

RESUMEN SIMPOSIUM INTERNACIONAL SOBRE ENFERMEDADES  
NEUROMUSCULARES-FUNDACION ARECES, Madrid 28-29 Mayo 2009

Durante el pasado 28 y 29 de Mayo, se celebró en el salón de actos de la Fundación Areces de la calle Vitrubio en Madrid, el **Simposium Internacional sobre Enfermedades Neuromusculares** organizado por la propia Fundación Areces con la colaboración de la Fundación Isabel Gemio y la Fundación ASEM.

Asistieron al Simposium más de 300 personas entre las que se encontraban numerosos afectados, así como profesionales implicados en el estudio y tratamiento de estas enfermedades. El programa científico coordinado por la Dra. Illa del Hospital Sant Pau de Barcelona, la Dra. Carmen Navarra del Hospital do Meixoeiro de Vigo y el Dr. López de Munain del Hospital Donostia, contó con un elegido elenco de investigadores nacionales y extranjeros. El Simposium fue inaugurado por el Prof. Rodríguez Villanueva del Consejo Científico de la Fundación Areces y fue moderado por destacados investigadores como el Dr. Francesc Palau, Director del CIBER de Enfermedades Raras, el Dr. Joaquín Arenas del Fondo de Investigaciones Sanitarias y el Dr. Eduardo Gutierrez Rivas del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid.

En el Simposium se repasaron los conocimientos actuales de las enfermedades neuromusculares más frecuentes que afectan en conjunto a más de 50.000 españoles.

En relación a la **distrofia facioescapulohumeral (DFEH)**, el Profesor Juan Vílchez del Hospital La Fe de Valencia, repasó de los aspectos clínicos más destacables de esta entidad. Esta distrofia, transmitida con una herencia autosómico dominante y con una prevalencia de 1:20.000, es la tercera enfermedad neuromuscular más frecuente tras las distrofinopatías y la distrofia miotónica tipo 1. Desde el punto de vista clínico, la DFEH se caracteriza por un patrón de distribución de la debilidad bastante peculiar que afecta a la musculatura facial y los músculos fijadores de la escápula, con un grado de afectación variable de la musculatura de brazos, tronco y extremidades inferiores. El síntoma inicial más común es la dificultad para levantar los brazos por encima de la horizontal que aparece generalmente en la adolescencia o en adultos jóvenes. En ese momento, la exploración pone de manifiesto una *escapula alata* y una debilidad facial que generalmente ha pasado desapercibida para el paciente. La musculatura extrínseca ocular y la bulbar esta preservada. Los músculos respiratorios están debilitados en el 1% de los individuos afectos. La progresión de la enfermedad es muy variable con casos que permanecen ambulantes por encima de los 70 años y otros que pierden la capacidad de andar a los 20 años. Hay una pequeña proporción de casos que debutan de manera congénita o en etapas precoces de la infancia. Estos casos que generalmente son esporádicos, tienen una evolución severa y precisan precozmente de silla de ruedas antes de la adolescencia. Las manifestaciones extramusculares más comunes son la hipoacusia para los sonidos de alta frecuencia y las telangiectasias retinales generalmente subclínicas, que ocurren en el 75% y 60% de los casos respectivamente. En los casos más severos, las anomalías de la vascularización retiniana pueden provocar exudados y un desprendimiento (síndrome de Coats). La afectación cardíaca observada en aproximadamente el 5% de casos se limita a arritmias atriales que raramente precisan tratamiento. El retraso mental y la epilepsia se han reportado de manera anecdótica, pero recientemente se ha puesto de manifiesto la existencia de algunos trastornos cognitivos que cursan de manera subclínica. La mayoría de casos con DFEH son familiares, pero hasta un 10% de los casos son esporádicos. Dentro de una familia existe una gran variabilidad en la expresión clínica de los portadores de la mutación y en ocasiones parece observarse el fenómeno de anticipación genética. El diagnóstico clínico es relativamente simple en los casos más típicos con un patrón de

