Síndrome de Rubinstein-Taybi: estudios en modelos animales

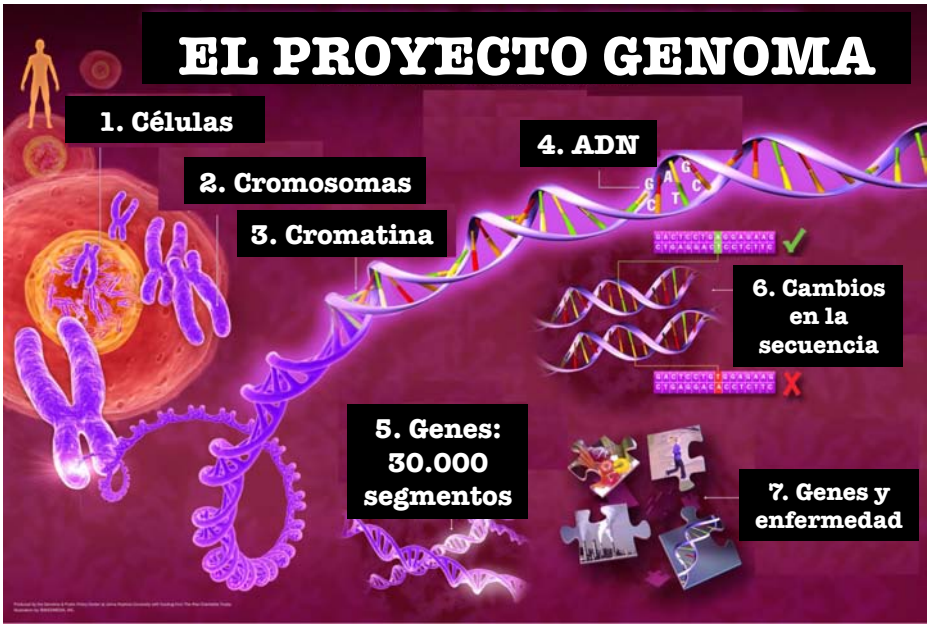
Angel Barco. Instituto de Neurociencias de Alicante (UMH-CSIC). Marzo 14. 2015

1. GENETICA y EPIGENETICA

El síndrome de Rubinstein-Taybi es un trastorno **genético** con un mecanismo **epigénetico**. En la primera sección de esta presentación introduciremos estos dos términos y explicaremos de forma muy simplificada la **etiología** del trastorno, es decir su causa en términos moleculares.

- **Genética**: área de la biología que busca comprender la herencia biológica que se transmite de generación en generación a través del ADN.
- **Epigenética** (del griego epi, sobre, y –genética): área de la biología que estudia las reacciones químicas y demás procesos que modifican la actividad del ADN pero sin alterar su secuencia.

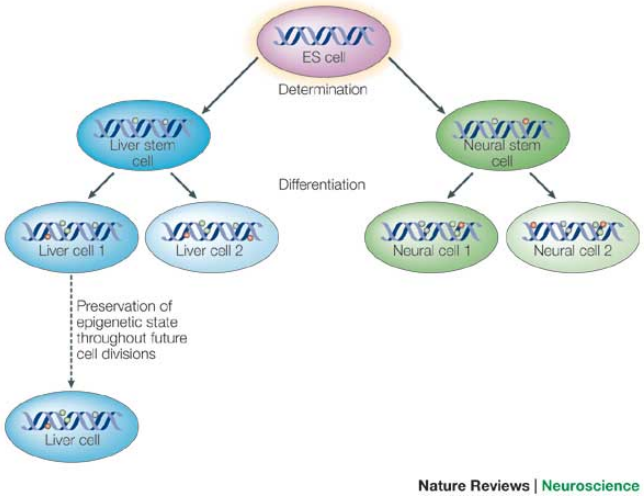
La conclusión del **PROYECTO GENOMA**, hace ahora unos 15 años, nos ha proporcionado un mejor entendimiento de las enfermedades o trastornos genéticos como el síndrome de Rubinstein-Taybi.



