Líneas de investigación en enfermedades neuromusculares

Grupo

Adolfo LOPEZ DE MUNAIN

biodonostia

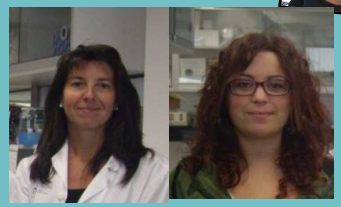
osasun ikerketa institutua
instituto de investigación sanitaria

Miembros del grupo (Octubre 2016)

- Adolfo López de Munain (IP y Director)
  - María Goicoechea (Investigadora postdoctoral)
  - Ana Aiastui (Responsable plataforma cultivos celulares)
  - Alba Mateos (Investigadora predoctoral)
  - Neia Naldaiz Gastesi (Investigadora predoctoral)

- Ainara Vallejo (IP)
  - Garazi Aldanondo (Investigadora predoctoral
  - Haizpea Lasa (Investigadora predoctoral)
  - Jaione Lasa (Investigadora predoctoral)

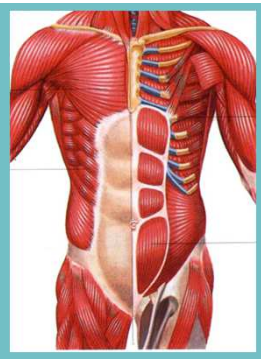
- Amets Sáenz (IP)
  - Leire Casas (Investigadora predoctoral)



- Patxi Gil Bea (IP)
  - Gorka Guereñu (Investigador post-doctoral)
  - Monica Zufiría (Investigadora predoctoral)

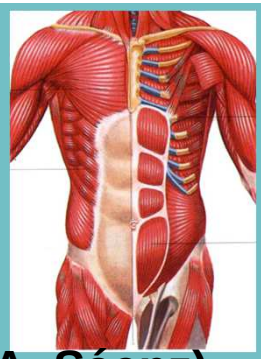
- Miren Zulaica (Lab manager)
- Karmele Arnaiz (Secretaria Administrativa)

Líneas de investigación del programa y objetivos científicos (I)



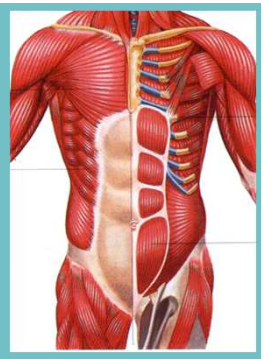
- **Distrofias musculares: Duchenne/Becker & LGMD2A (A. Vallejo)**
  - **OBJETIVOS**
    - Estudio de la homeostasis de calcio en distrofias musculares
    - Mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad
    - Desarrollo de modelos in vitro: miotubos de ratón y humanos, fibras aisladas, mioides
    - Desarrollo de modelos in vivo: (murinos y pez cebra)
    - Desarrollo de terapias farmacológicas, génicas y celulares
- **Estudio *in vivo* de la capacidad regenerativa de progenitores musculares derivados de iPSs de pacientes con LGMD2A (A. López de Munain)**
  - **OBJETIVOS**
    - Establecer un modelo celular específico derivado pacientes con LGMD2A para esclarecer la fisiopatología de la enfermedad.
    - Determinar el papel de la calpaína 3 en el proceso de regeneración muscular.
    - Disponer de un modelo específico de pacientes parar evaluar estrategias terapéuticas.
    - Hacer correlaciones genotipo-fenotipo.
    - Corrección genética de las mutaciones.

Líneas de investigación del programa y objetivos científicos (II)



- **Regulación de la expresión génica en distrofia de cinturas LGMD2A (A. Sáenz)**
  - **OBJETIVOS**
    - Establecer la relevancia de la regulación de diferentes kinasas y determinar así un mapa de alteraciones en las rutas de señalización en los pacientes LGMD2A.
    - Regular las diferentes vías de degradación proteica por medio de sobreexpresión de factores de transcripción.
    - Establecer la expresión de las proteínas implicadas en la autofagia en pacientes, con el fin de determinar su peso relativo en la fisiopatología de la fibra muscular.
- **Bases moleculares del riesgo oncológico y envejecimiento en la distrofia miotónica (A. López de Munain & Ander Matheu)**
  - **OBJETIVOS**
    - Estudio de la **prevalencia e incidencia de cáncer** y fenotipos asociados a un **envejecimiento prematuro** en la cohorte HUD de pacientes con DM1
    - Caracterización de la **firma genética y de miRNA** asociada con un envejecimiento prematuro e incremento de la susceptibilidad a cáncer en pacientes DM1
    - Identificación de **mutaciones genéticas en cánceres d**e pacientes con DM1
    - Estudio de los **mecanismos moleculares compartidos** del envejecimiento y del cáncer en un modelo pre-clínico (fibroblastos humanos)
    - Generación de un **modelo animal** (Zebrafish) de DM1 para evaluar una posible terapia

Líneas de investigación del programa y objetivos científicos (y III)



- **Estudio del sustrato metabólico en la esclerosis lateral amiotrófica (F. Gil)**
  - **OBJETIVOS**
    - Identificar rasgos moleculares y clínicos que apoyen la presencia de alteraciones metabólicas en la fisiopatología de la ELA.
    - Estudiar la contribución de mutaciones familiares en el desarrollo de alteraciones del metabolismo energético.
    - Testar el efecto de vías metabólicas potencialmente alteradas sobre el desarrollo patogénico y clínico de la ELA en modelos animales como método para validar dianas terapéuticas en potencia.

TÉCNICAS DISPONIBLES EN EL GRUPO

Cultivos celulares

- Cultivos primarios de fibroblastos y mioblastos.
- Reprogramación celular.
- Diferenciación miogénica de mioblastos e iPSs.
- Transdiferenciación por sobreexpresión de MyoD.
- Establecimiento de cultivos primarios de biopsias de piel y de masa tumoral
- Cultivo de Cancer Stem Cells
- Metabolismo celular (SeaHorse)
- Generación de lentivirus e infecciones lentivirales de líneas comerciales y cultivo primario

Biología molecular

- Citometría y sorting (Inbiomed).
- Western blot, qRT-PCR, southern blot.
- Exon skipping.
- Inmunoprecipitación.
- CRISPR/Cas9
- RT-qPCR, Western-Blot
- Inmunohistoquímica e inmunocitofluorescencia: proliferación (pH3, Ki67), apoptosis (cleaved-Caspasa-3, PARP, p-H2AX) p-p38, p-AKT, p16, p21, beta-catenina, N/E-cadherinas, genes SOX, autofagia, etc.

Histología

- Procesamiento de piel y músculo en parafina y congelado.
- Criostato y microtomo.
- Inmunofluorescencia
- Inmunohistoquímica.

Experimentación animal

- Manejo animales murinos
- Administración de sustancias en ratón.
- Disección de músculos en rata y ratón.

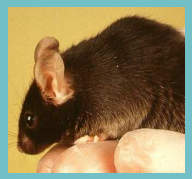
Biología celular

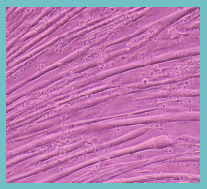
- Ensayos de viabilidad, proliferación celular, senescencia (SA b-Gal), diferenciación celular, migración, invasión (colágeno)
- Ensayos *in vivo*: tumor growth, tumor initiation (ratones nude), ensayos de esterotaxia (NOD-SCID)
- Extracción y cultivo de neuroesferas primarias (SVZ)

EQUIPAMIENTOS

- Equipo para registro de calcio intracelular
- C-Pace: estimulador crónico para placas de 6 pocillos
- Analizador de metabolismo celular: 96 wells
- Animalario: Treadmill, Open Field, Grip Strength
- Biología Molecular: PCR, qPCR, PCR digital, western blot, dot blot, colocalización – in situ PLA, CoIP…
- Typhoon Trio scanner
- Plataforma de cultivos celulares
- Infecciones virales (sobreexpresión y silenciamiento con shRNAs)

Modelos

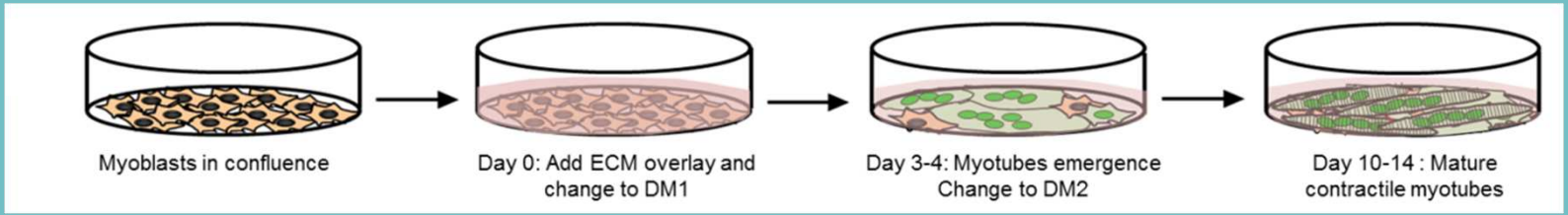




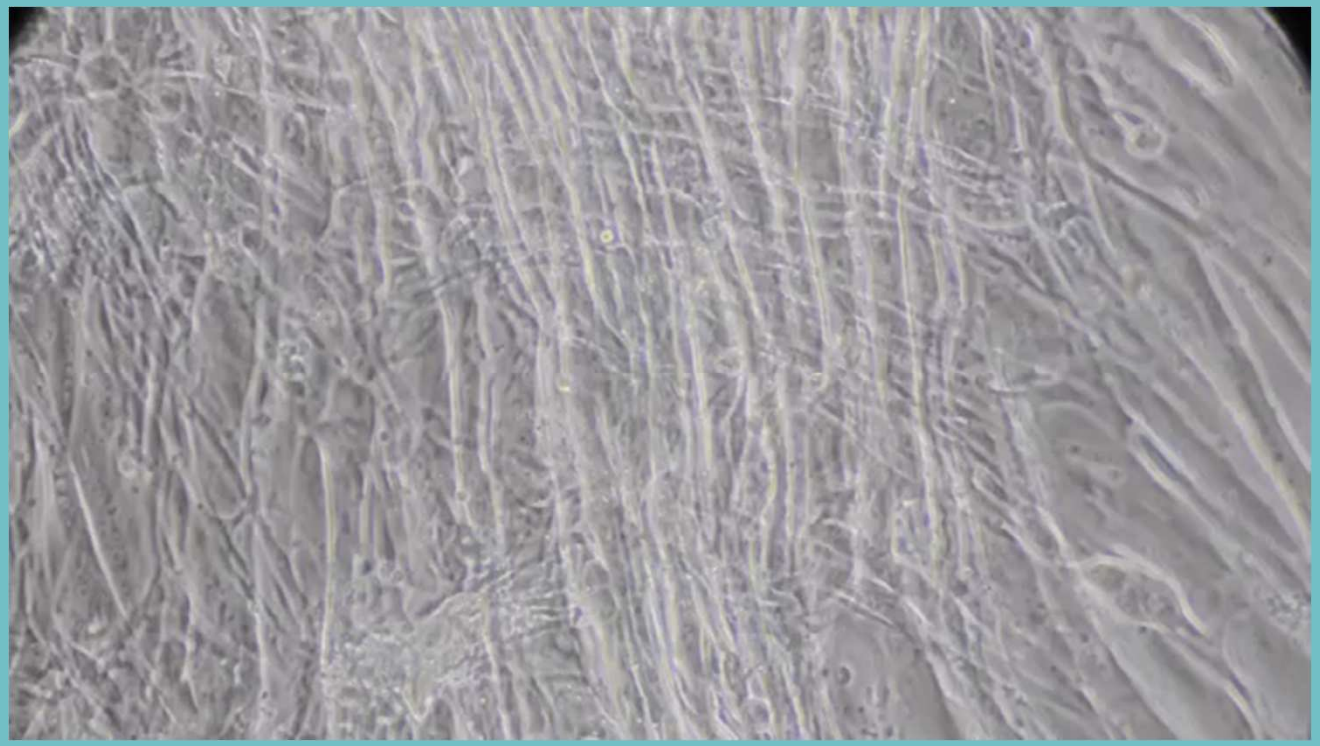
- Modelos celulares: fibroblastos de pacientes, mioblastos primarios, mioblastos inmortalizados, cocultivos explantes…
- Fibras musculares aisladas (ratón)
- Tejido humano (sangre, biopsias musculares…)
- Modelos distróficos de ratón (mdx, C3KO…): mdx

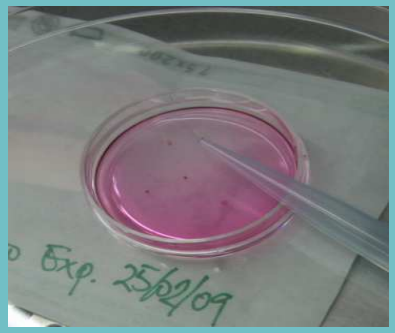
Miotubos humanos obtenidos de biopsias

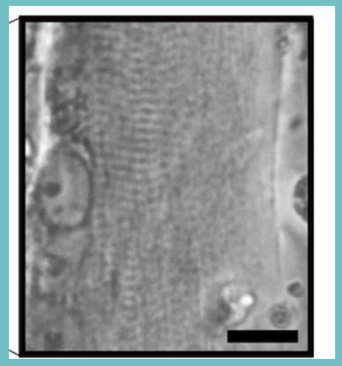
LHCN-M2



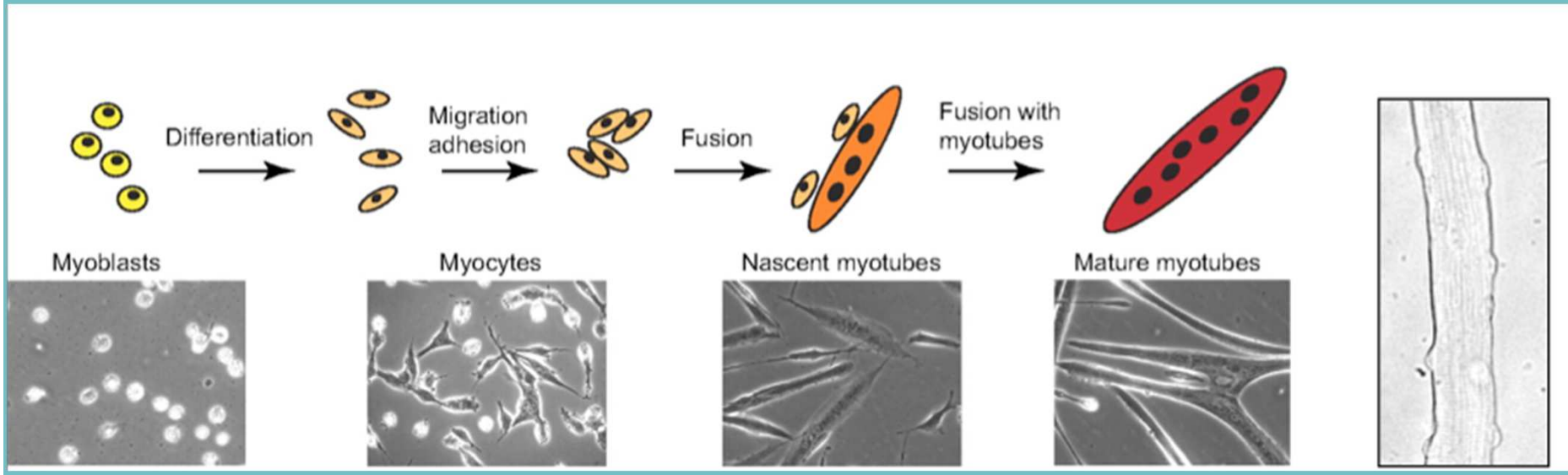
LHCNM2 (14 dpd)