herencia congruente, y confirmado molecularmente, con lo que generalmente no es necesario realizar una biopsia muscular que además suele arrojar datos muy inespecíficos. El Profesor Nicola Levy del Hôpital des Enfants de la Timone de Marsella, expuso los últimos avances en el diagnóstico de esta enfermedad con la utilización de un procedimiento no radiactivo basado en el principio del *molecular combing* y que permite diferenciar las deleciones de otras regiones homólogas del cromosoma 4 y acortar el período de diagnóstico. El diagnóstico *standard* pone de manifiesto una deleción de la región D4Z4 en 4q35. Este procedimiento es altamente sensible (95%) y específico (95%). A pesar de la identificación del defecto genético subyacente, los efectos patológicos del mismo son en buena parte, desconocidos. No existe una explicación de cómo esta alteración en 4q35 da lugar a la clínica neuromuscular. No existen tratamientos eficaces pero si existen intervenciones no farmacológicas posibles para corregir las limitaciones mecánicas que la enfermedad produce.

En relación a la **distrofia miotónica (DM1 y DM2)**, otra de las enfermedades neuromusculares más frecuentes, el Dr. López de Munain del Hospital Donostia de San Sebastián, hizo un repaso general de los aspectos clínicos más destacados de esta compleja enfermedad, de sus variantes genéticas, de su epidemiología y de su experiencia con los trastornos cognitivos y con los cambios en el tamaño de expansión en relación al sexo del progenitor transmisor. Se repasaron algunos aspectos menos conocidos de la clínica de esta enfermedad como el dolor, la somnolencia, la fatiga o los trastornos cardíacos asociados. La distrofia miotónica es una entidad clínica con 2 variantes genéticas (DM1 y DM2) transmitida con herencia autonómica dominante y penetrancia muy variable. Es una enfermedad muy prevalente en todo el mundo, con algunos agregados locales y presenta una gran variabilidad en su edad de inicio así como en el repertorio de síntomas; *musculares* (debilidad y miotonía), *cognitivos*, *endocrinológicos*, *cardíacos* y *oftalmológicos*. El defecto molecular subyacente consiste en una expansión inestable de un triplete CTG en el extremo 3' de la región no codificante de el gen DMPK. La gravedad y precocidad de la aparición de los síntomas se correlaciona con el tamaño de la expansión; desde las 50-80 repeticiones de los casos con mínima afectación, a las más de 2000 copias de los casos congénitos muy afectados. Existe un crecimiento de esta amplificación de una generación a otra, dando base molecular al fenómeno de anticipación genética con una transmisión de los casos congénitos casi exclusivamente a través de las madres. Existen muchas evidencias que sugieren que la enfermedad se debe a la acumulación nuclear de RNAs de diversos genes retenidos por los tractos CUG derivados de la transcripción de la expansión del triplete CTG. Recientemente, varios trabajos han revisado la frecuencia y gravedad de los trastornos cardíacos presentes en la DM1, a veces potencialmente graves (riesgo de muerte súbita) en ausencia de un trastorno neuromuscular muy grave. Esto obliga a revisar los protocolos de seguimiento clínico actualmente vigentes. Otros trabajos han subrayado la presencia de otros problemas clínicos como la excesiva somnolencia diurna, la paresia intestinal, los riesgos anestésicos, la fatiga o el dolor presente tanto en DM1 como en DM2.

Sobre esta misma enfermedad, el Profesor Rubén Artero de la Universidad de Valencia, desgranó toda la línea de investigación sobre la enfermedad desarrollada por su grupo, sobre un modelo de enfermedad en *Drosophila Melanogaster*. Las expansiones de repeticiones CTG no codificantes interfieren con la actividad de unas proteínas humanas denominadas Muscleblind-like (MBNL), cuya falta de función contribuye significativamente a la distrofia miotónica tipo 1 (DM1). Para entender el mecanismo por el que estas expansiones resultan tóxicas, el Dr. Artero y su equipo han desarrollado un modelo en *Drosophila* por expresión de 60 y 480 repeticiones CUG en