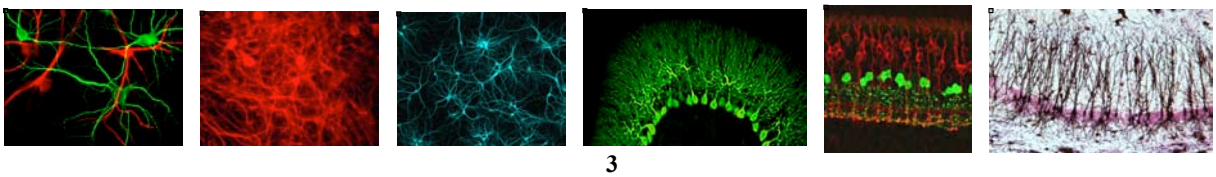
El **genoma** es el material físico que alberga la información genética de un organismo. Se encuentra en el interior de cada **célula** fragmentado en varios **cromosomas**, unas estructuras enormemente compactas compuestas de **cromatina**. La cromatina a su vez consta de **ADN,** la molécula portadora de la información, y de proteínas que permiten el plegamiento del ADN en un espacio reducido y que regulan la forma en que la información genética es expresada.

En el caso de los humanos, el genoma consta de unos **30,000 genes** o unidades funcionales. Para cada uno de estos genes tenemos dos copias, una heredada de nuestra madre y otra heredada de nuestro padre. Durante el proceso de replicación del genoma, a veces se producen **cambios en la secuencia** que pueden dar lugar a la perdida de la información genética o a cambios en la misma. Si el gen afectado tiene una función importante, el cambio en la secuencia puede originar una **enfermedad**.

Todos los tipos celulares que forman nuestro cuerpo, desde las células de la piel hasta nuestras neuronas, comparten un mismo genoma. Sin embargo, los distintos tipos celulares expresan el genoma de forma diferente, por eso realizan distintas funciones.



La **epigenetica** investiga como a partir de un solo genoma se consiguen los distintos tipos celulares



La comunidad científica está ahora embarcada en un proyecto aún más ambicioso que el Proyecto Genoma, el denominado **PROYECTO EPIGENOMA**, que esperamos nos permita entender como un solo genoma puede lugar a tipos celulares tan distintos como los encontrados en nuestros tejidos.

EL PAÍS

GENOMA HUMANO »

Un macroproyecto revela el mapa de los 'interruptores' del genoma

- El Proyecto Epigenoma Humano localiza las modificaciones del ADN que explican el desarrollo de la persona y sus grandes enfermedades
- Mapeada una "nueva dimensión" del genoma humano

JAVIER SAMPEDRO | 18 FEB 2015 - 13:42 CET

3.327 692 172 69 14

Archivado en: Epigenoma Genoma humano Epigenética Genoma Alzhéimer Genética Enfermedades degenerativas Biología Enfermedades Ciencias naturales Medicina Ciencia

El epigenoma humano es la síntesis del genoma y el entorno. / CORDON PRESS

La prensa resumió el proyecto refiriéndose a la identificación de los interruptores que permiten encender y apagar los genes. Sin embargo sería más correcto utilizar el símil de interruptores tipo '*dimmers*' en lugar de interruptores clásicos ya que los genes no están simplemente encendidos o apagados, existen más de dos estados génicos.

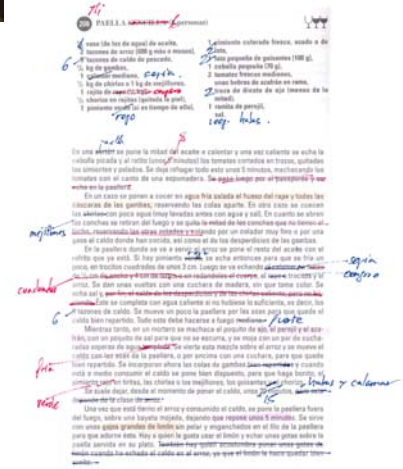
PAELLA SENCILLA (8 personas)

Aunque existe una receta general para hacer paella, cada cocinero la ejecuta de forma distinta, adaptándose a los ingredientes disponibles, siguiendo la tradición familiar y mejorando experiencias pasadas.