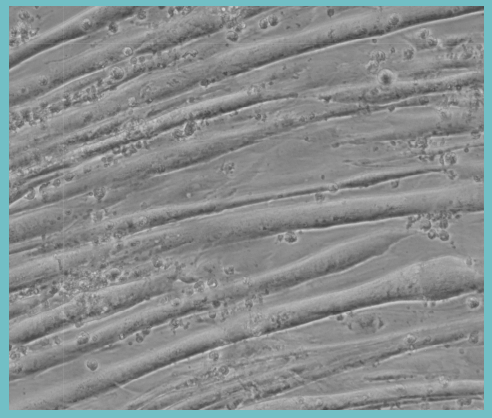


Líneas celulares de miotubos murinos y humanos

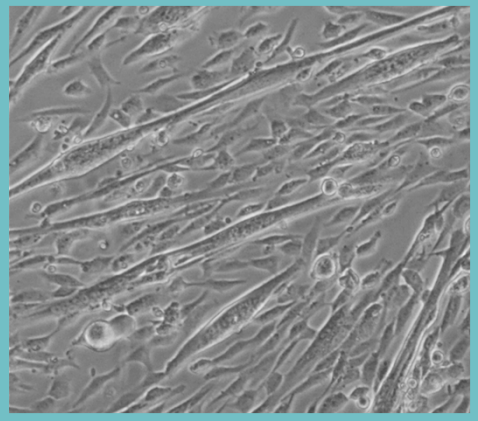


Mioblastos Miotubos Fibras

Línea celular murina: C2C12



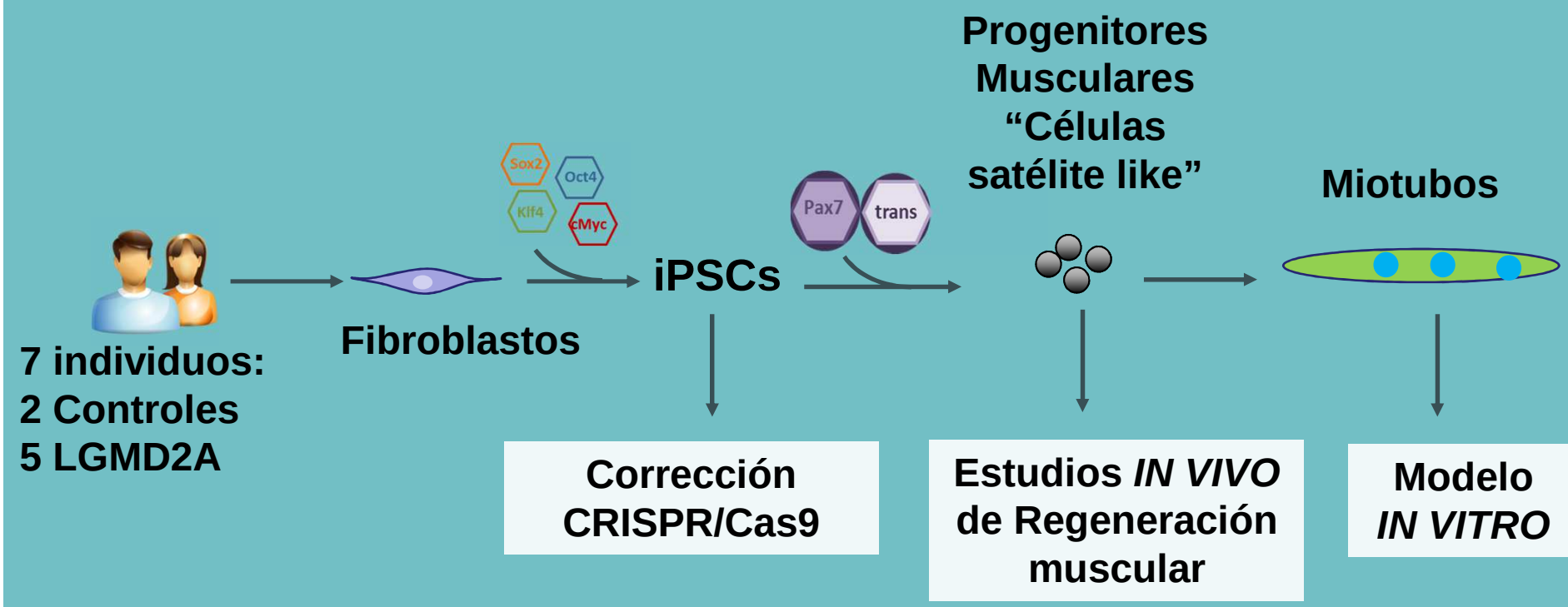
Línea celular humana: LHCN-M2



Human myotube culture blues…

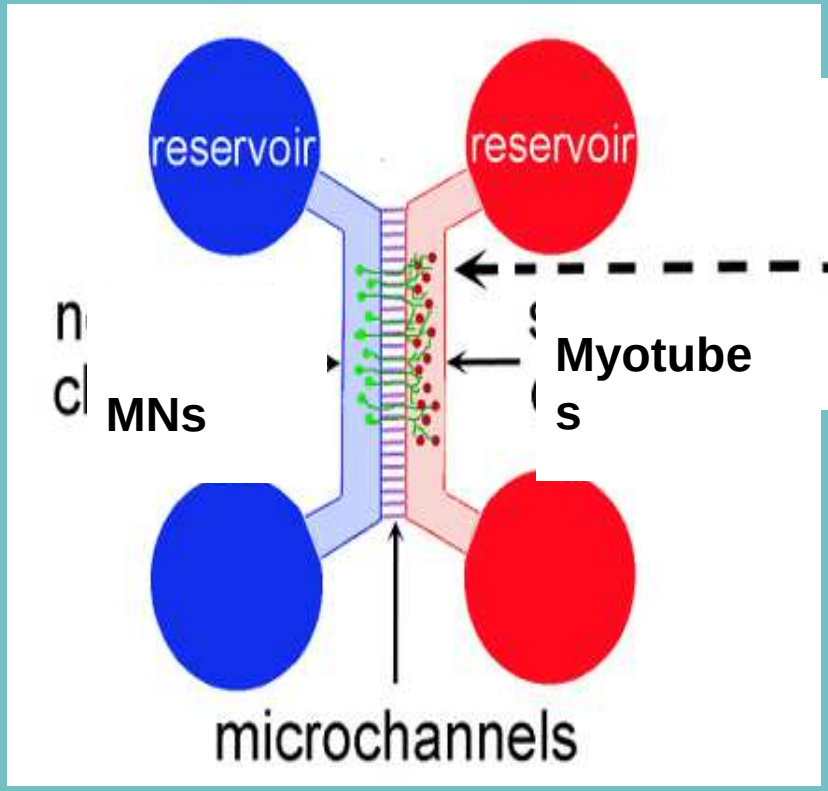
1. Miotubos humanos: baja maduración
2. Gran variabilidad entre diferentes líneas y mioblastos primarios: índice de fusión, maduración, duración en cultivo…

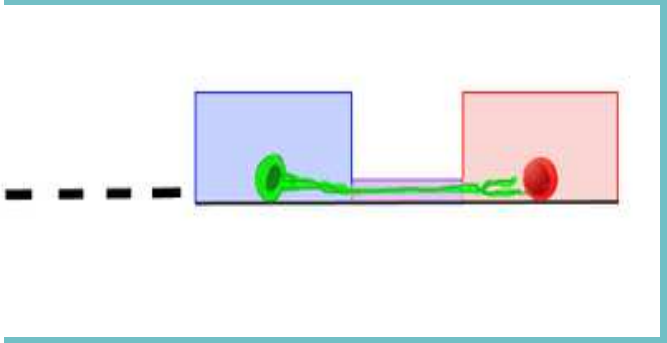
Mioblastos por reprogramación y diferenciación



Modelo *in vitro* de Sistema Neuromuscular

✚ Co-cultivos de MNs y miofibras derivadas de células iPS en placas microfluídicas





TDP-43 KD

mutTDP-43

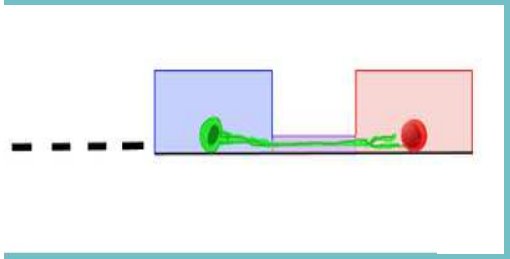
FUS KD

mutFUS

SOD1 KD

PLATAFORMA TRASLACIONAL DE TESTADO DE FARMACOS

- **Ratón Prnp-TARDBP*A315T)95Balo/J**
- **Ratón B6SJL-Tg(SOD1*G93A)1Gur/J**
- **Ratón mdx**
- **Ratón NSG**
- **Ratón C3KO**



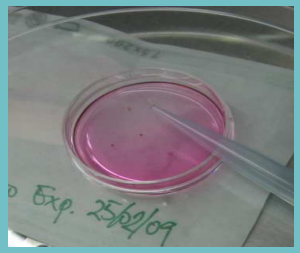
Cultivos Neuromusculares

Ratón

Humano

iPs→ diferenciación miogénica

A partir de precursores dérmicos (murino)



COMPUESTOS EN ESTUDIO

- AHULKEN Inhibidores RyR-Calstabina --- Dra. Ainara Vallejo-Illarramendi/Dr. Jesus María Aizpurua (UPV)
- Agonistas/Antagonistas ADM --- Dr. Alfredo Martínez (CIBIR)
- Tioredoxinas ancestrales --- Dr. Raúl Pérez (CIC Nanogune)

UNAS PINCELADAS DE LAS ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES A LAS QUE NOS DEDICAMOS Y DE LOS RESULTADOS

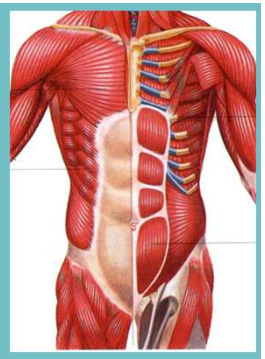
Distrofia de Duchenne/Becker

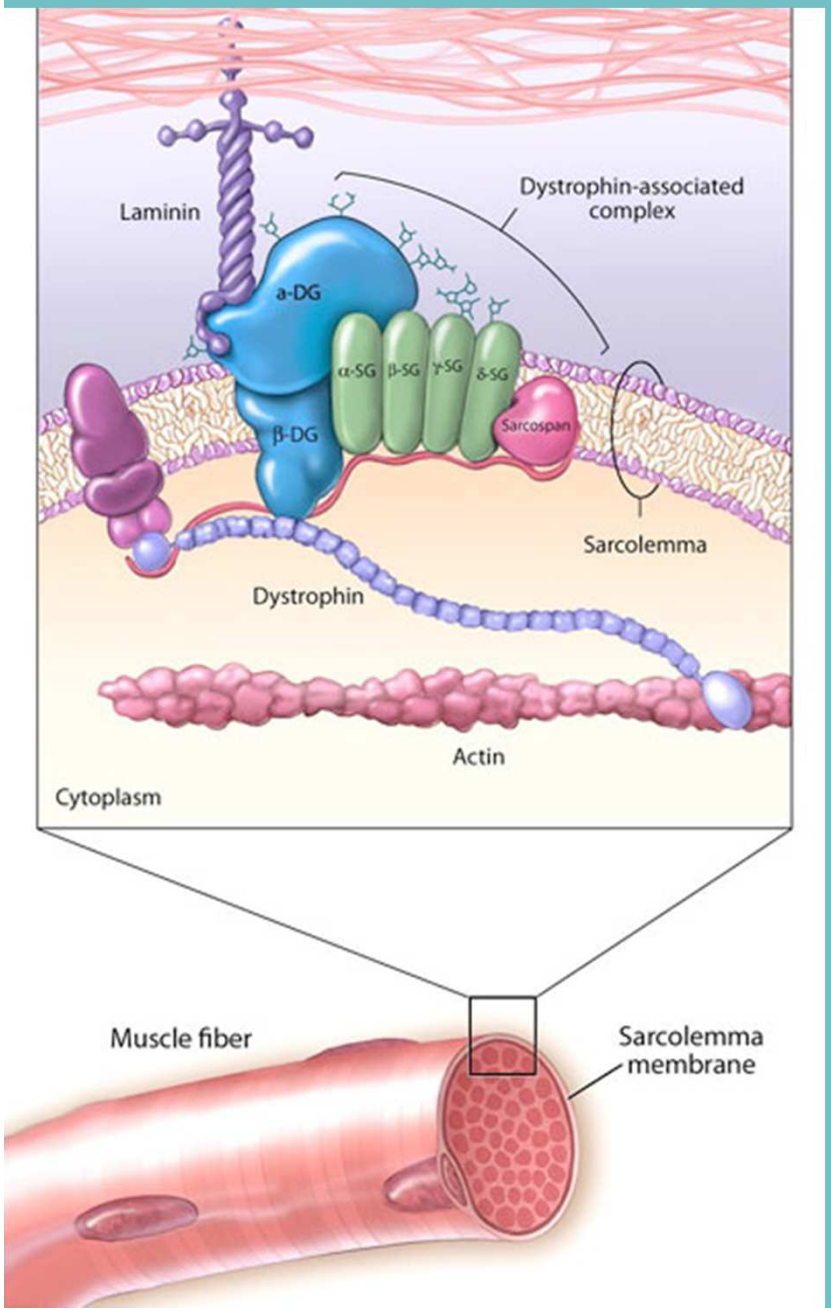
Distrofia de Cinturas 2A

Distrofia miotónica o enfermedad de Steinert

Esclerosis lateral amiotrófica

DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

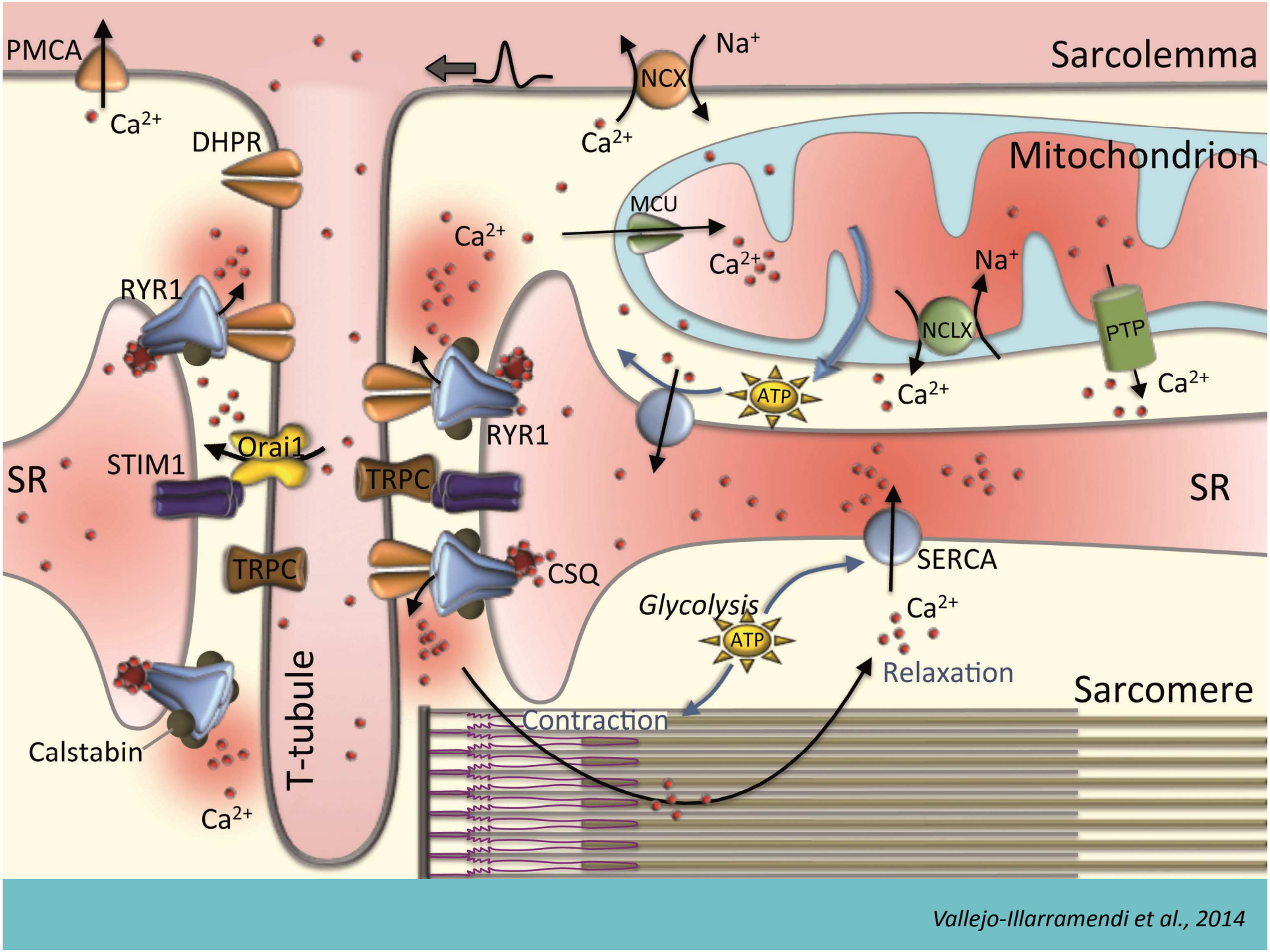




- Enfermedad rara ➔ 1:3.500 niños
- Afectación del músculo estriado y cardiaco
- Muerte prematura (respiratorio, cardiaco)
- Gen afectado: **Distrofina**. Cromosoma X
- Expresión en fibras musculares y neuronas
- Función: amortiguadora
- <u>Alteraciones SNC</u>: Déficits cognitivos y función ejecutiva. Alteraciones en comunicación y comportamiento social.