el contexto de un RNA no traducible. Estas moscas reproducen aspectos de la patología, en particular acumulación nuclear de RNA CUG, degeneración muscular, desregulación del proceso de splicing alternativo y reducción de la función *muscleblind* (*mbl*) in vivo. La expresión dirigida de repeticiones CUG a los precursores del ojo de *Drosophila*, o a la estructura cerebral cuerpo de seta, es tóxica y conduce a ojos externamente rugosos y semiletalidad, respectivamente. Estos fenotipos se han empleado para identificar modificadores genéticos y químicos de la toxicidad a repeticiones CUG identificando varios procesos celulares potencialmente alterados por estos RNAs tóxicos (tales como la apoptosis, la interferencia por RNA, o la adhesión celular) así como compuestos químicos capaces de suprimir el fenotipo de semiletalidad (agentes antiinflamatorios no esteroideos o drogas que afectan al metabolismo del calcio y del sodio). Dentro de un proyecto coordinado auspiciado por la Fundación Genoma España, este grupo está actualmente trabajando en nuevos rastreos genéticos y químicos cuyos descubrimientos proporcionarán nuevas pistas sobre el mecanismo de patogénesis de la DM1 así como moléculas candidatas adicionales potencialmente terapéuticas contra esta enfermedad.

Sobre las **neuropatías periféricas hereditarias** que englobamos dentro de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, hubo 3 intervenciones. En la primera de ellas a cargo del Profesor Berciano del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander, se revisó la gran complejidad de este extenso conjunto de enfermedades con diferentes genes, patrones de herencia y fenotipo implicados. Básicamente, estas neuropatías se dividen en 2 grandes grupos: i/ síndromes en que la neuropatía es la manifestación única o principal de la enfermedad (enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) (también denominada como neuropatía hereditaria sensitivo-motora), y trastornos relacionados; y ii/ síndromes en los que la neuropatía es parte de un trastorno multisistémico (p. ej. las ataxias hereditarias o las porfirias). El Profesor Berciano se centró en su intervención en el primer grupo, que es la neuropatía hereditaria más frecuente con más de 28 casos por cada 100,000 habitantes en España. Desde un punto de vista clínico este grupo se clasifica de forma dual de acuerdo con los aspectos clínico-genéticos y los hallazgos neurofisiológicos. Hay formas autosómico dominantes desmielinizantes (CMT1), formas autosómico dominantes axonales (CMT2), formas autosómicas recesivas desmielinizantes (CMT4, que incluye la variedad descrita por Dejerine y Sottas), formas autosómico recesivas axonales (AR-CMT2), y formas ligadas al cromosoma X (CMT-X). Electrofisiológicamente, CMT1 se caracteriza por velocidades de conducción en el nervio mediano inferiores a 38 m/s, mientras que en la CMT2 es mayor de 38 m/s. Hay formas intermedias con VCM entre 25 y 45 m/s, que se denominan con el acrónimo CMT-ID tanto con herencia dominante como ligada al cromosoma X. Con el desarrollo de las técnicas de ligamiento se han encontrado más de 50 *loci* con casi 30 genes ya clonados asociados a diferentes fenotipos. El Profesor Berciano propuso un esquema simplificado de algoritmo diagnóstico basado en los datos de herencia y los datos neurofisiológicos, ponderando la probable implicación de los diferentes genes en función de los datos étnicos o la frecuencia relativa de cada uno de ellos. Estos genes codifican para proteínas implicadas en diferentes rutas metabólicas implicadas en i/ el desarrollo y mantenimiento de la estructura mielínica; ii/ biosíntesis proteica, liberación y degradación; iii/ endocitosis, dinámica de membranas y vesículas incluyendo las mitocondrias; y iv/ el papel crucial del citoesqueleto. Finalmente se comentaron los resultados negativos del recientemente concluido ensayo terapéutico con ácido ascórbico.