EPIGENOMA

GENOMA

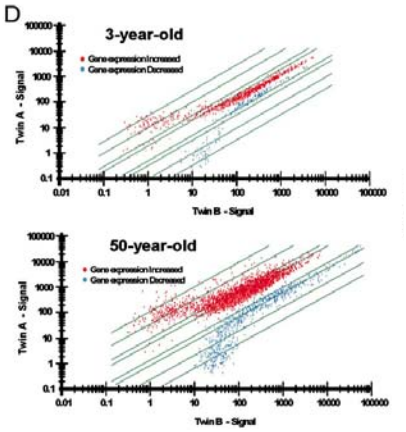
Para resumir, si el **genoma** es frecuentemente descrito como el manual de instrucciones o la **receta** para hacer un organismo, el **epigenoma** sería las **anotaciones** que se realizan sobre esa receta "general" de forma que cada célula lee la información de forma ligeramente distinta.



NEUROEPIGENETICA

La importancia de la epigenética no termina con el desarrollo.
Los neurocientíficos pensamos que el epigenoma de las neuronas puede cambiar en función de las experiencias vividas.

Estudios recientes demuestran que el epigenoma de los gemelos idénticos son inicialmente muy parecidos, pero van divergiendo según los gemelos crecen y sus vidas empiezan a diferir.



Fraga et al. (2005) PNAS

La neuroepigenetica es una de las áreas de las neurociencias de más intensa actividad en la actualidad.

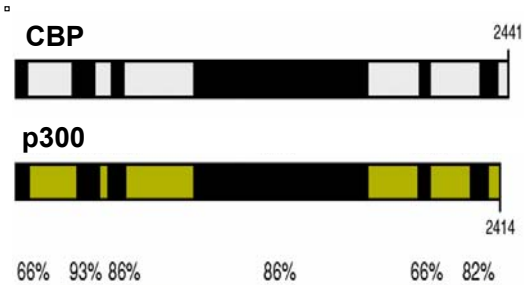
El síndrome de Rubinstein-Taybi

El síndrome de Rubinstein-Taybi (SRT), como la mayoría de las enfermedades o trastornos genéticos, se produce porque falta una proteína como resultado de una mutación en el gen que codifica esa proteína.

Hoy distinguimos al menos dos formas de SRT:

- SRT1: Causado por mutaciones en el gen *CREBBP* que codifica la proteína CBP (ahora también llamada KAT3a)
- SRT2: Causado por mutaciones en el gen *EP300* que codifica la proteína p300 (ahora también llamada KAT3b)

Ambos genes son muy similares y producen proteínas con función de acetiltransferasas de lisinas (también llamadas acetiltransferasas de histonas). Aunque aún no entendemos en su totalidad la función que juegan las acetiltransferasas de lisinas, sabemos que están relacionadas con los interruptores tipo '*dimmers*' mencionados anteriormente. Es decir, son reguladores epigenéticos que regulan la expresión del genoma. Por ello, la falta de CBP o p300 tiene un efecto particularmente dramático y afecta a muchos genes y con ellos a mucho procesos biológicos distintos.