Distrofia de Becker: forma menos severa

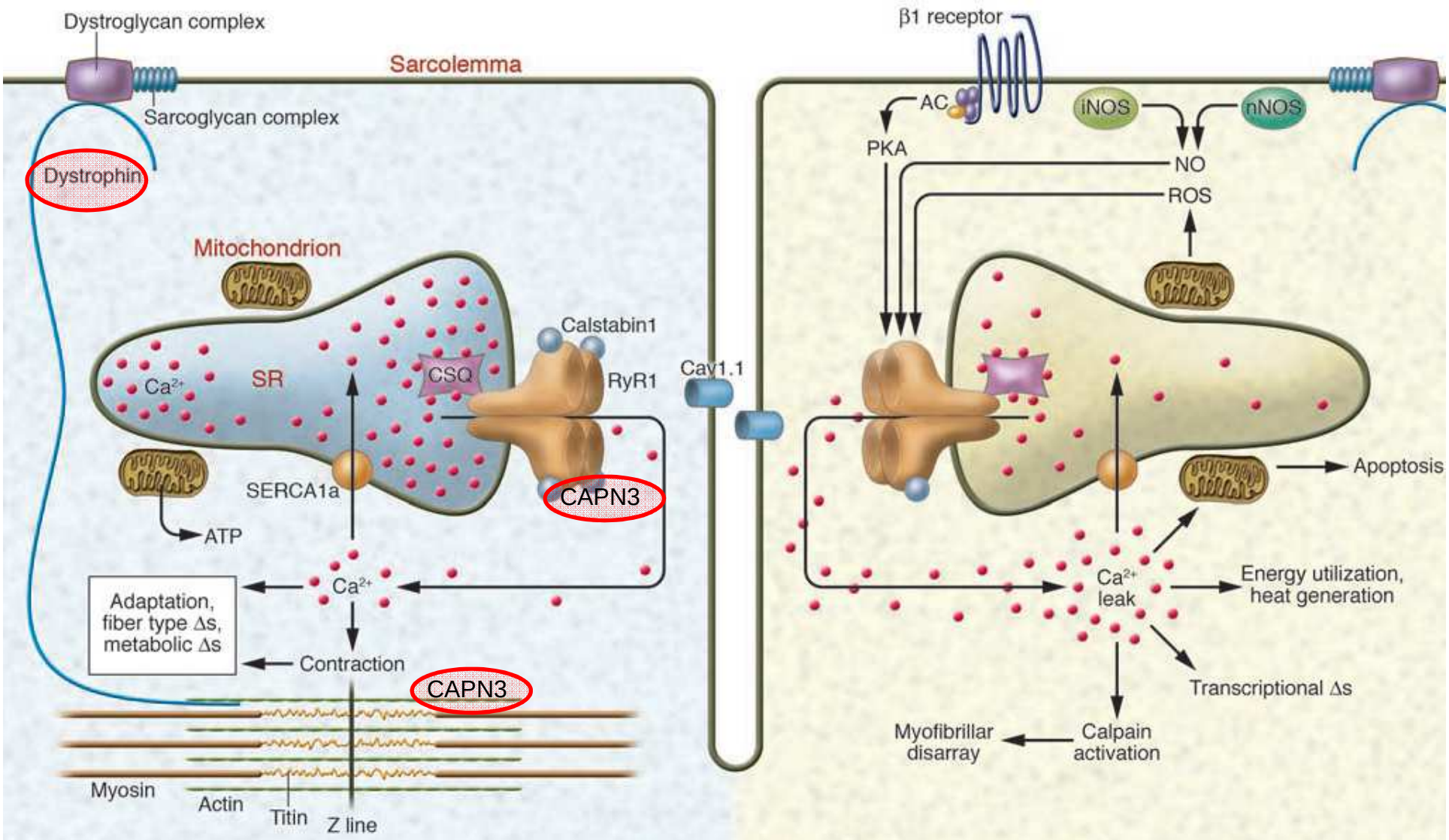
No hay tratamientos eficaces. Corticoides.



Vallejo-Illarramendi et al., 2014

En los pacientes se produce una fuga de Calcio desde el RER al citoplasma

FIBRA MUSCULAR SANA | **FIBRA MUSCULAR DUCHENNE**



Bellinger et al., 2008

Y esta fuga de calcio, puede ser bloqueada con algunos compuestos de síntesis que además, podrían ser utilizados en otras enfermedades neuromusculares

nature medicine

RYCALS → ↓ Calstabin depletion → ↓ Ca^{2+} leakage

LETTERS

Hypernitrosylated ryanodine receptor calcium release channels are leaky in dystrophic muscle

Andrew M Bellinger[1], Steven Reiken[1], Christian C
Stefan Matecki[2,3], Alain Lacampagne[3,4] & Andrew

Skeletal Muscle

BioMed Central
The Open Access Publisher

This Provisional PDF corresponds to the article as it appeared upon acceptance. Fully formatted PDF and full text (HTML) versions will be made available soon.

Leaky ryanodine receptors in beta-sarcoglycan deficient mice: a potential common defect in muscular dystrophy

Skeletal Muscle 2012, **2**:9 doi:10.1186/2044-5040-2-9

Daniel C Andersson (claesdanielandersson@gmail.com)
Albano C Meli (am3183@gmail.com)
Steven Reiken (sr372@columbia.edu)
Matthew J Betzenhauser (mjbetzenhauser@gmail.com)
Alisa Umanskaya (aumanskaya@gmail.com)
Takayuki Shiomi (ts2425@columbia.edu)
Jeanine D'Armiento (jmd12@columbia.edu)
Andrew R Marks (arm42@columbia.edu)

Nosotros estamos desarrollando en colaboración con el Departamento de Química de la UPV, una serie de moléculas con esta función → SERIE AHULKEN

eman ta zabal zazu

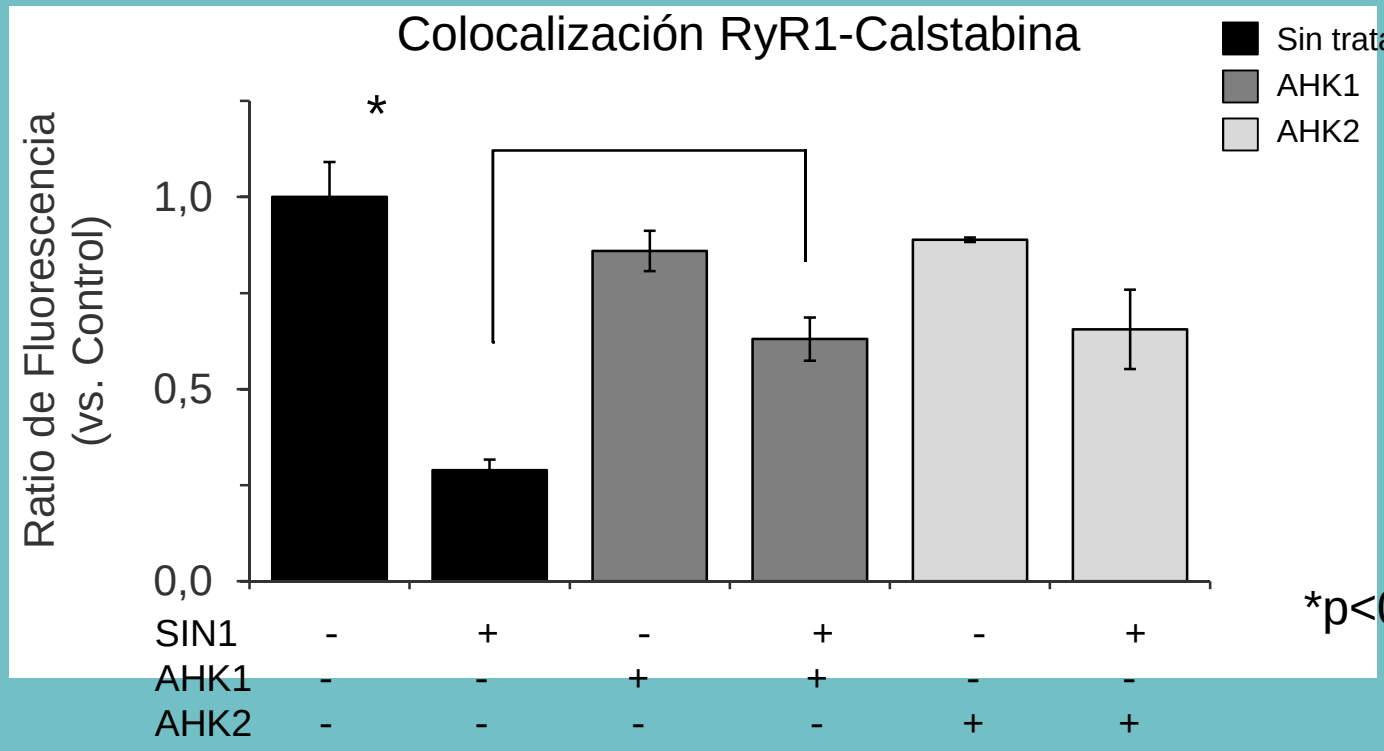
universidad del país vasco

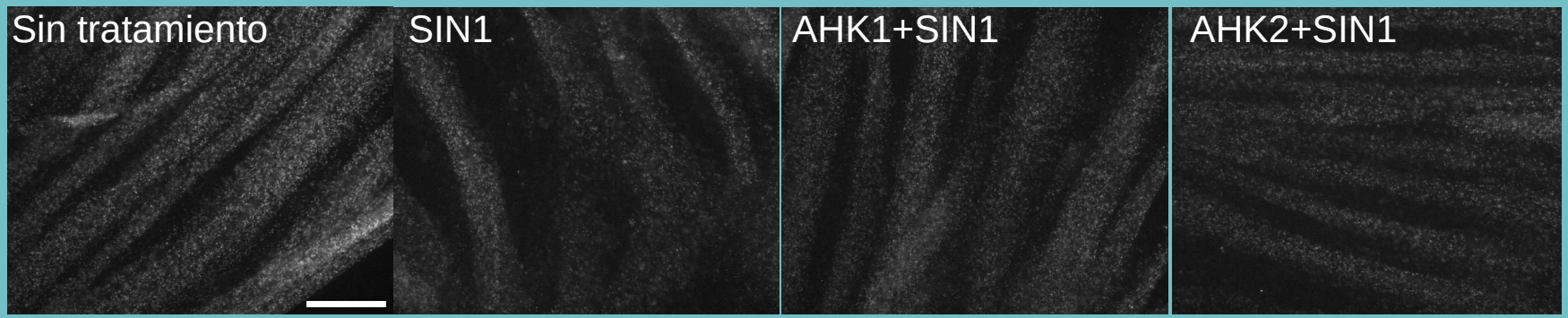
euskal herriko unibertsitatea

Prof. Aizpurua

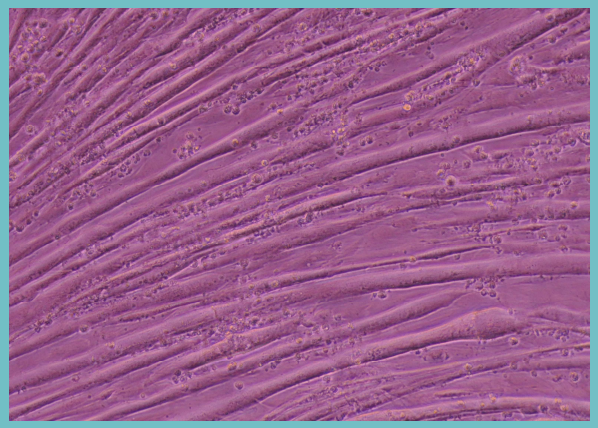
Aims	1st year	2nd year
1. Effect of novel modulators of RyR1 on isolated FDB fibers from mdx mice		
1.1. Fiber isolation and dose optimization		
1.2. Effect of Ahulken compounds on intracelular calcium levels of isolated fibers		
1.3. Effect of Ahulken compounds on the co-localization of Calstabin1 and RyR1		
2. In vivo effect of 3 Ahulken compounds on mdx mice treated during 5 weeks		
3.1. Ahulken 6 and S107 compounds		
3.2. Second compound		
3.3. Third compound		

DATOS PRELIMINARES DE EFICACIA DE AHULKEN EN MIOTUBOS HUMANOS



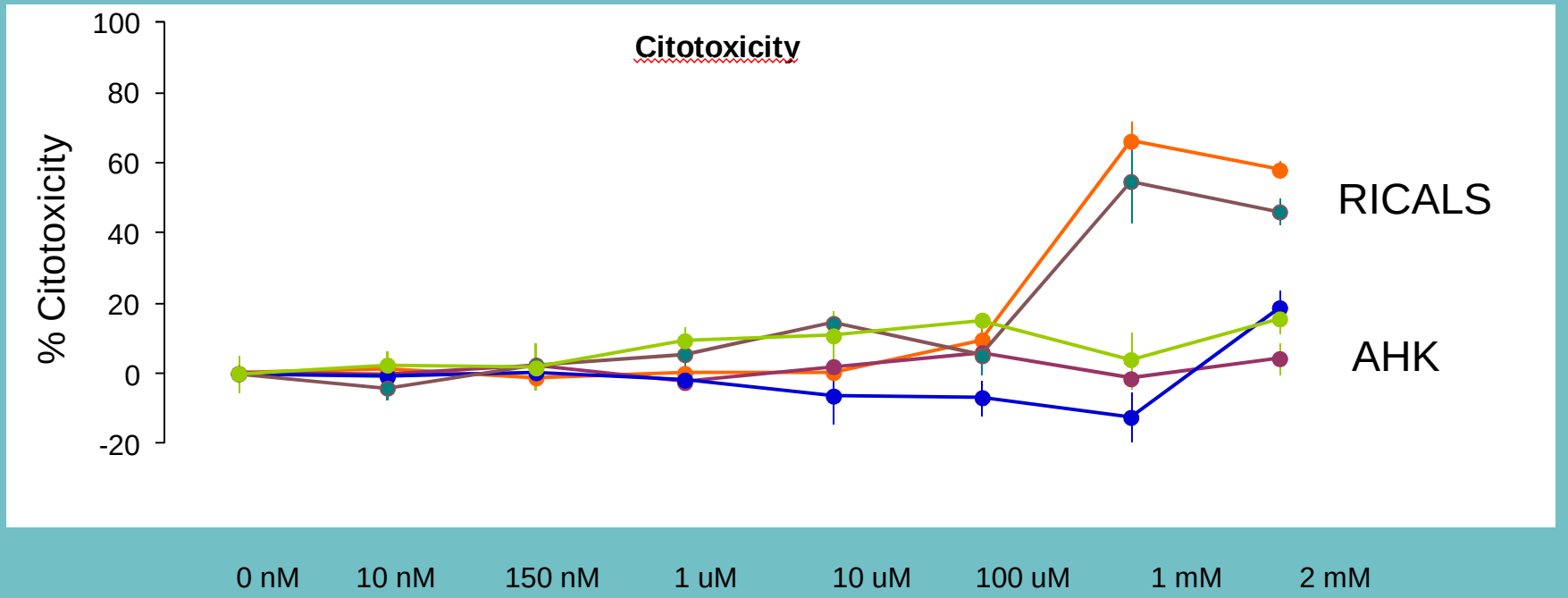


In Vitro Citotoxicity of RYCALS and Ahulken Compounds



C2C12 myotubes

24h incubation with compounds



ENSAYO PILOTO I *IN VIVO* ENTRE RYCALS y AHULKEN

Duration: 10 days

Daily Subcutaneous administration (12am)

Dosage: 100 ul of 8,5mM solution

Cp 140nM (RYCAL)

- Group 1 (PBS): 2 CONTROL + 2 MDX
- Group 2 (RYCAL): 2 CONTROL + 2 MDX
- Group 3 (AHK): 3 MDX
- Group 4 (AHK): 2 MDX

ENSAYO PILOTO COMPARATIVO II *IN VIVO*

Wild-type, no drug (n=3)

mdx No Drug (n=5)

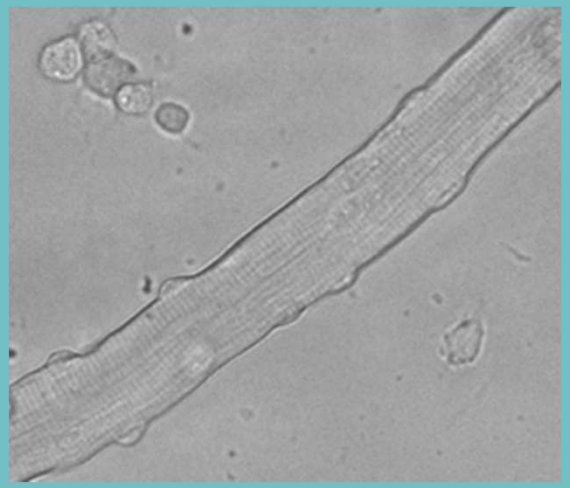
mdx AHK (n=5). 0.25 mg/ml in drinking water. Aprox 33mg/kg/day