El Profesor Vincent Timmerman de la Antwerpen Universiteit de Bélgica revisó las bases moleculares de la CMT cuyo espectro mutacional se encuentra recogido en una página web (<http://www.molgen.ua.ac.be/CMTMutations/>). La identificación de los genes implicado es el primer paso para comprender la compleja interacción de proteínas

en los procesos biológicos de mielinización, interacción entre célula de Schwann y el axón, estructura del citoesqueleto o el transporte axonal. Un cierto número de genes (p. ej. *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*) se expresan en las células de Schwann, mientras que otros se expresan en la neurona (p. ej. *NEFL*). Algunos genes se expresan de manera ubiquitaria como los *HSPB1* y *HSPB8* asociados a una neuropatía distal axonal motora. Estas mutaciones causan agregación de proteínas, alteración de los neurofilamentos y finalmente, muerte celular. Mutaciones en los genes **Aminoacil-tRNA-sintetasas GARS and YARS** (enzimas esenciales de la biosíntesis de las proteínas celulares), se ha asociado con distintos tipos de neuropatías CMT.

El Profesor Lupski del Baylor College de Houston, focalizó su intervención en los fundamentos moleculares de la terapia ensayada con **curcumina**. Su grupo demostró recientemente que la administración oral de curcumina disminuye de manera significativa la apoptosis de las células de Schwann y mitiga el fenotipo de un modelo animal de neuropatía (*Trembler-J* ( $Tr^J$ )) de una manera dosis-dependiente. Para identificar las rutas implicadas en este efecto terapéutico en el modelo  $Tr^J$ , el grupo del Profesor Lupski realizó un estudio comparativo de los perfiles de expresión génica en el nervio ciático de ratones  $Tr^J$  tratados y no tratados con curcumina. La administración de curcumina se asociaba con la expresión de muchas proteínas tipo *heat-shock* que reducen el stress del retículo endoplásmico rugoso, abriendo nuevas vías de estudio para ulteriores desarrollos terapéuticos.

El Dr. Toni Andreu del IDIBELL (Barcelona), revisó en su intervención los resultados obtenidos por el consorcio español de estudio de la glucogenosis tipo V o **enfermedad de McArdle**. Casi el 35% de todas las mutaciones identificadas en el gen que codifica para la miofosforilasa muscular (*PYGM*) inducen un codón-stop prematuro (PTC), siendo la mutación p.R50X, la encontrada en más del 50% de los alelos mutados en poblaciones de origen caucásico. Este tipo de mutaciones pueden poner en marcha la degradación del mRNA a través del mecanismo de *nonsense mediated decay* (NMD). Para investigar si este mecanismo afecta los niveles de transcritos que contienen las mutaciones en *PYGM*, el grupo español ha estudiado a 28 pacientes con enfermedad de McArdle portadores de 17 mutaciones diferentes con PTC en el 77% de sus alelos, encontrando que el 92% de los pacientes presentaban NMD. La mutación en p.R50X presentaba este descenso en todos los fenotipos. Otras mutaciones que producían codón-stop y NMD eran: p.L5VfsX22, p.Q73HfsX7, p.E125X, p.N134KfsX161, p.W388SfsX34, p.R491AfsX7 y p.D534VfsX5. Las mutaciones tipo *missense* y la mutación p.E797VfsX19, localizada en el último exón, no estaban afectadas por este mecanismo. Algunas mutaciones como p.A704V y p.K754NfsX49 son excepciones a este mecanismo. El alto índice de mutaciones que tienen este mecanismo fisiopatológico sugiere que este es el mecanismo fundamental en la enfermedad de McArdle, lo que abre una vía terapéutica con compuestos capaces de interferir en este mecanismo.

El Dr. Julio Martín del Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI) expuso las posibilidades actuales del **diagnóstico preimplantacional** aplicado a las enfermedades neuromusculares. La evolución permanente de las técnicas de reproducción asistida y biología molecular ha permitido incorporar como parte fundamental de las mismas el estudio genético de embriones de parejas con riesgo de transmitir alteraciones genéticas a su descendencia. Estos estudios se conocen genéricamente como diagnóstico genético preimplantacional (DGP). El DGP se realiza a partir de una célula biopsiada del embrión en su tercer día de desarrollo *in vitro*.