Lopez-Atalaya al. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015

Muchos síndromes raros asociados a discapacidad intelectual están causados por mutaciones en genes que codifican reguladores epigenéticos

Síndrome	Locus	Locali-zación	Proteína afectada	Tipo de modificación de la cromatina
a-talasemia ligada al cromosoma X	ATRX	Xq13	XH2	Remodelado de la cromatina
Síndrome de Rett	RTT	Xq28	MeCp2	Metilación ADN
Síndrome de immunodeficiencia, inestabilidad centromérica y anormalidad facial	DNMT3b	20q11	Dnmt3b	Metilación ADN
Síndrome de Rubinstein-Taybi	CREBBP & EP300	16p13	CBP	Acetilación de histonas
Síndrome de Coffin-Lowry	RSK2	Xp22	Rsk-2	Fosforilación de histonas

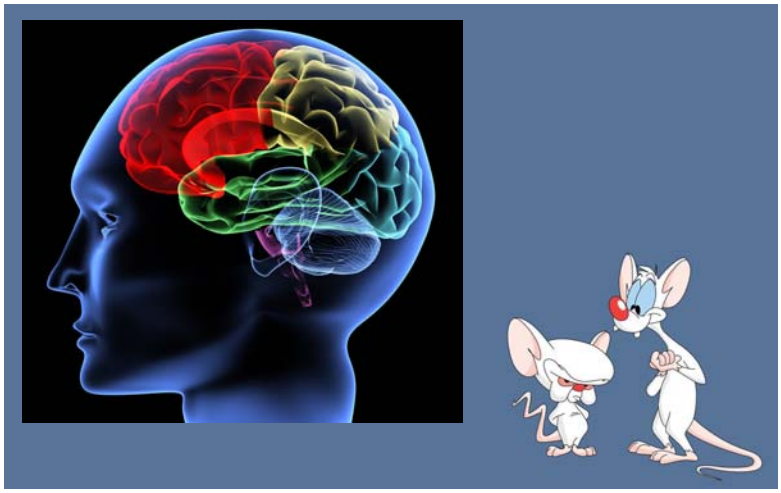
Esta tabla no es exhaustiva, sólo presenta unos pocos ejemplos de síndromes con una posible causa epigenética.

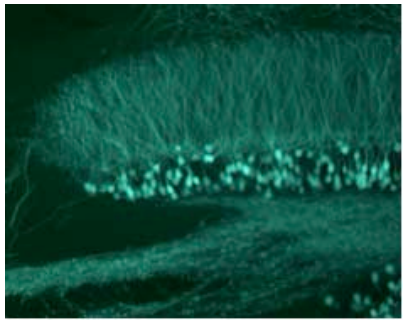
Kleesftra et al., Neuropharmacology 2014

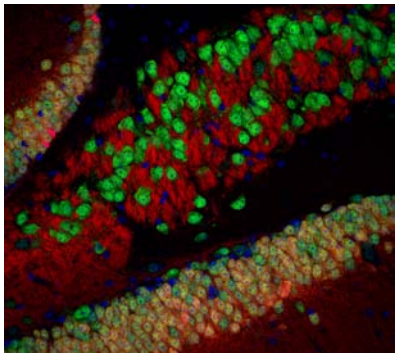
2. ESTUDIOS EN MODELOS ANIMALES

Los avances en biología y biomedicina en el último siglo han demostrado que nuestro genoma es muy similar al de otros organismos. Igualmente, nuestro cerebro es también muy similar al de otros animales

La convergencia de la investigación clínica y la investigación científica básica está proporcionando una comprensión sin precedentes acerca de los mecanismos normales de funcionamiento del cerebro y, por lo tanto, también de su disfunción. En particular, el uso de ratones modificados genéticamente para emular enfermedades neurológicas y neurodegenerativas ha abierto nuevos horizontes terapéuticos para el tratamiento de estas condiciones y clarificado su etiología molecular.