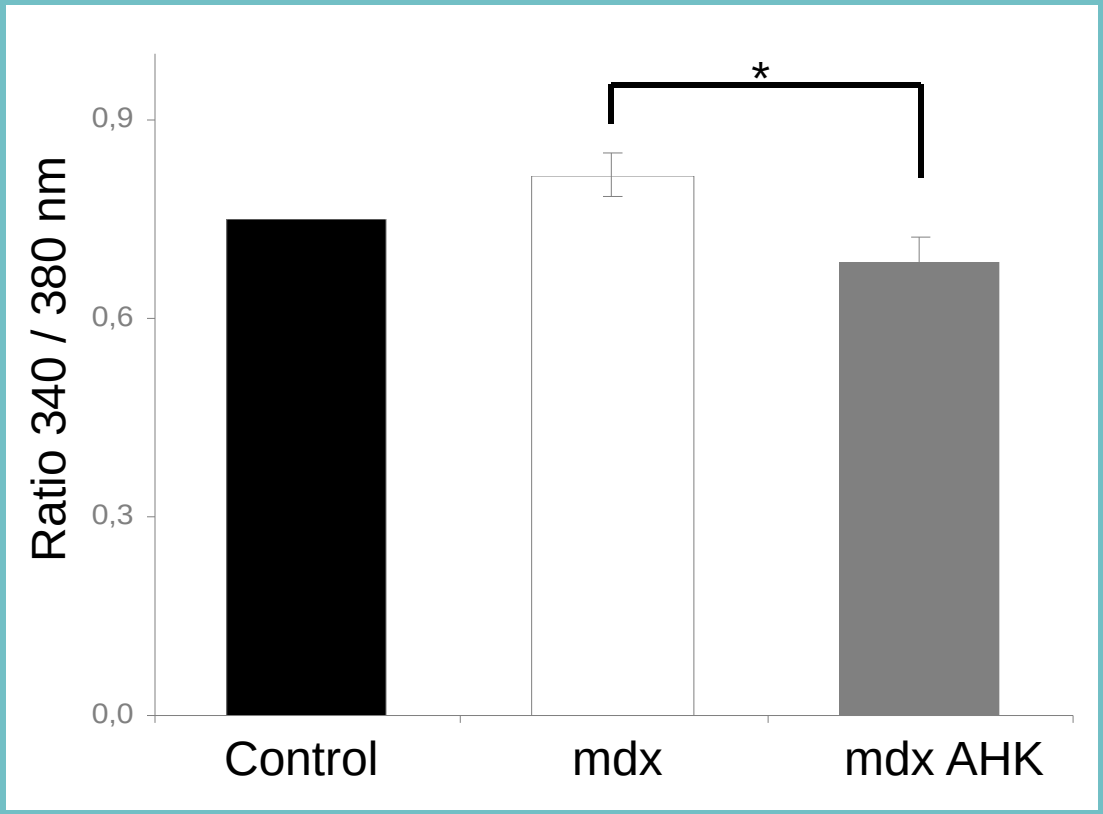
- Weight control (daily)
- Grip strenght (weekly)
- 30 min treadmill exercise (weekly)
- Blood extraction (weekly) (CK / LDH)
- Fatigue resistance test (D24)

After sacrifice (Day 36):

- Collection of diaphragms and TA muscles
- Isolation of Fibers from FBD muscles (Ca2+ measurements)

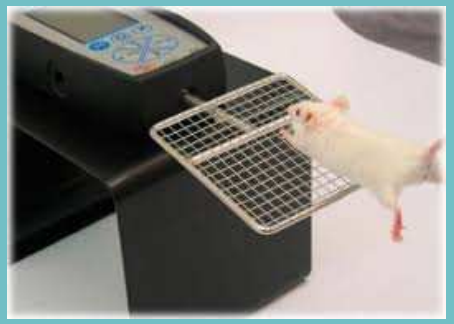
ANALYSIS OF BASAL CALCIUM IN ISOLATED FIBERS FROM *FLEXORUM DIGITORUM BREVIS* (FDB) AFTER TREATMENT WITH AHULKEN

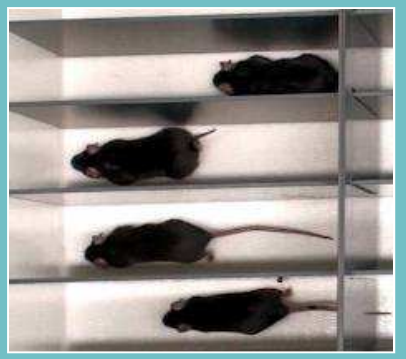


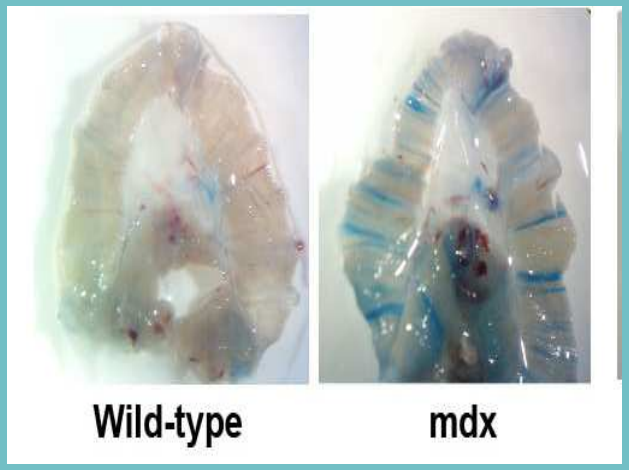


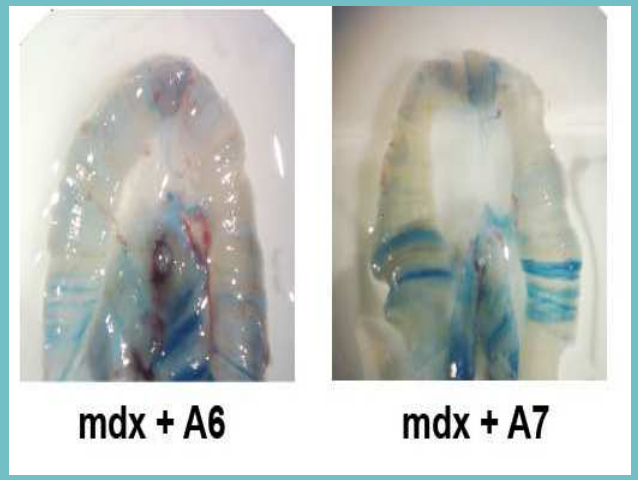
Muscle damage: Evans blue dye

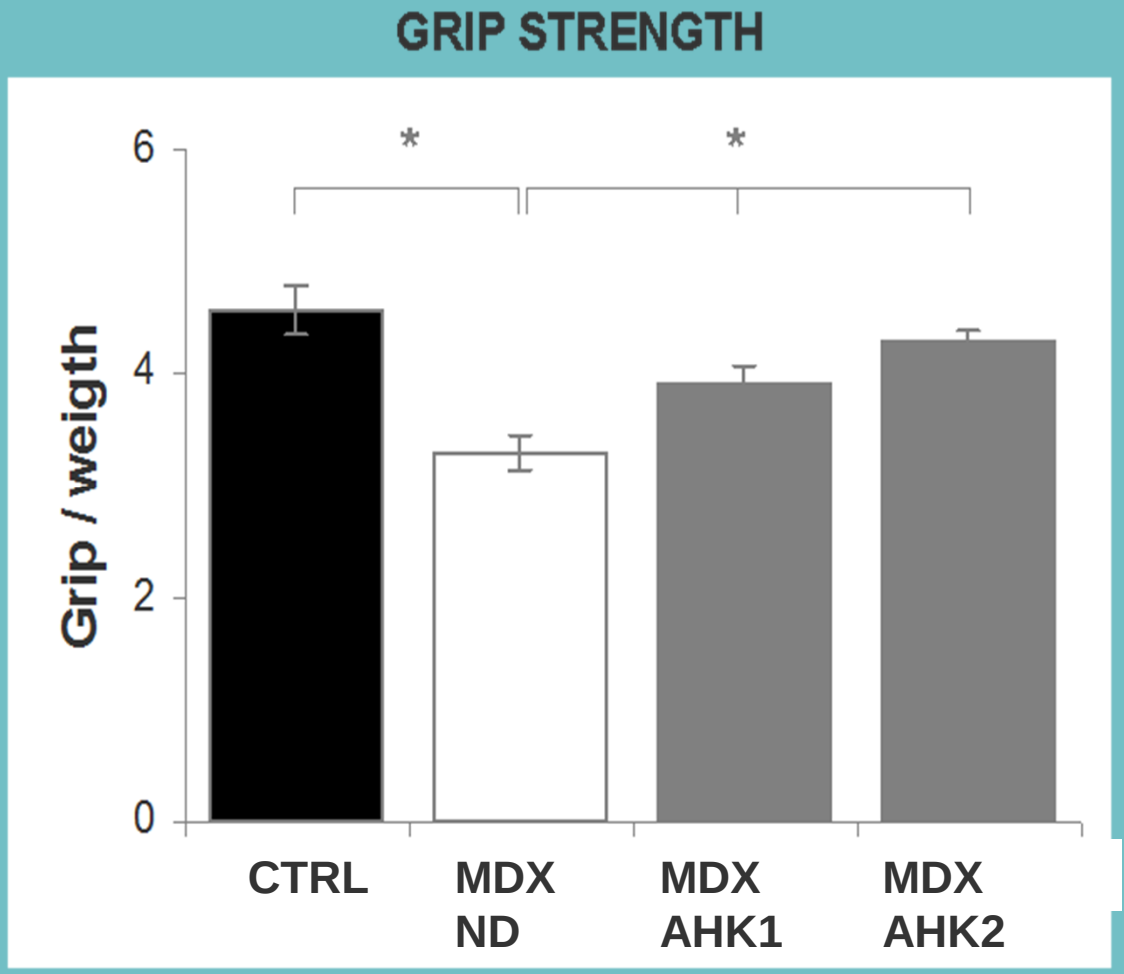
Diaphragms











Algunas conclusiones preliminares sobre AHULKEN

1. **Los compuestos de la serie Ahulken muestran una baja toxicidad en miotubos murinos y murinos**

2. **Los compuestos de la serie Ahulken muestran eficacia in vivo en relación a la preservación de la fuerza muscular y en la mejora de los rasgos fisiopatológicos de la distrofia muscular**

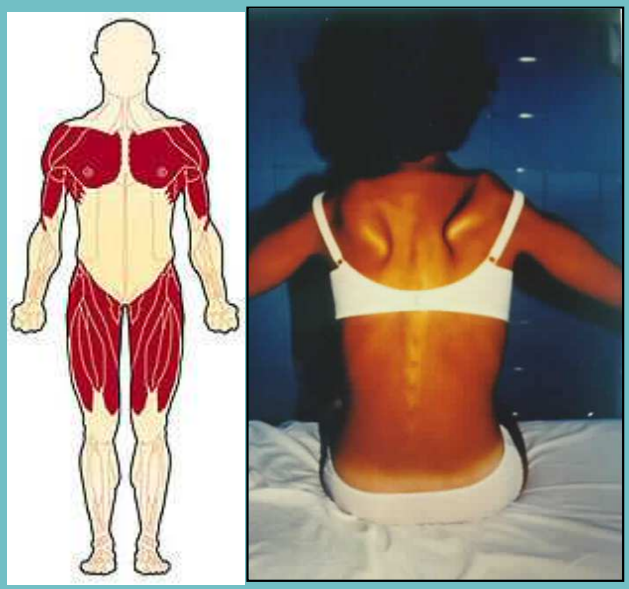
3. **Algunos compuestos de la serie son capaces de revertir el incremento de calcio intracelular en los mioblastos del musculo flexor digital en el ratón *mdx***

DISTROFIA DE CINTURAS LGMD2A POR DEFICIT DE CALPAINA 3

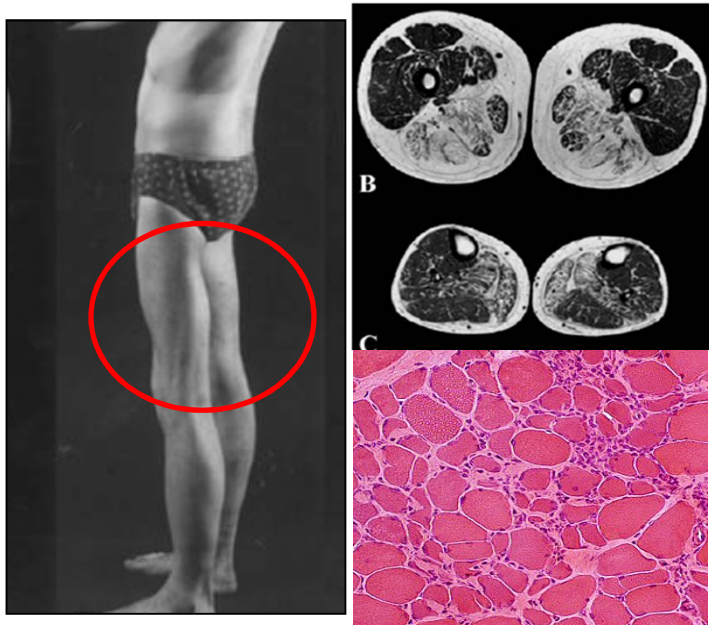
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

(Fardeau et al 1996, Urtasun et al 1998)

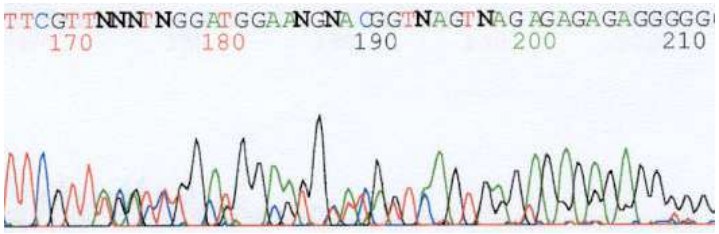
- **Edad de inicio en la adolescencia (8-15 años)**
- **Debilidad proximal simétrica**
- **La musculatura facial está preservada**
- **RMN → Afectación del compartimento posterior**
- **Confinamiento a silla de ruedas tras evolución de 10-28 años**
- **No se observa afectación miocárdica**
- **Valores de CK >5-20**
- **Biopsia muscular: patrón distrófico**



DISTROFIA DE CINTURAS LGMD2A POR DEFICIT DE CALPAINA 3



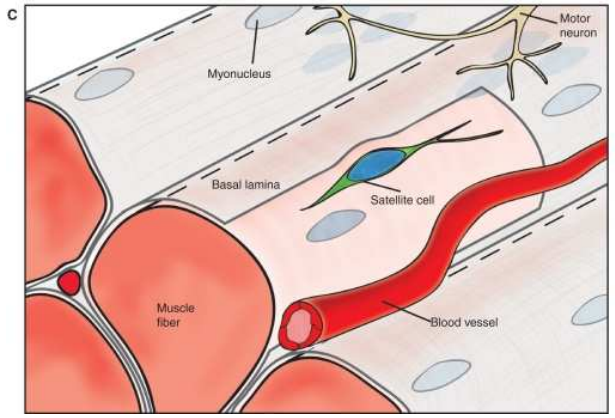
(Fardeau *et al.,* 1996, Urtasun *et al.,* 1998)



Calpaina 3

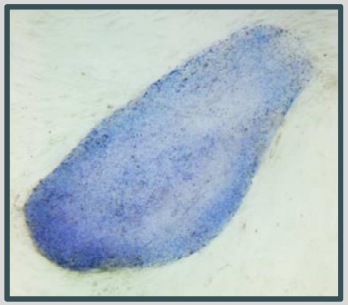
- Regulación del calcio (Kramerova *et al*., 2008)
- Proteolítica de sustratos (Sorimachi *et al*., 1995)
-Antiapoptótica (Baghdiguian) *et al*., 1999)

- **Mantenimiento de la población de células satélite musculares**.

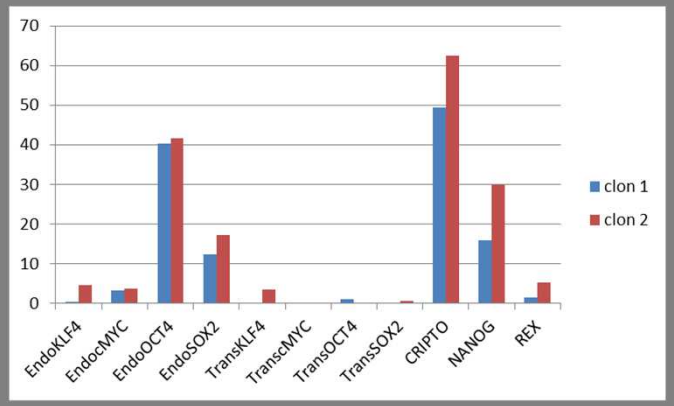


RESULTADOS GENERALES (I): Caracterización iPSs generadas

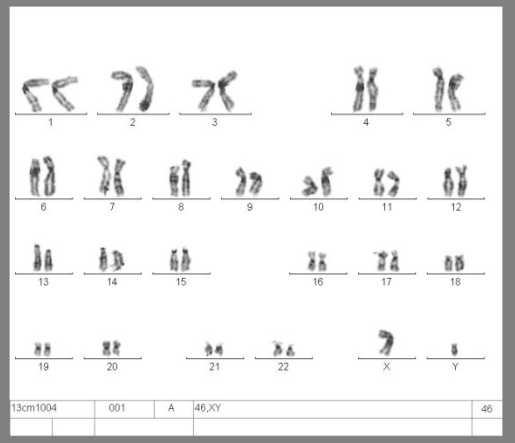
Tinción fosfatasa alcalina



Silenciamiento de transgenes e inducción de genes endógenos de pluripotencialidad

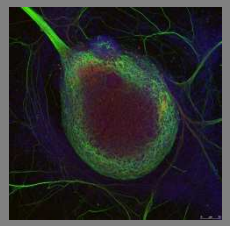


Cariotipado



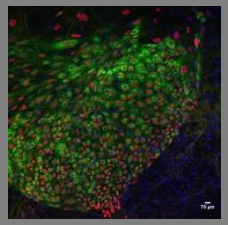
Marcadores de diferenciación

Ectodermo — Tuj1/GFAP



Mesodermo — SMA/Gata4

Endodermo — fetoprotein/FoxA2



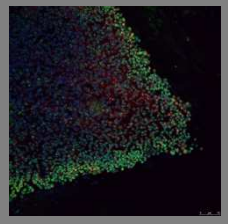
¿hemos conseguido reprogramar los fibroblastos?