Los embriones libres de la anomalía genética bajo estudio son los candidatos a ser transferidos al útero materno. Esta técnica que sólo es aplicable a aquellos casos de distrofias donde se conoce el defecto molecular subyacente en los progenitores, tiene

una eficiencia decreciente a partir de los 38-40 años de edad maternal. Dada la prevalencia estimada de las enfermedades neuromusculares hereditarias (1/3500), en el programa de DGP las enfermedades neuromusculares hereditarias representan un grupo de indicaciones mayoritario, incluyendo enfermedades monogénicas *comunes* como la distrofia miotónica 1, atrofia muscular espinal, distrofia muscular de Duchenne/Becker, Charcot-Marie-Tooth tipo 1A, entre otras. Independientemente de la elevada heterogeneidad genética desde punto de vista mutacional (mutaciones puntuales, expansión de tripletes, duplicación de regiones génicas, etc) el análisis genético de los blastómeros mayoritariamente se basa simultáneamente tanto en aproximaciones directas como indirectas. Hasta la fecha en el IVI se han estudiado 97 parejas con riesgo para enfermedad neuromuscular hereditaria y realizado tratamiento de reproducción asistida con aplicación de DGP. En total se ha realizado extracción de sangre a 389 individuos. Tras la extracción del ADN genómico se realizaron los análisis de confirmación de mutaciones y de haplotipo para los distintos marcadores polimórficos según los genes de interés (DMPK: D19S219, D19S112; SMN1: D5S629, D5S679, C212, C272; CMT1a: AFM191, MFD41, RM11, 4A, 9A, 9B; FSHD: D4S2930, D4S1523, D4S2299, etc.). De las 97 parejas estudiadas, 38 presentaban riesgo de transmitir DM1, 21 para AME, 10 para DMD/B, 7 para CMT1a, 3 para ataxias hereditarias (SCA1 y SCA3), 5 para distrofia facioescapulohumeral (DFEH) y 13 para otras enfermedades neuromusculares. En total, para enfermedades neuromusculares, se han realizado 156 diagnósticos embrionarios (63 correspondientes a DM1, 35 para AME, 19 con indicación de DMD/B, 10 por riesgo de CMT1A, 8 para SCAs, 6 por DFEH, y 15 ciclos DGP para otras enfermedades neuromusculares). Se realizó transferencia en 145 ciclos (86%) obteniéndose 48 gestaciones (33% por transferencia; 30% por ciclo iniciado). Hasta Mayo de 2009 han nacido 32 niños/as libres de la enfermedad, con otras gestaciones en curso aún. En conclusión, el DGP de enfermedades neuromusculares hereditarias en España tiene una demanda elevada y su aplicación permite prevenir las distintas enfermedades en parejas con alto riesgo que no quieren optar por un diagnóstico prenatal.

En el Simposium hubo 2 intervenciones relacionadas con la **esclerosis lateral amiotrófica (ELA)**. En la primera de ellas, el Dr. Jesús Mora del Hospital Carlos III de Madrid, actualizó el conocimiento científico sobre la ELA con expresión de los genes implicados en las formas familiares y las hipótesis sobre diferentes tóxicos implicados en su desarrollo, así como a diferentes ensayos terapéuticos. Los avances en el conocimiento de la patogenia de la ELA se están acumulando de manera exponencial, con la localización del gen mutado en algunos casos familiares que afecta a la enzima antioxidante sulfato dismutasa 1 y el subsecuente desarrollo de animales transgénicos. Casi simultáneamente se observaron alteraciones excitotóxicas por captación defectuosa del glutamato y el efecto moderadamente beneficioso del riluzol, en uno de los primeros ensayos clínicos que siguieron a la definición clínica y diagnóstica de la enfermedad en la reunión de El Escorial. En lo que va de siglo XXI, se van conociendo la acción de la neuroinflamación por la microglía en el mantenimiento y desarrollo del proceso inicial, el papel significativo de los astrocitos en la inicio del daño de motoneurona, la presencia de agregados citosólicos de proteína mutada o mal plegada y sus consecuencias tóxicas, la afectación mitocondrial y del transporte axoplásmico y la cascada de eventos que llevan a la muerte neuronal. La proteína TDP-43 alterada ha sido identificada como principal componente de los agregados proteicos en la ELA esporádica, y su papel metabólico en la transcripción del ARN y tóxico en la enfermedad está en estudio. Nuevos genes mutados están siendo identificados en casos familiares, cuyos efectos metabólicos son objeto de investigación, y estudios amplios del genoma buscan polimorfismos en nucleótidos. Se investigan marcadores de