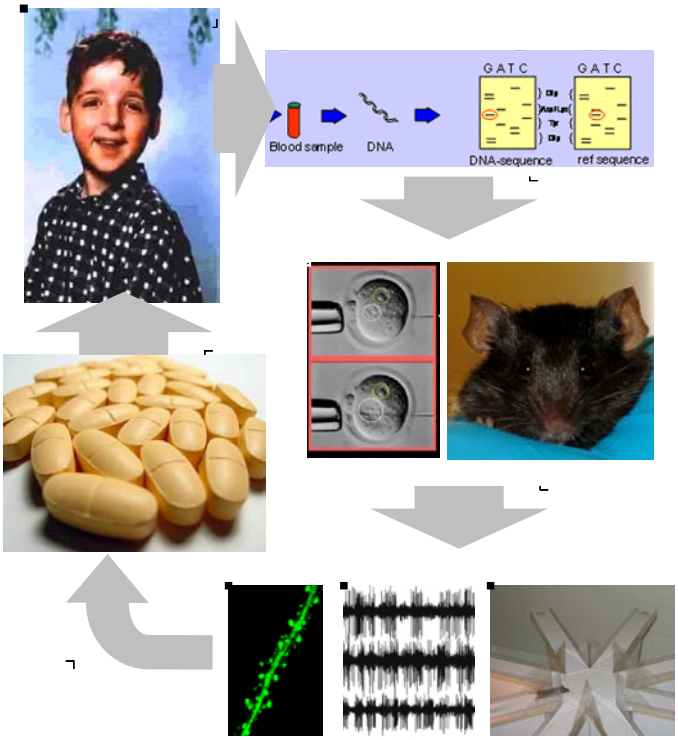






Hoy en día disponemos de técnicas para manipular el genoma de ratón, para marcar células o para marcar, cuantificar, aumentar o disminuir la cantidad de cualquier proteína que nos interese

Modelado de enfermedades neurológicas en ratón



Los avances en genética humana durante la pasada década han llevado a la identificación de los genes responsables de diversos síndromes de discapacidad mental. La introducción de las mismas mutaciones genéticas en ratón permite reproducir la enfermedad en este organismo, lo cual puede hacer posible la identificación de la causa original del trastorno y el ensayo de distintas formas de terapia. El objetivo último de estos estudios es cerrar el circulo y permitir atacar la enfermedad en humanos con el conocimiento adquirido en los modelos animales.

Son ya muy numerosos los ejemplos en los que el uso de ratones modificados genéticamente ha permitido emular enfermedades neurológicas y neurodegenerativas clarificado la etiología molecular de las mismas y abriendo nuevos horizontes terapéuticos.

¿Qué hemos aprendido de los modelos animales para SRT? (y que podemos aprender)

- Función biológica de las proteínas CBP y p300
- Etiología de la enfermedad
- Mejora del diagnostico
- Mejora de la terapia

- Función biológica de las proteínas CBP y p300

Los estudios llevados a cabo por grupos de investigación en todo el mundo han permitido llegar a las conclusiones resumidas anteriormente: CBP y p300 son reguladores epigenéticos que regulan la expresión de otros genes.

CBP / p300

EL PAÍS

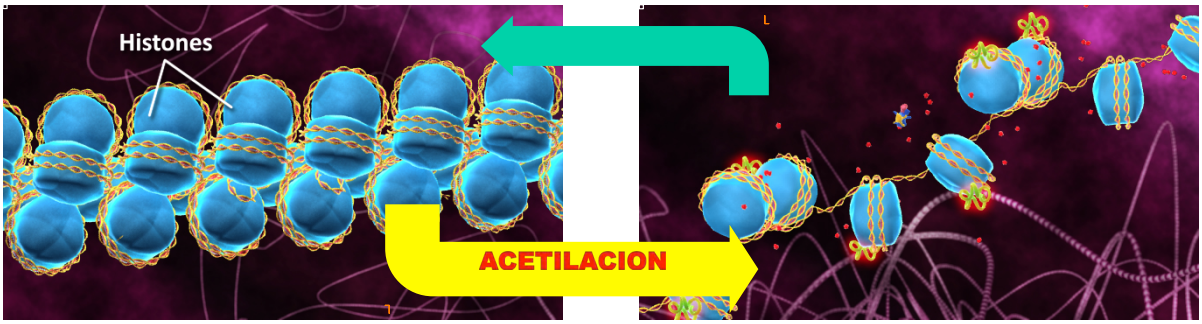
GENOMA HUMANO »

Un macroproyecto revela el mapa de los 'dimmers' del genoma

- El Proyecto Epigenoma Humano localiza las modificaciones del ADN que explican el desarrollo de la persona y sus grandes enfermedades
- Mapeada una "nueva dimensión" del genoma humano

En particular, regulan la acetilación de histonas, una modificación de la cromatina que relaja la compactación de la molécula de ADN permitiendo la expresión génica.