¿hemos obtenido células pluripotentes?

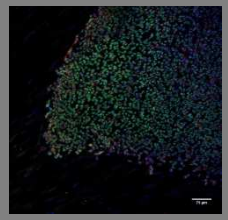
Marcadores de pluripotencia

Oct4 / SSEA3

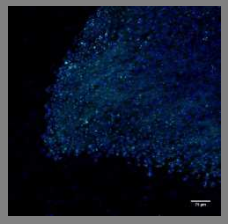
NANOG/Tra1-81



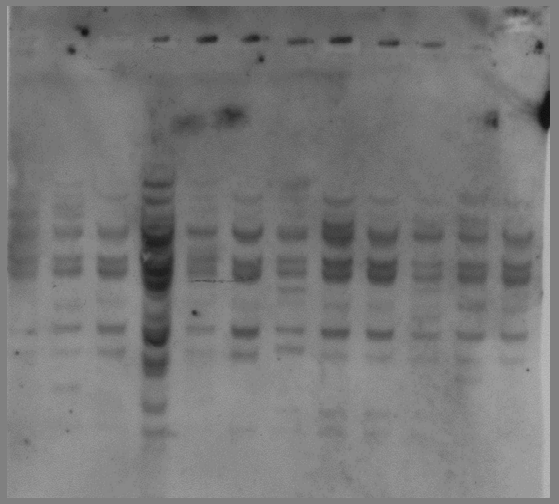
Sox2/Tra1-60



SSEA4

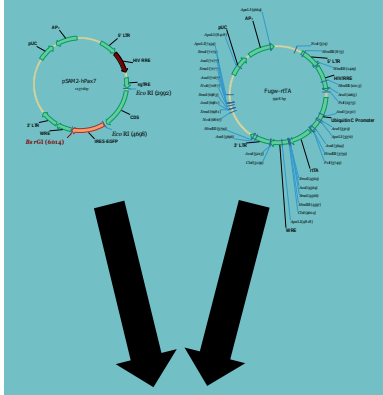


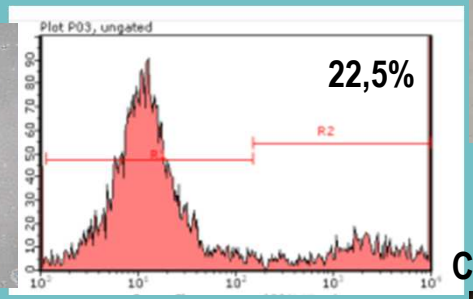
Southern blot independencia clonal



RESULTADOS GENERALES (II): Obtención de Progenitores musculares y diferenciación terminal

Infectar iPSs Pax7-rtTA → Eficiencia de infección → Inducción miogénica → Selección FACS GFP+ → Diferenciación terminal

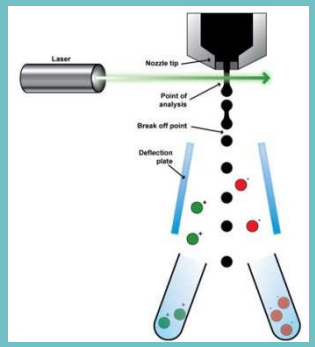




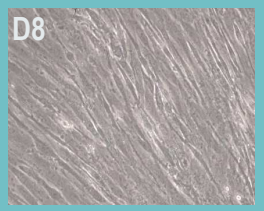
iPSs infectadas

Embryoid bodies

Cultivo en adherencia

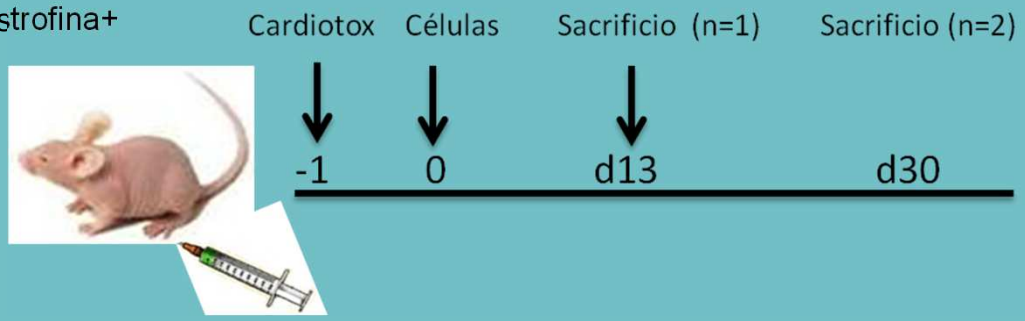


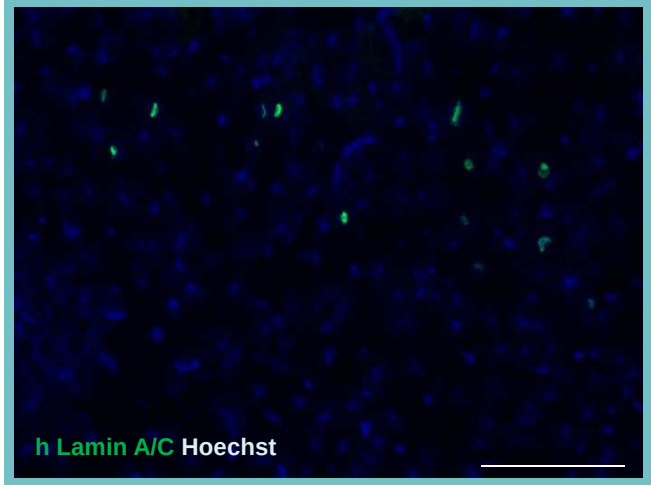
Progenitores musculares

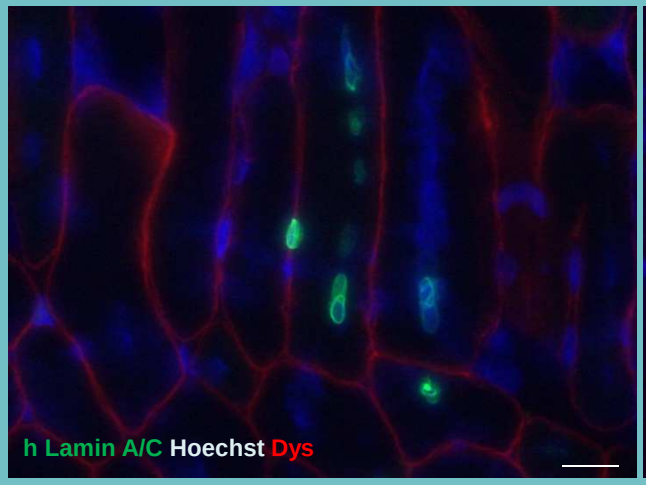


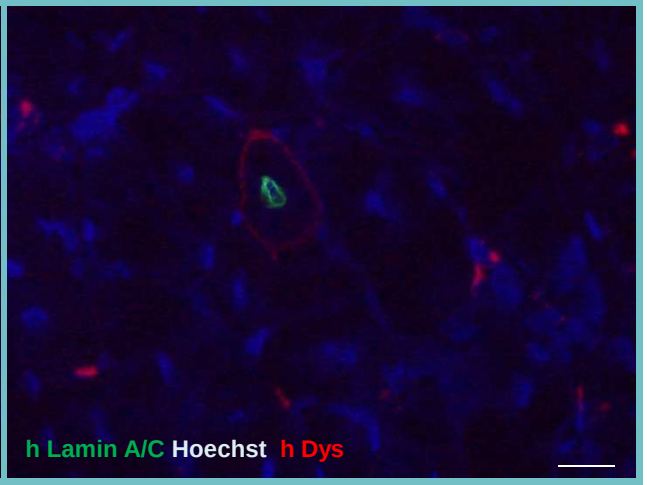
RESULTADOS GENERALES (III): Estudios de regeneración muscular *IN VIVO*

- Ratones receptores: Scid (n=3); Nod-Scid (n=3); NSG (n=3);
- 7,5ul de cardiotoxina a 100uM
- 2 tiempos de sacrificio
- Progenitores individuo control (09-88)
- 300.000cels
- %Fibras hLamin AC+/hDistrofina+







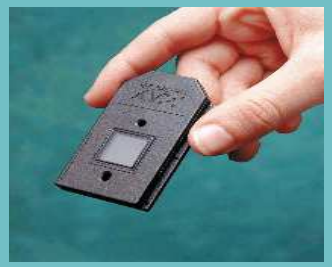


Resultados de modulación de la expresión génica en LGMD2A

LGMD2A debida a mutaciones en el gen CAPN3 que codifica para la calpaína 3

↓

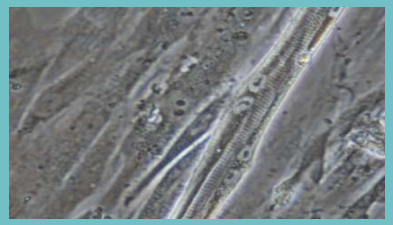
Gene Expression Profiling



74 genes que presentaban expresión diferencial

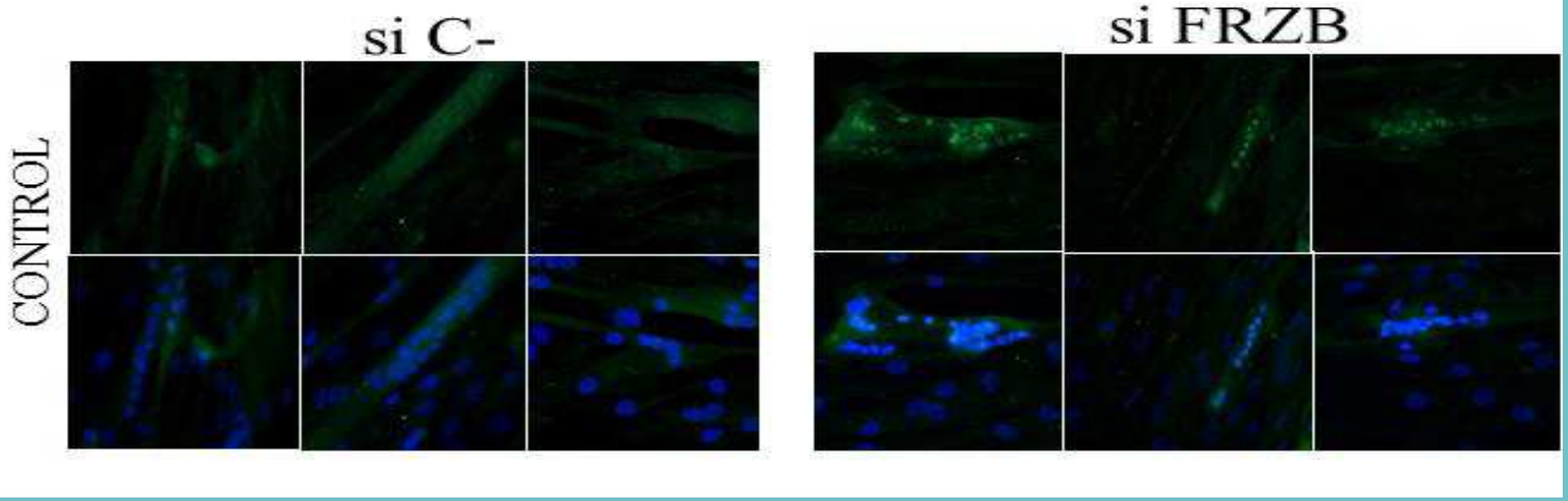
Resultados de modulación de la expresión génica en LGMD2A

Efecto del silenciamiento del gen FRZB (1/3)



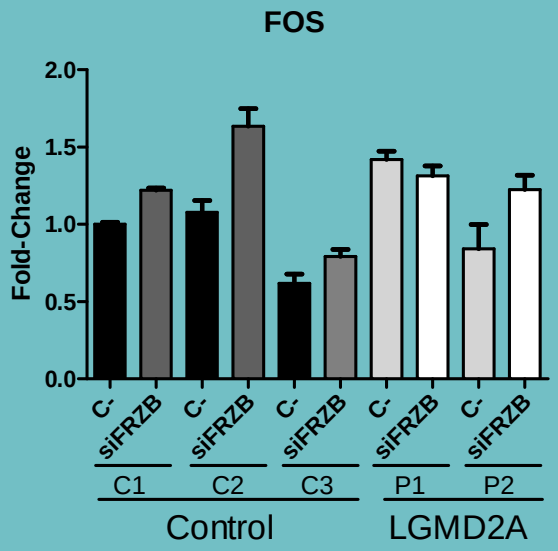
Miotubos primarios humanos

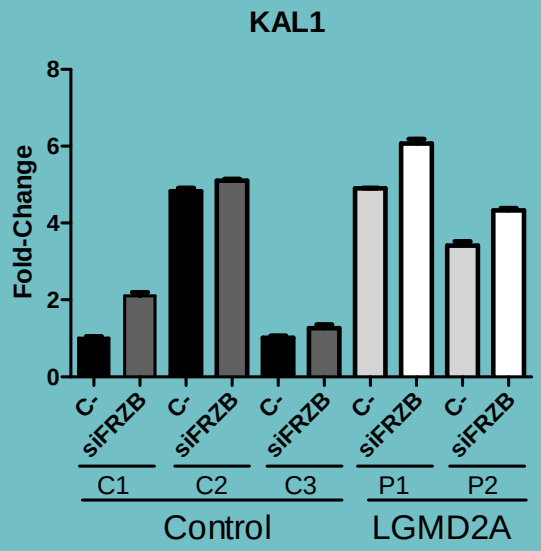
Translocación de β-catenina al núcleo



Resultados de modulación de la expresión génica en LGMD2A

Efecto del silenciamiento de FRZB (2/3)





Genes infraexpresados en pacientes LGMD2A

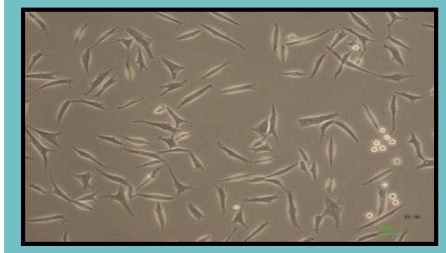
FOS: Factor de transcripción activado por B-catenina

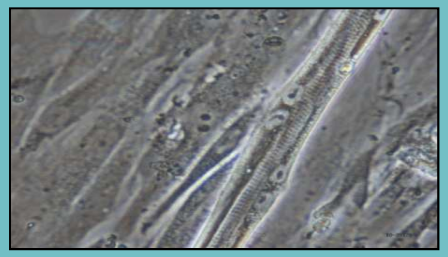
KAL1: Codifica para Anosmina, que interacciona con Integrina y posee regiones de unión a FOS en el promotor

Resultados de modulación de la expresión génica en LGMD2A

Efecto del silenciamiento de FRZB (3/3)