enfermedad y también hipótesis causales exógenas. Mientras que no se ha demostrado aún eficacia terapéutica de nuevos fármacos, hay muchas moléculas potencialmente beneficiosas en estudio mientras que la terapia paliativa ha mejorado las condiciones de vida de los pacientes.

El Dr. Isidre Ferrer del IDIBELL de Barcelona, hizo una exposición en la que estableció un posible nexo de unión entre esta entidad y otros cuadros de degeneración lobar frontotemporal que tienen en común el depósito intraneuronal de una proteína denominada TDP-43 en ambos casos. TAR-DNA binding-protein 43 (TDP-43) es una proteína de 414 aminoácidos codificada por el gen *TARDBP* en el cromosoma 1. Contiene 2 motivos de reconocimiento de RNA y una secuencia rica en glicinas en el extremo C terminal, necesaria para la actividad inhibitoria del exon-skipping y el splicing. El extremo C-terminal se une con varias ribonucleoproteínas involucradas en la biogénesis del mRNA. Aunque la función biológica de TDP-43 no se conoce del todo, se sabe que tiene un papel en el exon skipping, la regulación de la transcripción y otros procesos biológicos a través de su capacidad de unión al DNA, al RNA y a las proteínas. Estudios recientes han identificado a TDP-43 como unos de los componentes proteicos de los agregados insolubles en neuronas y células gliales presentes en la mayoría de pacientes con degeneración lobar frontotemporal con inclusiones ubiquitinadas (FTLD-U) sin y con enfermedad de motoneurona asociada, así como en casos tanto familiares como esporádicos, de esclerosis lateral amiotrófica (salvo los secundarios a mutaciones en SOD-1). Dentro del heterogéneo grupo de FTLD-U, hasta el 40% de los casos muestra un patrón de herencia autosómico dominante y mutaciones en el gen de la progranulina o en el de VCP (*valosin-containing protein*). Se han descrito también anomalías en la expresión de TDP-43 en la enfermedad de Alzheimer, la degeneración corticobasal gangliónica, la enfermedad de Pick y las sinucleinopatías, entre otros. En el músculo, una forma aberrante de TDP-43 se encuentra en asociación con los agregados proteicos característicos de las miositis de cuerpos de inclusión y las miopatías miofibrilares. En todas estas situaciones, TDP-43 es anormalmente fosforilado y asociado con la presencia de formas truncadas. Estos hallazgos junto con la relocalización de la proteína anormal en el citoplasma, sugiere que existe una pérdida de la transcripción de TDP-43 en las células afectadas. Dado que TDP-43 esta vinculada al complejo microprocesador Drosha/DGR8 que modula el procesamiento de los microRNAs, se postula que en todas estas enfermedades neurodegenerativas existe una regulación anómala del procesamiento de microRNAs.

Las proteínas estructurales implicadas en la **distrofia de Duchenne** y en otras distrofias como las **distrofias distales** fueron revisadas por la Dra. Carmen Navarro del Hospital do Meixoeiro de Vigo y el Profesor Bjarne Udd del Hospital Central de Jyväskylä, en Finlandia. La Dra. Navarro repasó las interacciones entre la distrofina y otras proteínas del complejo sarcoglicano sarcolema implicadas en diferentes tipos de distrofias de cinturas. La identificación del gen de la distrofina en 1987 por métodos de clonación posicional o genética inversa, y de la proteína codificada, la distrofina, abrió un nuevo camino en la investigación de la patología neuromuscular. Ello dió lugar a la descripción de nuevas enfermedades y a una gran precisión diagnóstica posibilitando la identificación de portadores y el establecimiento de un consejo genético adecuado en las familias afectadas. La distrofina, proteína deficitaria en la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y de Becker (DMB), es un componente del citoesqueleto que une el entramado de actina intracelular al sarcolema. Por otra parte, la distrofina se asocia a diversas glicoproteínas para formar el denominado “complejo de proteínas asociado a la distrofina” que actúa como una unión física entre la actina citoesquelética y la matriz extracelular, asegurando la integridad del sarcolema durante la contracción y la relajación de la fibra muscular. Varios integrantes del “complejo de proteínas asociados