KATs: CBP & p300 **Acetilación de histonas** **HDACs**

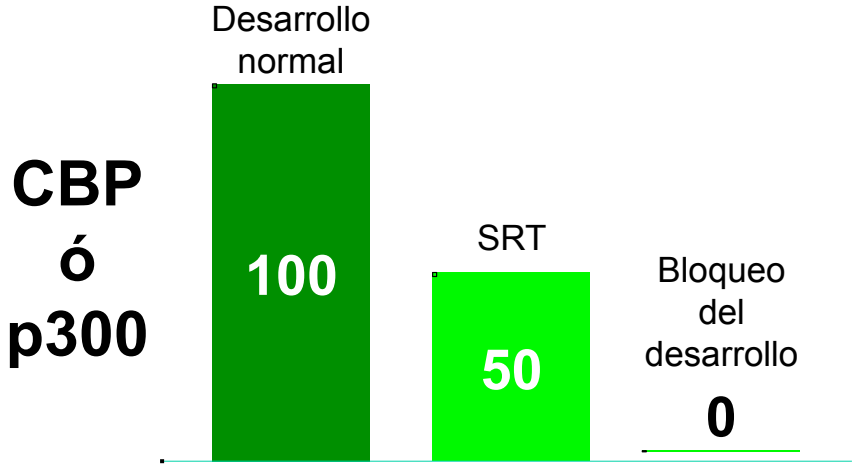


- # Etiología de la enfermedad

✧ La mayoría de las enfermedades genéticas se producen porque falta una proteína como resultado de una mutación.

✧ La importancia de CBP y p300 es tan grande que si faltan completamente se detiene el desarrollo del embrión.

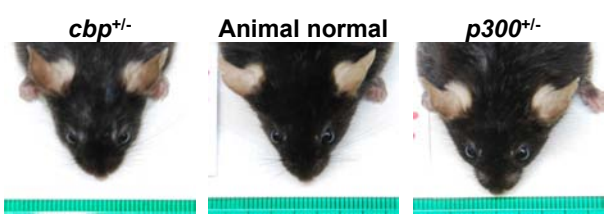
✧ En el SRT sólo hay la mitad de la cantidad normal. Esto hace que sea una enfermedad muy rara que aparece como resultado de mutaciones nuevas, no heredadas



- # Etiología de la enfermedad (algunos resultados de nuestro equipo)

La eliminación de la proteína CBP tiene efectos más graves en cognición que la eliminación de la proteína p300, lo cual es consistente con la severidad de los síntomas en pacientes con el SRT y mutaciones en los genes *CREBBP* o *EP300*

Cbp$^{+/-}$: La perdida de una copia del gen *Crebbp* en ratón causa anormalidades del esqueleto, retraso en el crecimiento, defectos motores y cognitivos, y otros endofenotipos asociados a SRT



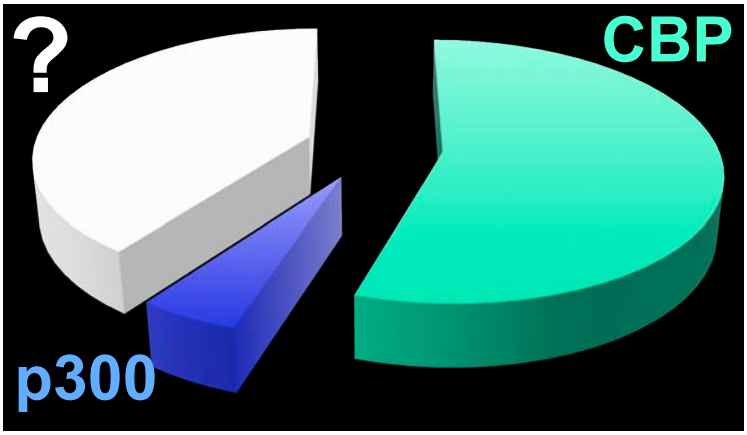
Alarcon et al. *Neuron* 2004; Viosca et al. *Neurobiol Dis* 2010