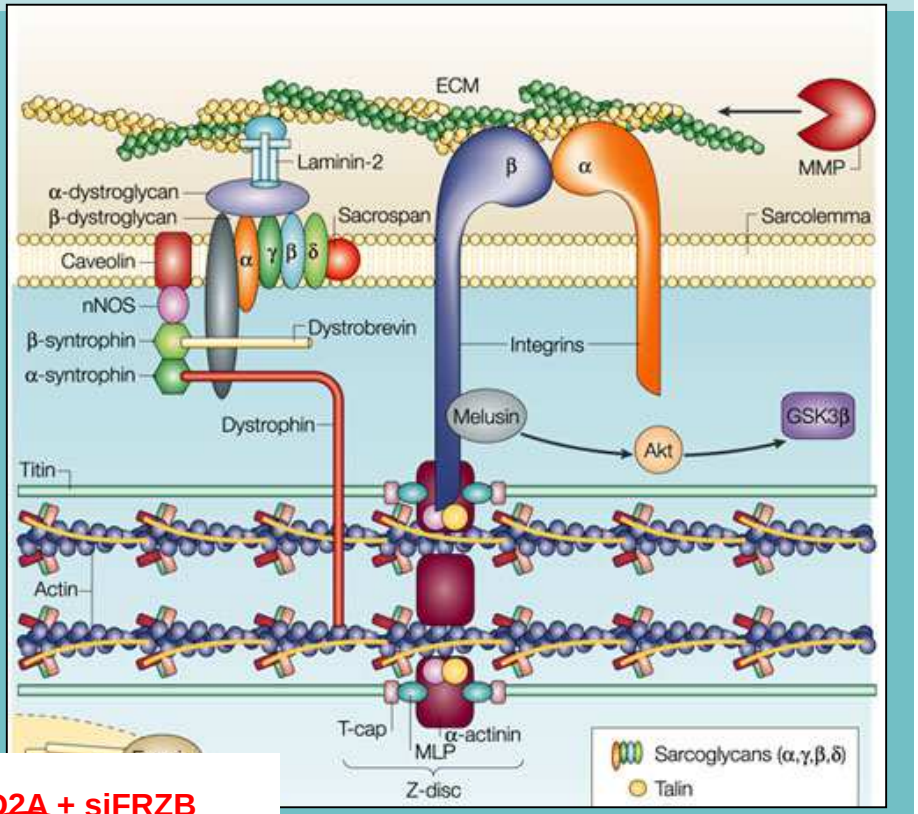
Sustitución de Integrina β1A por β1D

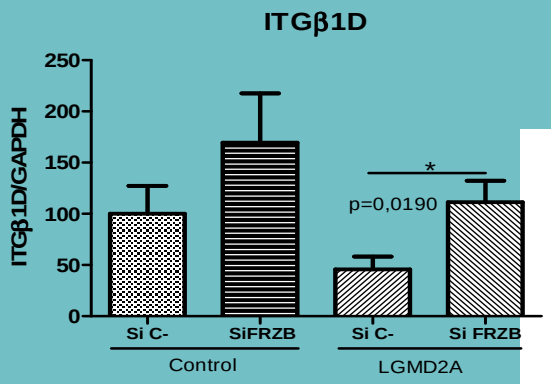




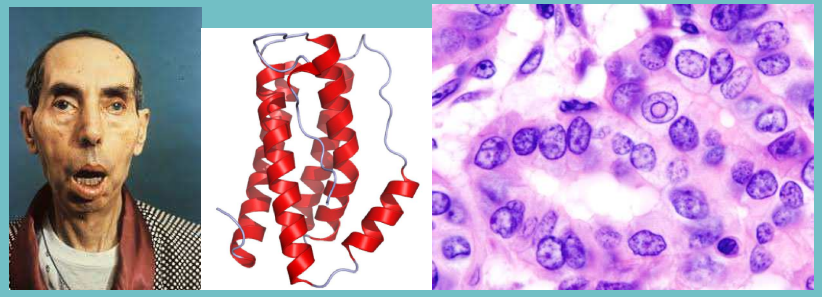
Control Integrina β1A→ Integrina β1D

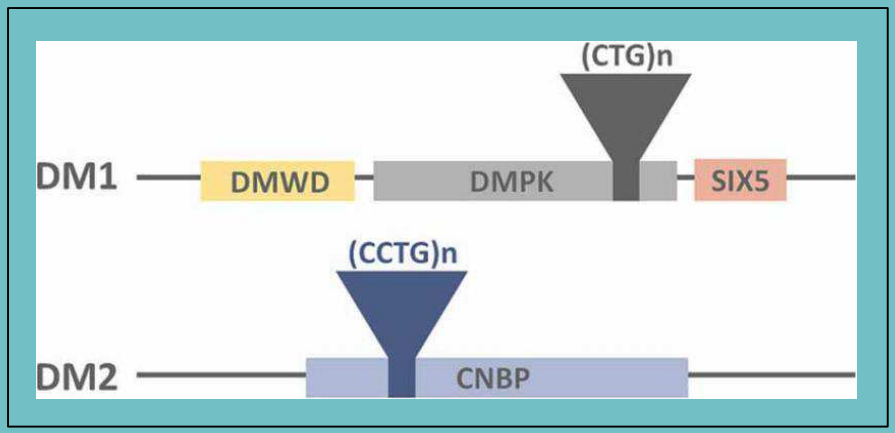
LGMD2A Integrina β1A → Integrina β1D





DISTROFIA MIOTÓNICA o ENFERMEDAD DE STEINERT



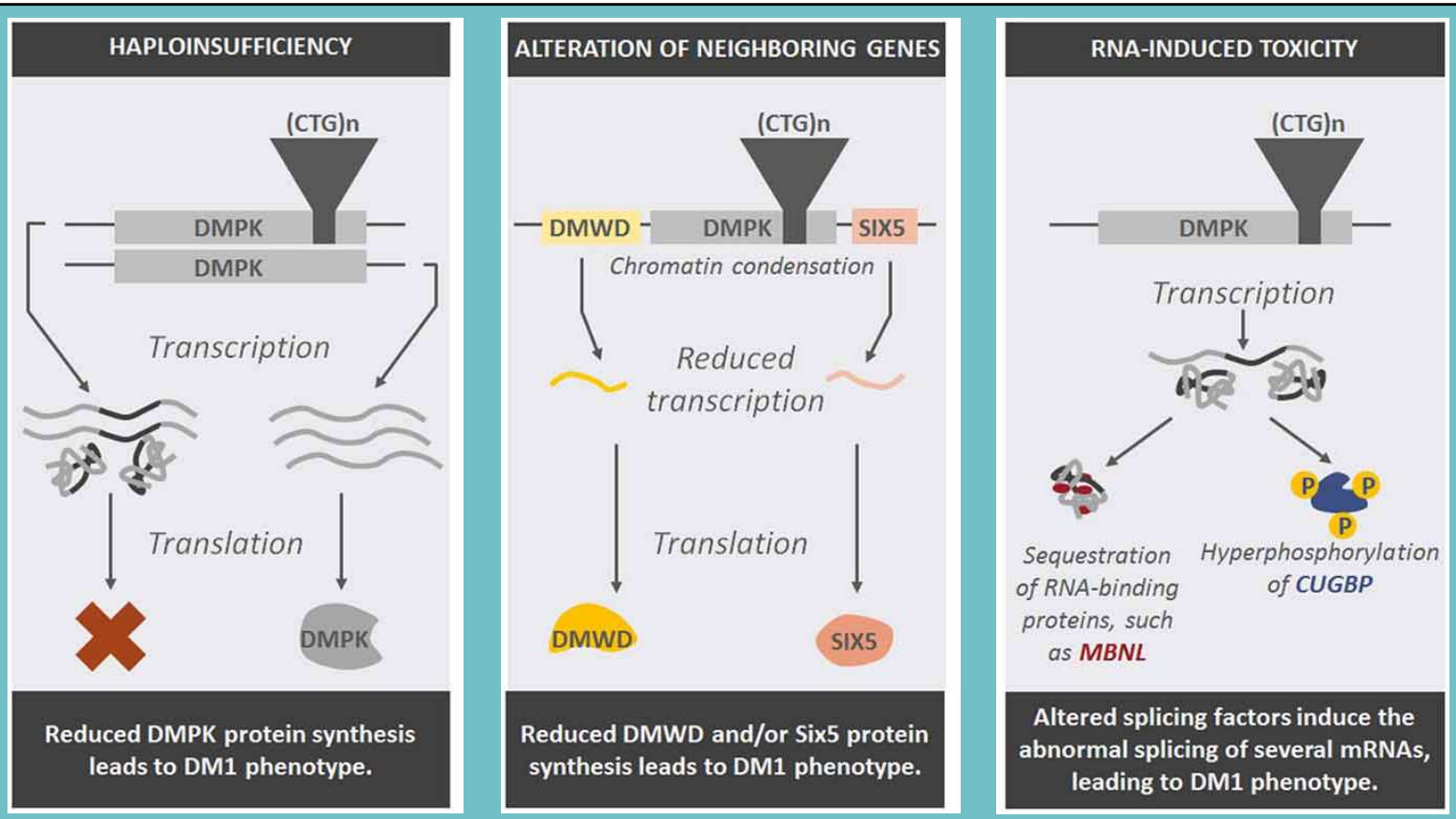


- Desorden **multisistémico hereditario**, autosómico dominante (penetrancia variable)
- Se distinguen dos tipos: **Distrofia Miotónica 1** y Distrofia Miotónica 2
  - Causa: expansión del **microsatélite (CTG)n** en la región no traducida 3' del gen de la proteín quinasa de distrofia miotónica (DMPK)
  - Es la distrofia adulta **más común** (1/8.000 habitantes)

Tomado de Mateos-Aierdi AJ. et al 2015

MECANISMOS PATOGÉNICOS PROPUESTOS EN LA ENFERMEDAD DE STEINERT

1. Expresión reducida de **DMPK**
2. Alteración en la expresión de **genes adyacentes** (SIX5. DMWD)
3. Los agregados de CTG alteran el funcionamiento normal de factores de *splicing*, **acumulación de RNA tóxico**



Tomado de Mateos-Aierdi AJ., et al 2015

FENOTIPO CLINICO DE LA ENFERMEDAD DE STEINERT

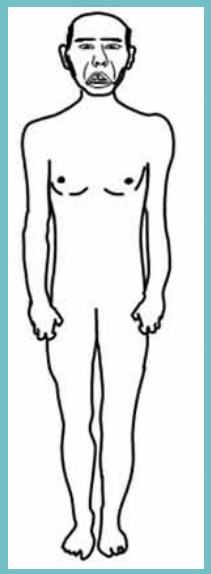
Muy variable desde casos asintomáticos a formas muy severas

OCULAR COMPLICATIONS
Cataracts, ptosis, macular degeneration

INCREASED CANCER RISK

NON ALCOHOLIC STEATOSIS

GONADAL DYSFUNCTION



CNS AFFECTATION
Mental retardation, cognitive impairment

CARDIAC FAILURE
Arrhythmias, conduction defects, etc.

SMOOTH MUSCLE DYSFUNCTION
Dysphagia, diarrhea, etc.

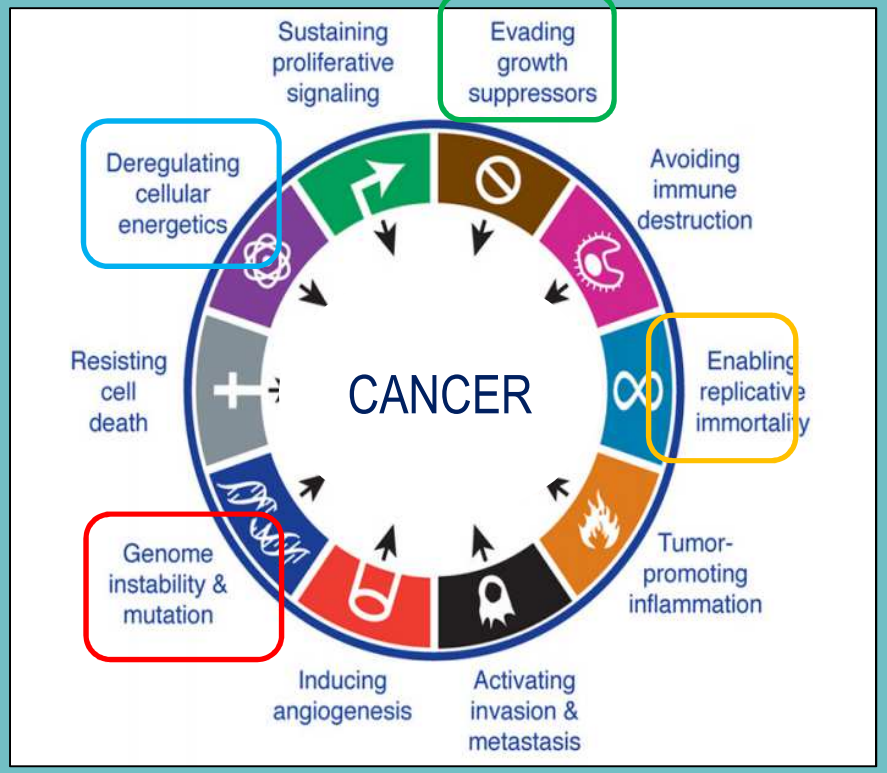
ENDOCRINE DYSFUNCTION
insulin resist., metabolic syndrome

Muchos de estos síntomas se asemejan a un proceso de **envejecimiento acelerado** (cataratas, pérdida muscular, atrofia, declive cognitivo, disfunciones metabólicas y el elevado riesgo de desarrollo de tumores)

Tomado de Mateos-Aierdi AJ., et al 2015

MECANISMOS COMUNES ENTRE EL CANCER Y EL ENVEJECIMIENTO PRESENTES EN LA ENFERMEDAD DE STEINERT

Hallmarks of aging. López-Otín et al, 2013



Hallmarks of cancer. Hanahnan & Weinberg et al, 2011

Manifestaciones diferentes de procesos comunes

INCREMENTO DE INCIDENCIA EN CÁNCER

Cantwell and Reed **1965**: primer case-report, multiple calcifying epithelioma of Malherbe

Varios case-reports tanto de tumores benignos como malignos.

- Neoplasias benignas (**PILOMATRICOMAS**): Cantwell y Reed. 1965, Goto et al. 1969, Kudva et al. 2002, Nakai et al. 2009, Chan et al. 2010…
- Daumerie et al. 1994:
  - Mujer con DM congénita de síntomas leves desarrolla cáncer de tiroides y observan un incremento de repeticiones de la expansión en el tumor de 7 veces.
  - Fenómeno de **anticipación**: padre 200 repeticiones, hermana 400 rep y en su hijo de 3.800 rep.
- **TIROIDES**: Goto et al. 1969, Johannesson et al 1978, Mudge et al 1980, Kuroiwa et al. 1981, Cánovas et al. 1981, Carlín y Biller 1981, Harada et al. 1987, Garcia Delgado et al. 1988, Rosenberg et al. 1988, Reimund et al. 1992, Bell et al 1994, Ogata et al. 1994, Molina et al. 1996, Draper 2000, Osanai et al. 2000, Hirai et al. 2001, Kudva et al. 2002, Feyma et al. 2008, Ekmekci et al. 2014
- **CARCINOMAS DE PIEL**: Zampetti et al. 2015, Miraglia et al. 2014, Zemtsov 2010, Saponaro et al. 2006, Banuls et al. 2004, Itin et al. 2001, Stieler 1986, Azurdita 1999
- **GENITORUINARIOS femeninos**: Kinoshita et al. 1997, Varras et al. 2003
- **PÁNCREAS**: Sugio et al, 1999, Vandecaveye et al. 2003, Addeo et al. 2013
- **GÁSTRICOS**: Jinnai et al 1999, Suzuki et al. 2003, Montella et al. 2005
- **RENAL**: kinoshita et al. 2002, Addeo et al. 2013

CLINICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF OUR DM1 COHORT

1. La tercera causa de muerte: **neoplasias (15%)**
2. Se han observado **70 cánceres en 62 pacientes** (32 mujeres, 30 hombres)
3. 2-fold en el riesgo a desarrollar cáncer (SIR=1.81, 95% CI= 1.37-2.36)., **mayor en mujeres** (SIR= 2.71, 95% CI= 1.77 to 3.97) **que en hombres** (SIR= 1.40, 95% CI= 0.94 to 2.01)
4. Expansión del triple en pacientes con cáncer: **629 ± 79 CTG repeticiones**. No hay asociación con el tamaño de la expansión.
5. Localización más frecuentes: digestivos (24.3 % 17 cases), genitourinarios (22.9 % 16 cases), piel (14.3 %, 10 cases) y tiroides (11.4% 8 cases)

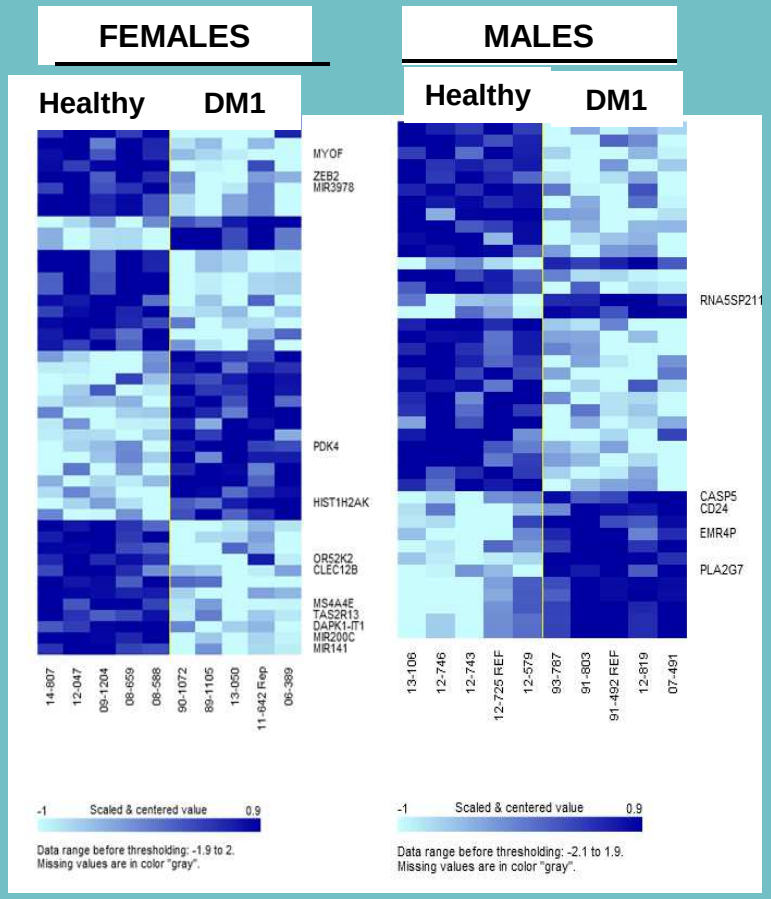
CLINICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF OUR DM1 COHORT

Number of patients	**424**
Sex	214 women (50.5%) 210 men (49.5%)
Mean CTG repeat expansion size	684 ± 535.6 CTG repeats (43-2000 CTG repeats)
Transmission	Paternal 65%
MIRS (n=217)	2.54 ± 1.21
Age at last visit	50.7 ± 15.61 years
Respiratory symptoms	86 patients (20.3 %)
Cardiac disease	184 patients (43.4%)
Patients with cancer	62 (14.6%)
Death	137 patients
Mean Age of death	60.25 ± 13.11 years
Follow up days	18313. 6 ± 5739.2 days