a la distrofina”, cuatro proteínas transmembrana, denominadas alfa, beta, gamma y delta sarcoglicanos (SG), están relacionadas con las formas de distrofia muscular denominadas LGMD (del inglés Limb Girdle Muscular Dystrophy) 2D, 2E, 2C y 2F respectivamente. Esta denominación se consensuó en 1995 por K. Bushby y J. Beckman, en un intento de clasificar las distrofias musculares según el tipo de herencia y la proteína deficitaria.

Las distrofias musculares relacionadas con el déficit de sarcoglicanos son clínicamente variables en relación a la edad de comienzo y gravedad del cuadro clínico. La alfa-sarcoglicanopatía es la más leve, probablemente por la relación más laxa del alfa-SG con los demás SG, mientras que las beta y gamma sarcoglicanopatías presentan un fenotipo clínico similar a la DMD.

El conocimiento de las proteínas del músculo esquelético y de sus genes codificantes ha hecho posible el estudio de un elevado número de distrofias musculares por inmunohistoquímica, inmunolectroforesis y genética molecular, lo que permite un diagnóstico etiológico de exactitud y la oferta de un adecuado consejo genético, imprescindible en este tipo de enfermedades.

El Profesor Udd repasó las distrofias distales con diferentes tipos de herencia, algunas con un componente patológico miofibrilar. De todas ellas, se detuvo principalmente en las secundarias a mutaciones en titina y las más recientemente descubiertas secundarias a déficit en Miosina 7 (MYH7) de las que existe un importante agregado de casos en la región valenciana. La mayoría de las miopatías distales son de carácter distrófico y de origen genético con casi 20 entidades diferentes individualizadas en la actualidad frente a las 5 individualizadas en 1980. La mitad de los genes causativos de las distrofias distales causan sólo debilidad distal, mientras que la otra mitad asocian manifestaciones clínicas diferentes como debilidad proximal, con afectación escapulohumeral. Es llamativo que la mayoría de genes implicados codifican para proteínas del sarcolema. La razón por la que estos genes afectan preferentemente a la musculatura distal no se conoce. Muchas, pero no todas, se asocian a vacuolas ribeteadas o cambios miofibrilares o ambos. Existen datos recientes que implican estas proteínas en formas de artrogriposis distal secundarias a defectos en algunas isoformas de estos genes.

La Profesora Isabel Illa del Hospital de Sant Pau de Barcelona, expuso los resultados iniciales de los alotrasplantes de médula ósea en una rara enfermedad denominada por el acrónimo **MNGIE** (*Mitochondrial NeuroGastrointestinal Encephalomyopathy*) es una enfermedad multisistémica transmitida con herencia autonómica recesiva. Clínicamente los pacientes tienen un trastorno de la motilidad gastrointestinal, con caquexia, oftalmoplejía externa progresiva, ptosis, polineuropatía y miopatía. La enfermedad se debe a mutaciones en el gen *TYMP* que da lugar a una deficiencia de la enzima timidita fosforilasa (TP), lo que altera el metabolismo de los nucleósidos e incrementa los niveles séricos de timidina y deoxiuridina. Hay varios estudios que concluyen que este exceso de nucleósidos altera los procesos de replicación mitocondrial causando una disfunción secundaria de la cadena respiratoria. Esta enfermedad es progresiva y fatal sin una terapia específica. Recientemente, el trasplante de células hemopoyéticas heterólogo se ha descrito como una aproximación terapéutica prometedora en el MNGIE ya que las células del donante pueden sintetizar TP que cataboliza el exceso de nucleósidos. En base a estos datos preliminares, se reunió en Noviembre de 2008 en Berna (Suiza) un panel mundial de expertos para establecer las condiciones de aplicación de esta terapia, basándose en la minuciosa discusión de los casos presentados. La Profesora Illa presentó los resultados de los 9 pacientes transplantados hasta la fecha en Barcelona. Como conclusión provisional se