La eliminación de la proteína CBP a distintos tiempos del desarrollo del ratón indica que la proteína juega un papel más importante en el desarrollo que en el animal adulto

Valor et al. *J Neurosci* 2011; Lopez-Atalaya al. *EMBO J* 2011; y resultados aún sin publicar

- Mejora del diagnostico

Por ejemplo, los experimentos de cribado génico en modelos animales pueden permitir la identificación de nuevos genes relacionados con el SRT. Dado que un 40% de casos de SRT no son explicados por mutaciones en los genes *CREBBP* y *EP300* (o al menos por mutaciones en las regiones que codifican para proteínas), la identificación de nuevas dianas mejoraría el diagnostico.



- Mejora de la terapia - Fármacos

Se han descrito dos tipos de drogas que han sido efectivas para reducir defectos en algunas formas de memoria en modelos murinos del SRT:

- Tratamiento con activadores de la ruta de CREB

  Rolipran (inhibidor de la fosfodiesterasa 4) Bourtchouladze et al., PNAS 2003

- Tratamiento con inhibidores de HDAC (HDACi)

  Tricostatina A (TSA) Korzus et al. *Neuron* 2004

  Suberoylanilide Hydroxamic ácido (SAHA o vorinostat) Alarcon et al. *Neuron* 2004

Se está realizando un ensayo clínico en Francia basado en los estudios en modelos murinos con el HDACi valproato sódico. El ensayo aún está abierto, pero no ha proporcionado resultados claramente positivos.
Es posible que otros HDACi más específicos puedan producir resultados distintos.

RUBIVAL – Universidad de Burdeos, IP: Didier Lacombe

- Mejora de la terapia – Terapia ocupacional

  ➢ Enriquecimiento ambiental

Varios déficits observados en animales deficientes para CBP desaparecen o están reducidos en un ambiente enriquecido.

Lopez-Atalaya et al. EMBO *J* 2011

Desafortunadamente algunos beneficios asociados al enriquecimiento ambiental, como el aumento de la neurogenesis, no se observan en ratones modelos para el SRT

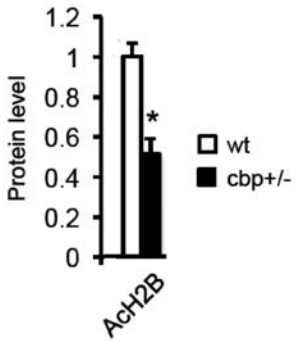
ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL:
140x60x20 cm
(~20 jaulas normales)

JAULA
NORMAL:
15x30x11 cm

3. Translación a pacientes

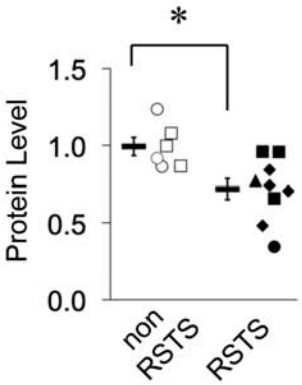
Nuestra investigación indica que las mismas alteraciones bioquímicas observadas en ratones también son observadas en pacientes con SRT