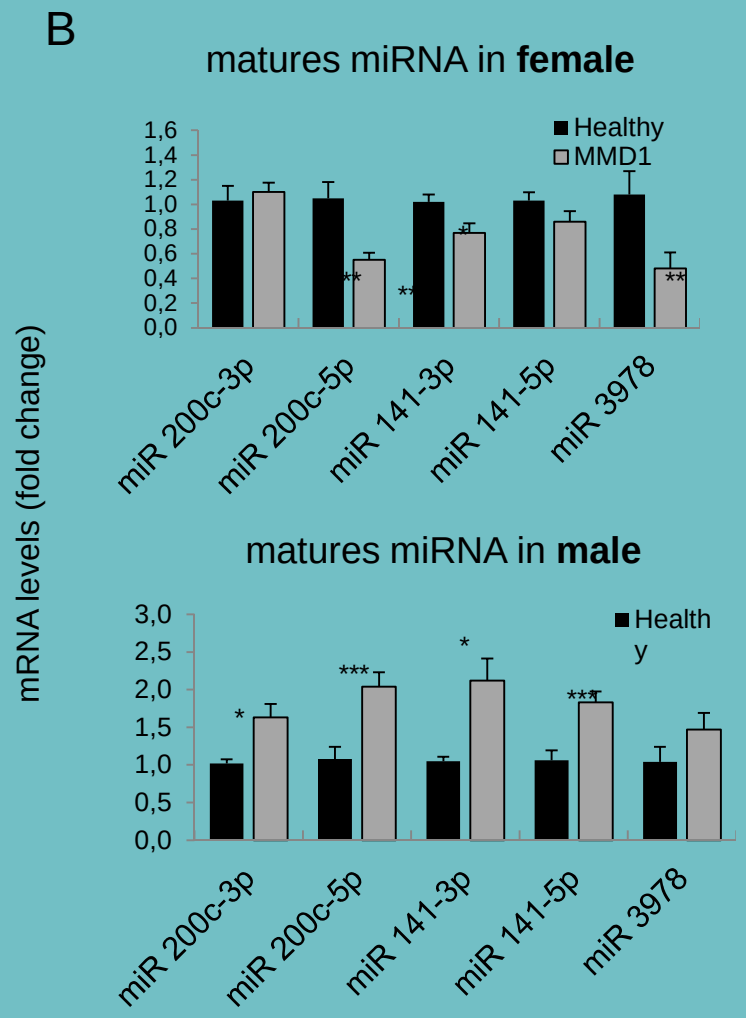
Fernández-Torrón R., García-Puga M., et al 2016

Sex-dependant mRNA expression pattern in DM1 patients

A



B



Fernández-Torrón R., García-Puga M., et al 2016

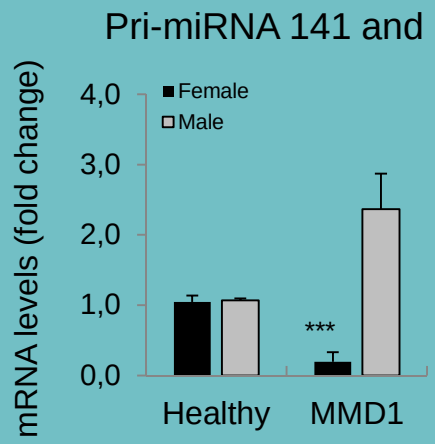
INCREASED RISK OF CANCER

Cancer	Age at diagnosis of cancer	O	E	SIR	95%CI
Women					
Ovary	48 (16-63)	3	0.36	**8.33**	1.72-24.31*
Endometrium	53 (38-59)	5	0.73	**6.86**	2.23-16.02*
Breast	57 (56-69)	3	2.88	1.04	0.21-3.04
Both sexes					
Thyroid	51 (40-67)	7	0.30	**23.33**	9.38-48.08*
Brain	53 (30-56)	5	0.51	**9.80**	3.18-22.88*
Kidney	53.5 (40-67)	2	0.79	2.53	0.31-9.15
Non-H Lymphoma	65.5 (61-70)	2	0.70	2.86	0.35-10.32
Liver	69 (66-72)	2	0.79	2.54	0.31-9.15
Colorectum	59 (41-86)	9	4.36	**2.06**	0.94-3.92
Stomach	56.5 (55-58)	2	1.27	1.57	0.19-5.69
Lung	59.5 (47-73)	4	3.40	1.18	0.32-3.01
Leukemia	57	1	0.26	3.80	0.09-21.43
Head & Neck	43	1	1.07	0.94	0.02-5.21
Melanoma	34	1	0.58	1.72	0.04-9.61
Urinary bladder	64	1	1.56	0.64	0.02-3.57
Men					
Prostate	75 (73-77)	2	4.33	0.46	0.06-1.67
Testes	15	1	0.07	14.25	0.35-79.6

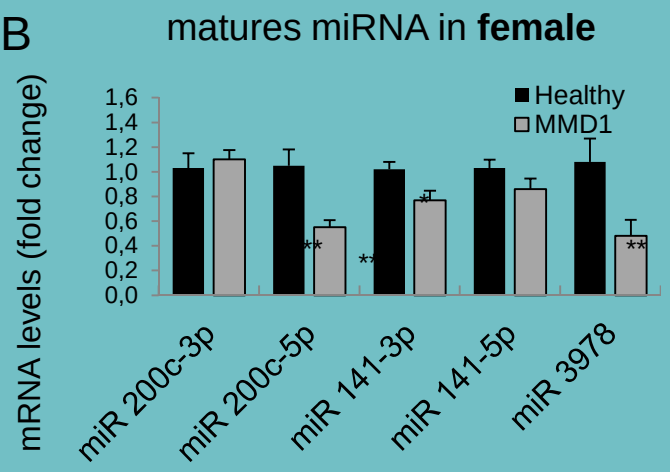
Fernández-Torrón R., García-Puga M., et al 2016

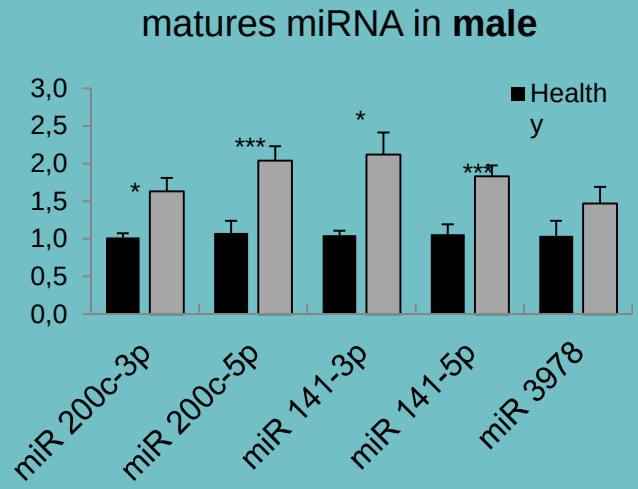
Implicación del clúster miR200c/141 en DM1

A



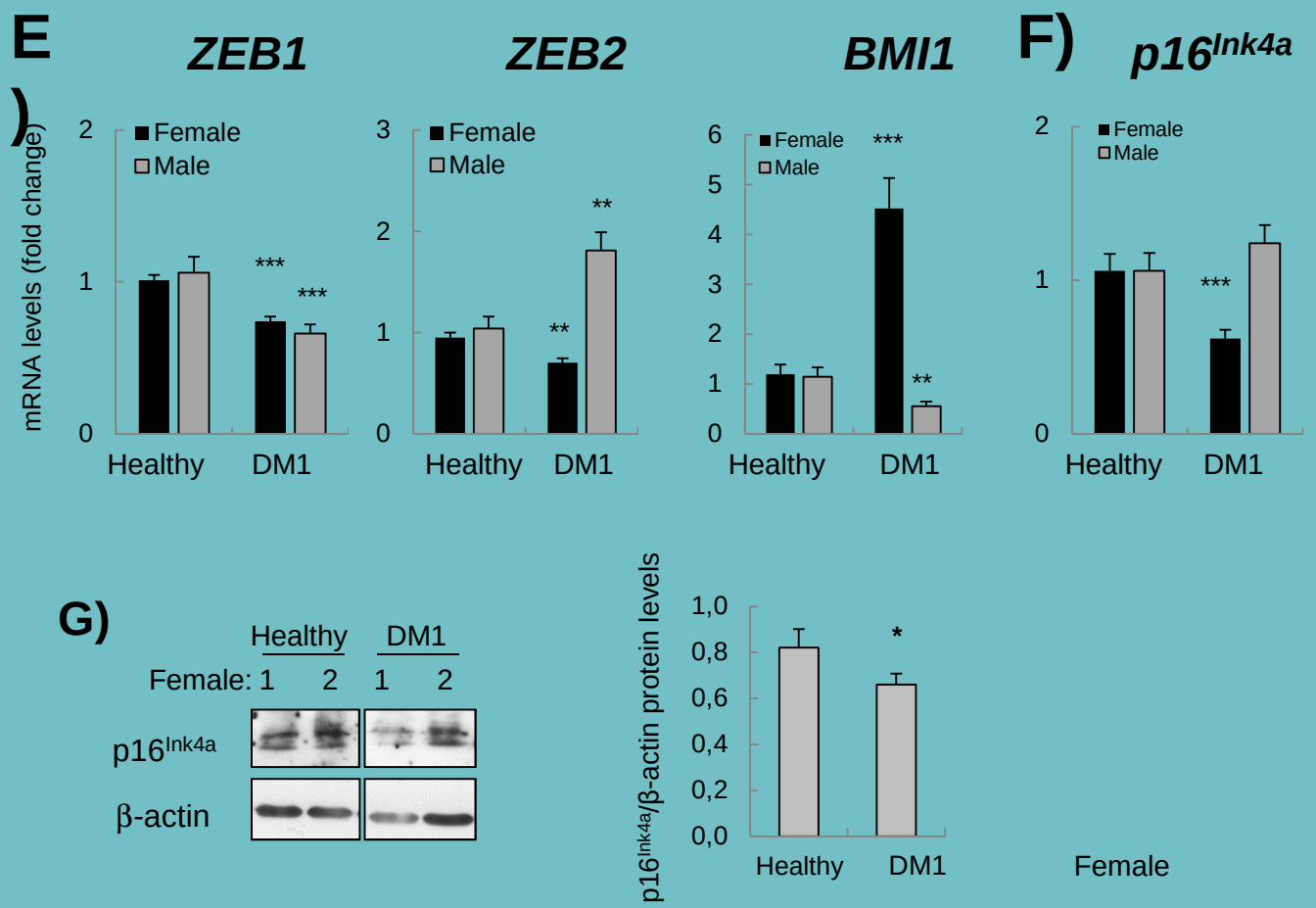
B





Fernández-Torrón R., García-Puga M., et al 2016

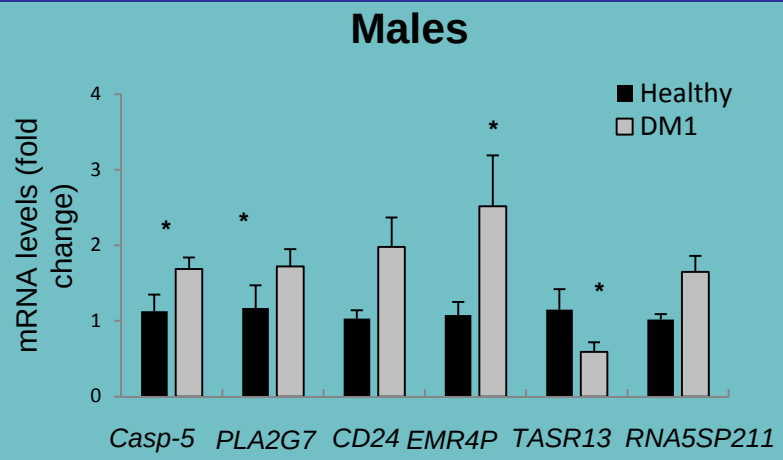
Implicación de las dianas del clúster miR200c/141 en DM1



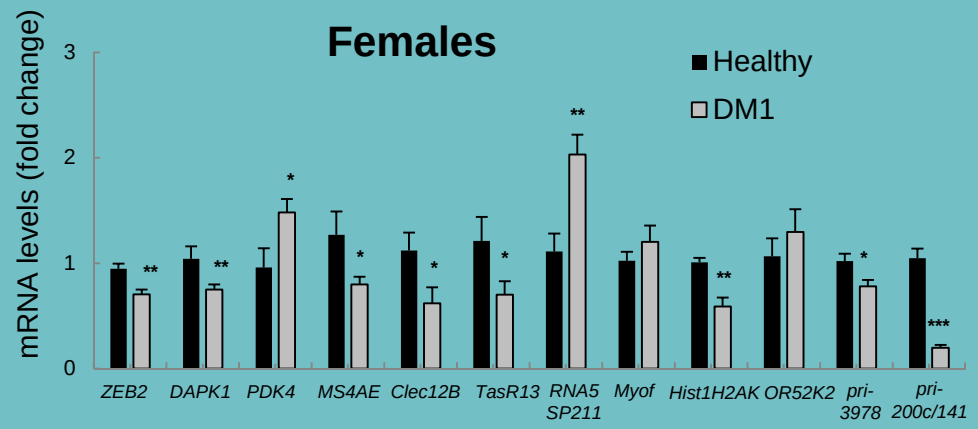
Fernández-Torrón R., García-Puga M., et al 2016

Validation of mRNA expression pattern in DM1 patients.

A)



B)



Fernández-Torrón R., García-Puga M., et al 2016

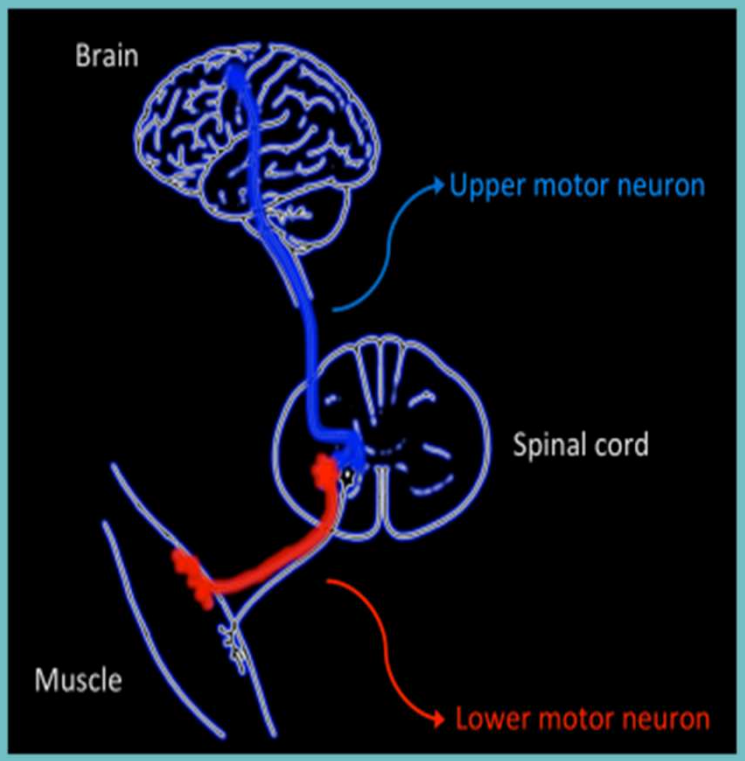
ESCLEROSIS LATERAL AMIOTROFICA

- **Enfermedad neuromuscular y neurodegenerativa rara**
  - Incidencia ≈ 2 : 100,000
  - Supervivencia 3-5 años
- **Clínica**
  - Pérdida progresiva de los movimientos voluntarios
  - Parálisis y fallo respiratorio
  - Afecta mayormente a personas entre 60 y 69 años
  - Tratamiento no efectivo - Riluzole

Rasgos Patológicos de la ELA

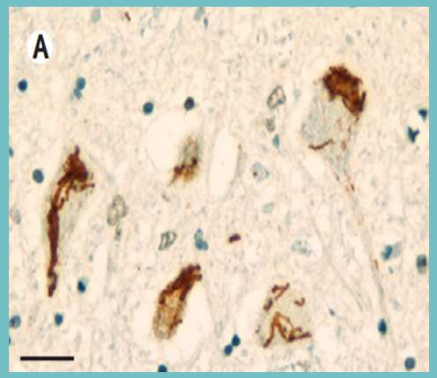
Enfermedad de Motoneurona

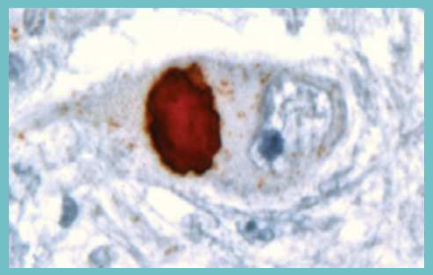
- Degeneración de **1ª y 2ª** motoneurona.