puede decir que esta terapia es prometedora y permite una estabilización de los síntomas y signos clínicos pero la morbimortalidad peri y postransplante es todavía muy alta.

El Profesor Jacques Puymirat del Centre Hôpitalière Universitaire de la Universidad Laval de Quebec, desgranó las posibilidades terapéuticas en la DM1. En la DM1 hay un complejo mecanismo fisiopatológico que afecta al *splicing* de los RNAs secundario a la ganancia de función secundaria a la expansión patológica de los tripletes. Estas expansiones CUG se acumulan en el núcleo formando inclusiones que alteran el procesamiento normal de los RNAs. Sobre esta base se han desarrollado algunas estrategias terapéuticas basadas en el uso de oligonucleótidos antisentido que inducen *exon-skipping*. La limitación mayor de esta aproximación es que sólo se dirige al mRNA del gen CIC-1 sin alterar el procesamiento de otros transcritos. Otra posibilidad es restaurar los niveles de las proteínas cuyos RNAs se encuentran acumulados en el núcleo. Una limitación de esta vía es que son pocas las proteínas en las que se ha demostrado este secuestro nuclear y ninguna de ellas está relacionada con la debilidad y la atrofia muscular. Otra estrategia alternativa es tratar de reducir la toxicidad del RNA en la DM1 mediante la eliminación o la neutralización de los RNAs mutantes. El grupo del Dr. Puymirat ha demostrado *in vitro e in vivo* que la liberación de un vector viral que lleva un oligonucleótido antisentido capaz de disminuir el nivel de los transcritos mutantes mejorando la patología muscular distrófica. Sin embargo, esta terapia basada en el uso de un adenovirus asociado no puede por el momento ser usada mediante inyecciones sistémicas en humanos. Alternativamente, usando los oligonucleótidos antisentido, este grupo ha sido capaz de disminuir hasta el 80% de los niveles del transcrito mutante *in vitro e in vivo* en un modelo murino de DM1 abriendo una nueva vía terapéutica en esta enfermedad.

El Dr. Luis García del Institut de Myologie de Paris, revisó los últimos resultados de la terapia en la distrofia de Duchenne mediante *exon-skipping* en la que se han producido mejoras técnicas en la configuración de U7 que aumentan la eficiencia del proceso. El *exon-skipping* se realiza durante el proceso de *splicing* y puede ser inducida por los oligonucleótidos antisentido (modificados para resistir RNAsas) complementarios a las secuencias diana. Es posible combinar esta terapia sobre el *splicing* con la terapia génica tradicional para obtener con una única inyección una síntesis endógena y duradera de los oligonucleótidos antisentido, de forma que el sujeto no necesite tratamientos adicionales. La aplicación práctica de la terapia génica a la DMD requiere un tratamiento sistémico de toda la musculatura esquelética y cardíaca. Como estos métodos no están exentos de riesgo se requieren costosos, largos y complejos experimentos. En primer lugar, es necesario demostrar que hay capacidad de producir la cantidad de vector requerida y asegurar la seguridad de la vía de administración sistémica. En este momento el grupo del Dr. García está testando la viabilidad de las administraciones sistémicas de un vector AAV(U7) en el modelo canino de DMD (GRMD), para poder anticipar de manera racional la adaptación de estos protocolos a humanos. Estas estrategias no son universalmente aplicables, por lo que se avanza otra estrategia denominada *transplicing* de aplicación a todas las mutaciones y por la cual cualquier exón mutado puede ser reemplazado por otro con una función normal.