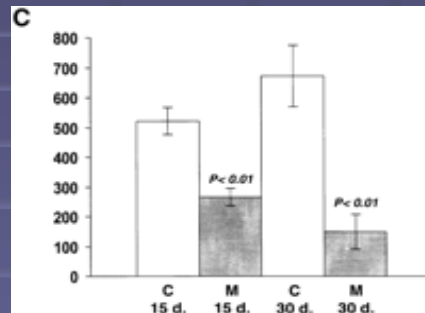
AME tipoIII



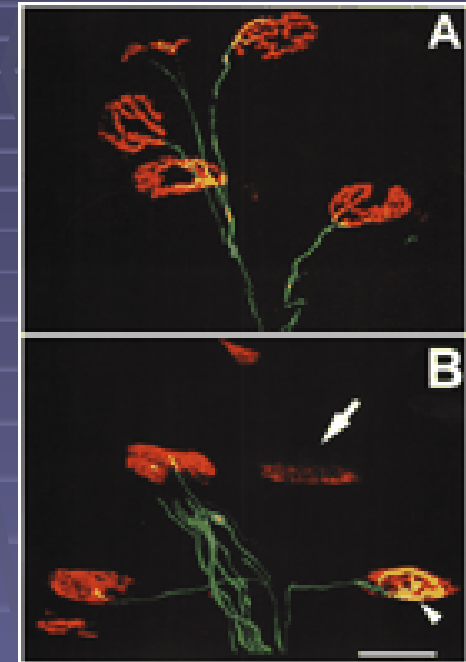
RATONES knock-out *Smn* EN TEJIDO NERVIOSO



Raíz motora L5. 1: normal, 2: mutante.



Número total de axones en L4 y L5



Axones de motoneuronas (verde) y AChR (rojo). Ratón 30 días.

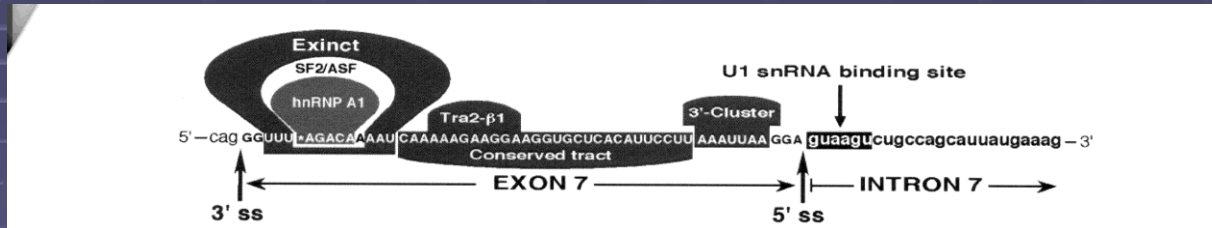
Denervación muscular de origen neurógeno
Ligera reducción de cuerpos celulares de las neuronas motoras.
Rápida y progresiva pérdida de axones en las raíces motoras.
Degeneración de las uniones neuromusculares.

Nuevas terapias:

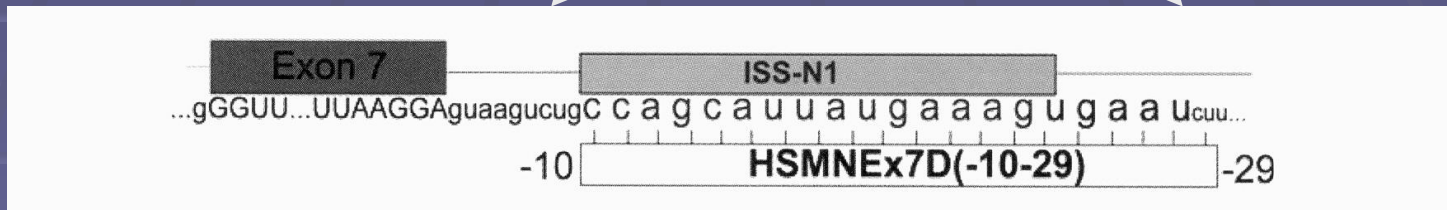
- Génicas
- Celulares
- Farmacológicas

TERAPIA CON OLIGONUCLEOTIDOS

OLIGOS “ANTISENSE” (ASOs): moléculas de ácidos nucleicos de corta longitud que modulan la actividad génica, modificando el procesamiento del pre-mRNA.



MO-ANTISENSE (18 mer): bloquea el silenciador intrónico:
incrementa la integración del exon 7 en el mRNA.



Administración del MO:
Vía de administración: intravenosa vs SNC (ICV).
Dosis: elevadas (50 µg/ g de peso)
Tiempo: P0 – P30 (1-2).

Efectos:

- Rápido efecto sobre el mRNA
- Aumento de la supervivencia.
- Aumento de la masa corporal y fuerza muscular
- Efectos adversos???