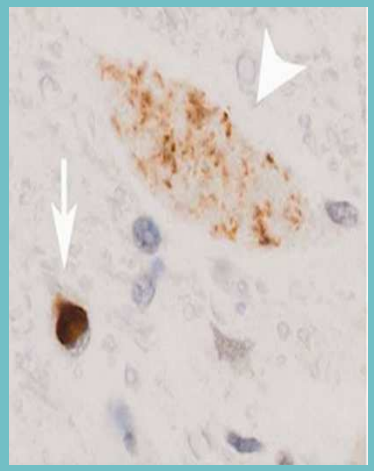
Proteinopatía

Presencia de **TDP-43** en agregados citoplasmáticos en motoneurona y glía



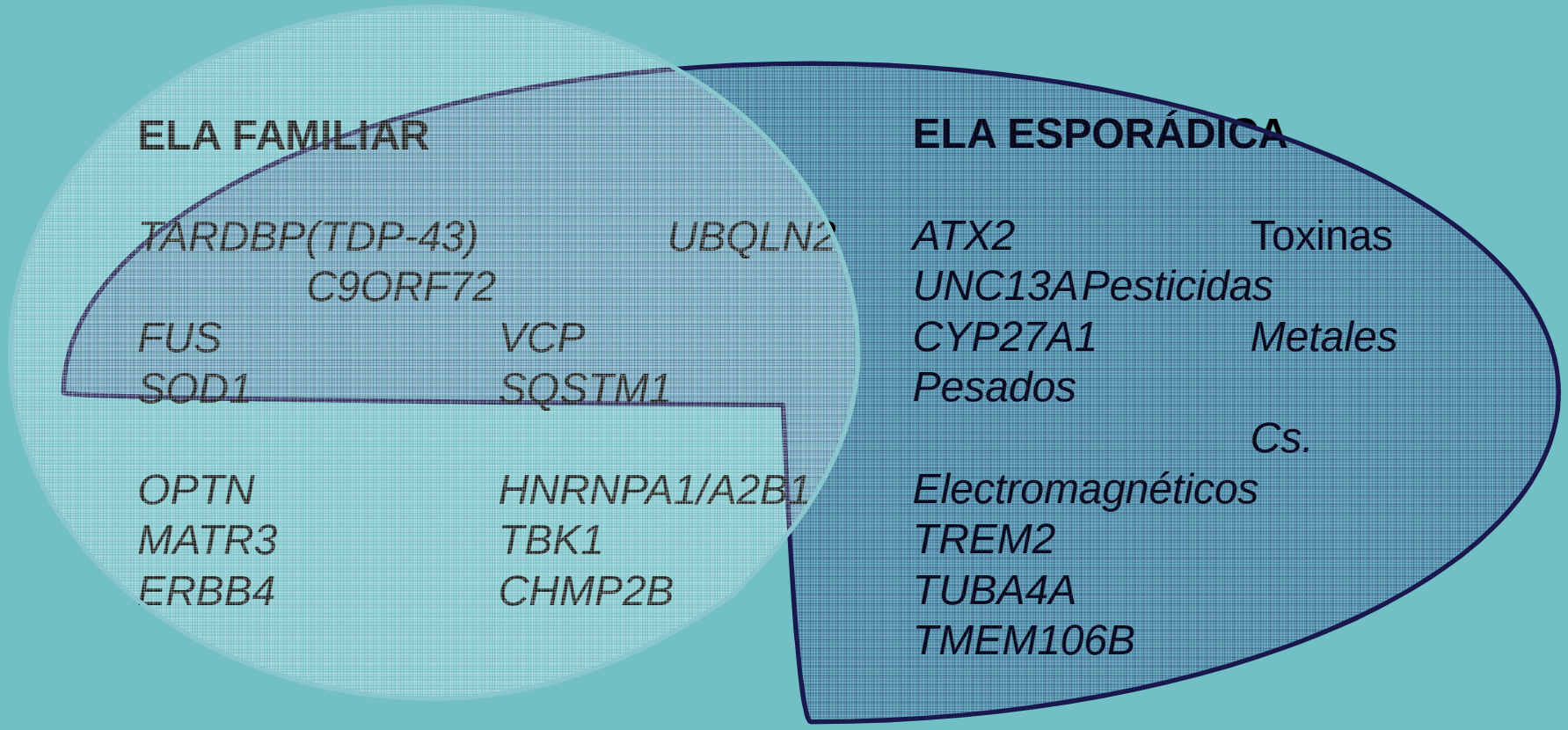


Mackenzie et al. *Lancet Neurol* 2010



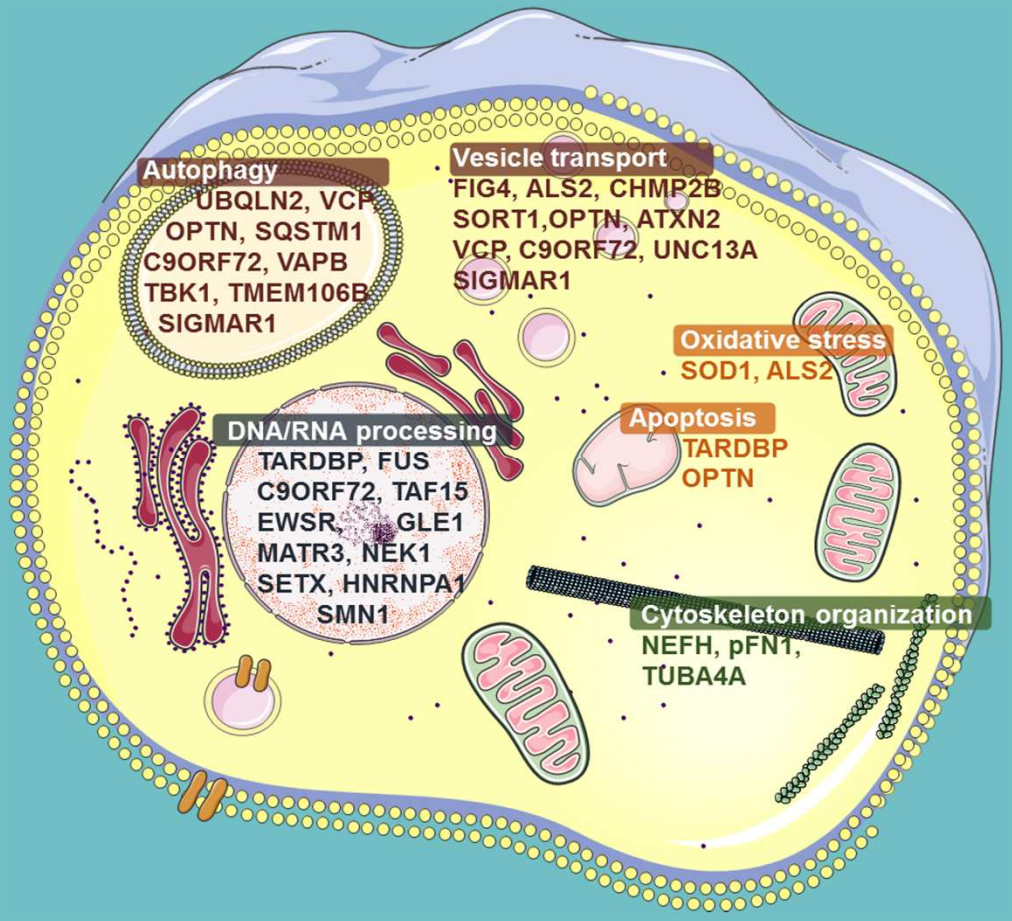
Philips et al. *Brain* 2013

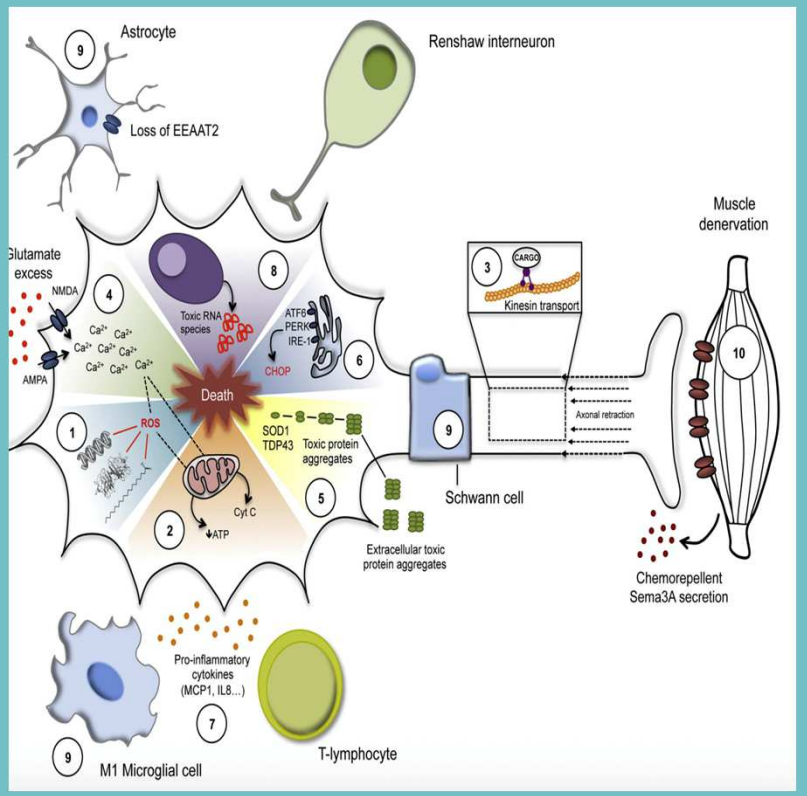
ETIOLOGÍA DE LA ELA



ETIOLOGÍA COMPLEJA Y HETEROGÉNEA!!!

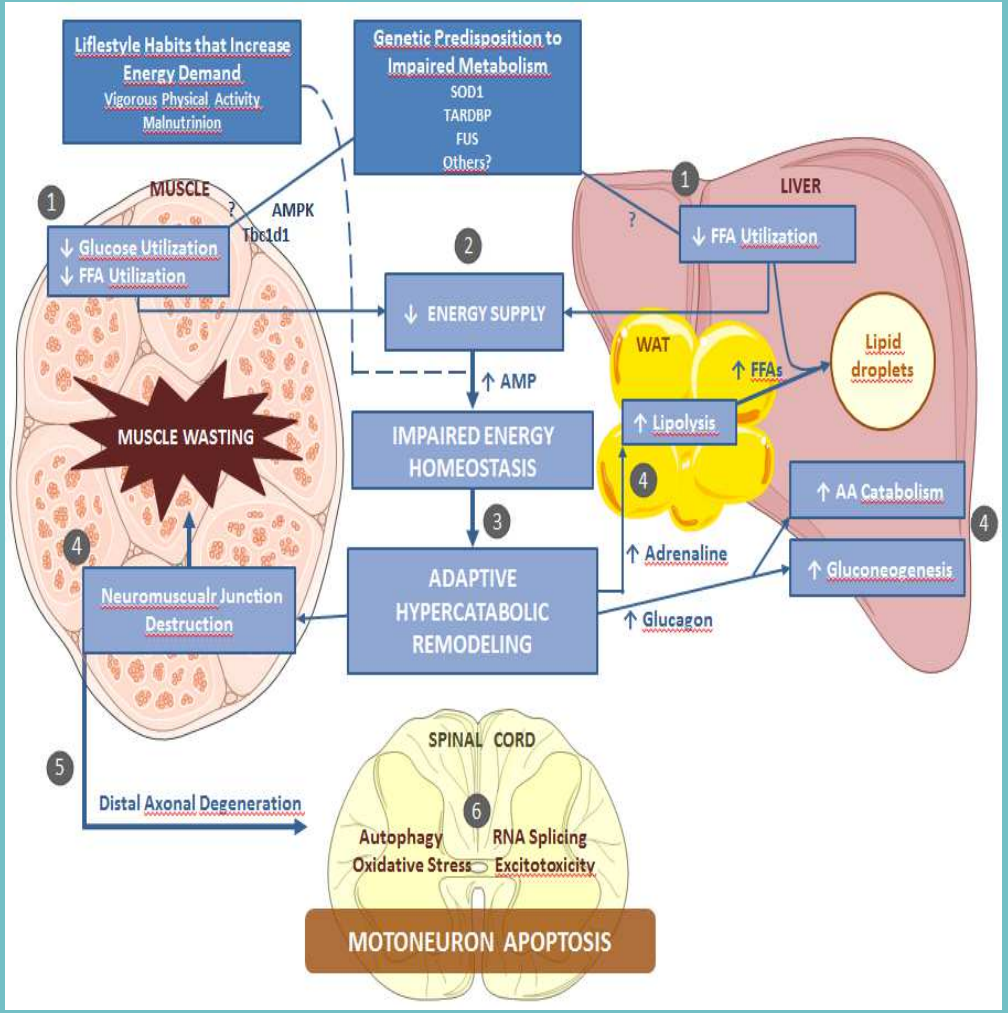
FUNCIONES CELULARES DE GENES ELA





Modificado de
Mancuso & Navarro, *Prog Neurobiol* 2015
Zufiría et al. *Prog Neurobiol* 2016

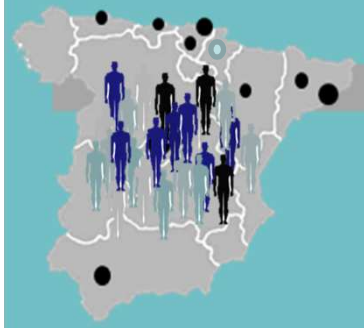
NUESTRO MODELO DE HIPOTESIS PARA EL ESTUDIO DEL SUSTRATO METABÓLICO EN LA ELA



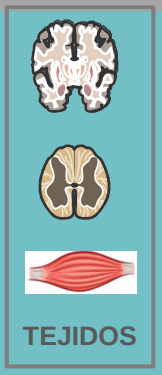
Modificado de
Zufiría et al. *Prog Neurobiol* 2016

PLAN DE TRABAJO

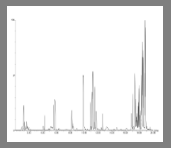
REDELA



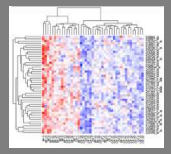
FLUIDOS



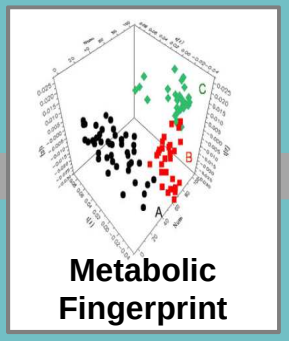
TEJIDOS



Metabolomics

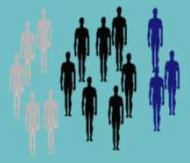


Transcriptomics



Metabolic Fingerprint

ALS Control

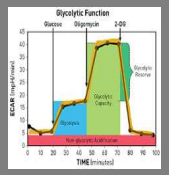


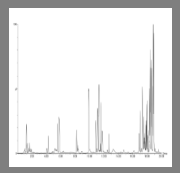
Survival <18m | Survival 18m-36m | Survival >36m

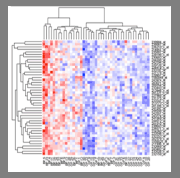
Rapid Progr. | Medium Progr. | Slow. Progr.

ZEBRAFISH MODEL
TDP-43 / FUS MUTATION

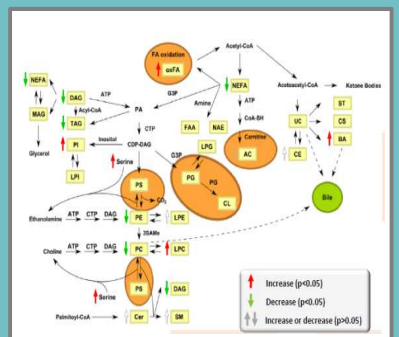
CELL MODELS
TDP-43 / FUS MUTATIONS







SeaHorse Transcriptomics | Metabolomics



Altered Metabolic Networks

COLABORACIONES

Vincent Mouly (Institut Myologie, París)
Tom Rando (Stanford University, USA
Melissa Spencer (UCLA), USA
Virginia Arechavala (Biocruces)
Angel Raya (CRB, Barcelona)
David Ortiz de Urbina (Onkologikoa, San Sebastián
JM. Aizpurua (Facultad de Química, UPV)
*JI. Miranda (*Facultad de Química, UPV)
A. Irastorza (Facultad de Química, UPV)
Xabier Navarro (Universidad Autónoma de Barcelona
Isabel Illa (Hospital Sant Pau, Barcelona)
Rita Perlingueiro (Univ. Minnesota, USA)
Yasuko Ono (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Japón
Javier Riancho, HU Marqués de Valdecilla, Santander
Javier Fernández-Ruiz (Universidad Complutense de Madrid)
Gonzalo González-Chinchón (HUA, Vitoria)
Isidre Ferrer (I. Bellvitge, Barcelona)
Eduard Soriano (universidad de Barcelona)

FINANCIACION

MARIE CURIE ACTIONS
Instituto de Salud Carlos III
ciberNed Centro Investigación Biomédica en Red Enfermedades Neurodegenerativas
Osakidetza
BioDonostia Instituto de Investigación Sanitaria
Gobierno de España Ministerio de Economía y Competitividad
Gipuzkoako Foru Aldundia
Eusko Jaurlaritza Gobierno Vasco
AFM Association Française contre les Myopathies
FUNDACIÓN MUTUAMADRILEÑA
fundación isabel gemio
Duchenne Parent Project
Asociación Duchenne Parent Project España
contra la distrofia muscular de Duchenne y Becker

MUCHAS GRACIAS A LAS PERSONAS E INSTITUCIONES QUE COLABORAN DESINTERESADAMENTE PARA AYUDARNOS A OBTENER TERAPIAS PARA LAS ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES Y A A LOS PACIENTES Y SUS FAMILIAS, FUENTE DE ESTIMULO Y ULTIMOS DESTINATARIOS DEL TRABAJO DE ESTE GRUPO