CEREBRO DE RATONES

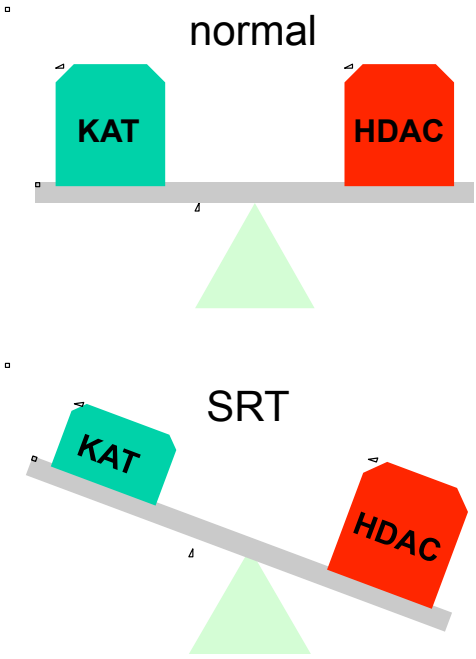


Valor et al. *J Neurosci* 2011

CÉLULAS DE PACIENTES

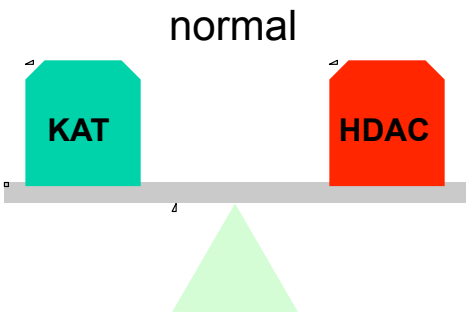


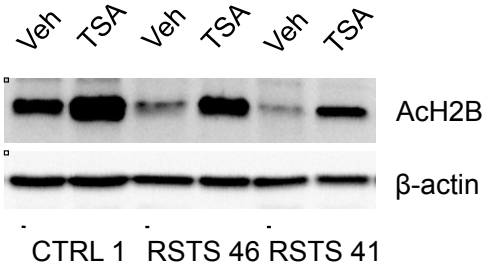
Lopez-Atalaya et al. *JMG* 2012



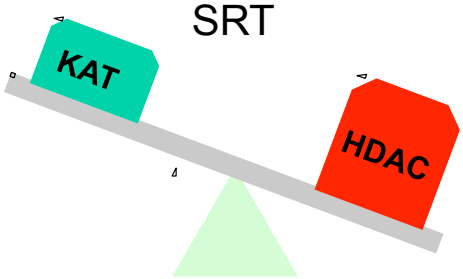
Colaboración con Dra. Lidia Larizza (Univ. Of Milan)

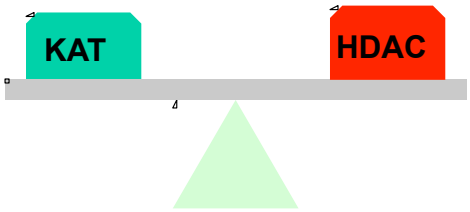
Los compuestos tipo HDACi revierten el defecto de acetilación observado en las líneas celulares de pacientes





Lopez-Atalaya et al. *J Med Genet* 2011





Colaboración con el grupo de la Dra. Larizza, Univ. de Milan

CSIC
UNIVERSITAS Miguel Hernández
INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

Lab. Angel Barco

Jose Lopez-Atalaya
Luis Miguel Valor
Michal Lipinski
Deisy Guiretti
Alejando Medrano
Marilyn Scandaglia
Beatriz del Blanco
Roman Olivares

Antiguos Miembros

Manuel Alcaraz
Matias Pulopulos
Alessandro Ciccareli
Jose Viosca

Colaboradores

Univ. Torino: Maurizio Giustteto
Univ Milan: Lidia Larizza
Univ Mainz: Beat Lutz

Financiación Actual

Plan Nacional de I+D+I
PROMETEO PROGRAM
BRAIN & BEHAVIOR RESEARCH FOUNDATION Awarding NARSAD Grants
EXCELENCIA SEVERO OCHOA
GENERALITAT VALENCIANA

Financiación Anterior

FUNDACIÓN RAMÓN ARECES