



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
LAMINOPATÍAS:
PAPEL DE LOS MECANISMOS DE CONTROL DE
CALIDAD

Autor: Paula Balboa Cadenas

Fecha: Julio 2020

Tutor: Carlos Guillen Viejo

ÍNDICE:

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. OBJETIVOS	4
4. MATERIAL Y MÉTODOS	4
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	4
5.1. <i>El núcleo y el concepto de lámina nuclear.</i>	4
5.2. <i>Farnesilación y función lámina nuclear</i>	6
5.3. <i>Proteínas asociadas a la lámina nuclear</i>	7
5.4. <i>Mutaciones</i>	9
5.5. <i>Clasificación y Fenotipos</i>	10
5.5.1. <i>Laminopatías musculares</i>	11
5.5.2. <i>Laminopatías del tejido adiposo</i>	12
5.5.3 <i>Laminopatías del sistema nervioso periférico</i>	13
5.5.4 <i>Fenotipo progeria</i>	14
5.5.5 <i>Mutaciones en poteínas asociadas a la lámina</i>	14
5.6. <i>Mecanismos de control de calidad</i>	14
5.6.1. <i>ERAD</i>	15
5.6.2. <i>NPC</i>	16
5.6.3. <i>ESCRT (endosomal sorting complexes required for transport)</i>	16
5.6.4 <i>mTOR (mammalian Target of Rapamycin, o diana de la rapamicina)</i>	17
5.6.5. <i>Papel de mTOR en laminopatías</i>	18
5.7 <i>Tratamiento</i>	19
6. CONCLUSIÓN	19
7. BIBLIOGRAFÍA.....	20

1. RESUMEN

Las laminopatías son enfermedades caracterizadas por una fuerte distrofia muscular, y por su naturaleza incapacitante que desencadena una importante pérdida en la calidad de vida de los individuos que las padecen. Son consideradas enfermedades raras, de carácter congénito y comienzo precoz, por lo que el grupo de riesgo predominante son los niños.

La revisión bibliográfica pretende profundizar en los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la aparición de estas enfermedades causadas por mutaciones en el gen LMNA, encargado de codificar proteínas de la lámina nuclear. Además, en las laminopatías, los mecanismos de control de calidad existentes están regulados inapropiadamente, por lo que es inviable garantizar la integridad de las membranas nucleares. La pérdida de estos mecanismos de control contribuye a la disminución de la función celular, relacionada con el envejecimiento, y a la acumulación de agregados tóxicos en orgánulos como el núcleo.

El tratamiento de elección en las laminopatías es la rapamicina, una posible terapia antienvjecimiento al modular procesos de autofagia y apoptosis. Por otra parte, la alternativa más común es el reposicionamiento de fármacos para intentar ganar tiempo de vida. A pesar de los avances, es importante averiguar cuál es la causa que desencadena el principal problema de estos pacientes, que parece ser la calidad en de los núcleos, para poder desarrollar un medicamento que cure las laminopatías y no se limite a reducir las manifestaciones clínicas que la enfermedad produce.

2. INTRODUCCIÓN

Para abordar este trabajo debemos empezar por delimitar el concepto de laminopatías. Las laminopatías son un grupo de enfermedades muy heterogéneas, producidas a consecuencia de mutaciones en el gen LMNA (lámina A/C) que codifica las láminas de tipo A y C. Estas láminas son proteínas de la membrana nuclear y están presentes en todas las células del organismo. En concreto, la existencia de mutaciones en las láminas u otras proteínas de la fibra muscular, dan lugar a laminopatías, enfermedades caracterizadas por una fuerte distrofia muscular. (1)

La peculiaridad de las laminopatías, que las convierte en un tema de estudio con gran interés para científicos e investigadores es que cuentan con un índice de prevalencia muy bajo, menor de 1/1.000.000 casos, por lo que podemos incluir las laminopatías dentro de las denominadas enfermedades raras, ER (2). Para ser considerada como tal, debe afectar a un número limitado de personas, concretamente a menos de 5 de cada 10.000 habitantes. Sin embargo, el conjunto de patologías poco frecuentes afectan a un gran número de personas, según la Organización Mundial de la Salud, existen cerca de 7.000 enfermedades raras que afectan al 7% de la población mundial. En casi la mitad de los casos, el pronóstico vital está en juego, ya que a las enfermedades raras se le puede atribuir el 35% de las muertes antes de un año, del 10% entre 1 y 5 años y el 12% entre los 5 y 15 años. (3), (4)

El principal interés que suscita la investigación de las enfermedades poco frecuentes y el objetivo de su estudio, es ampliar y verificar el conocimiento asentado actualmente sobre los mecanismos de acción, las afecciones en el organismo y su identidad congénita. Asimismo se establece como prioridad la capacidad de descifrar los iniciadores y promotores que causan las mutaciones en el gen LMNA para evitar y eliminar en la medida de lo posible su exposición.

Al tratarse las laminopatías de una enfermedad congénita de comienzo precoz, el grupo de riesgo predominante son los neonatos e infantes, observándose que dos de cada tres casos aparecen antes de los dos años de vida. A pesar de tratarse de una enfermedad de carácter congénito no debemos confundir y dar por supuesto su transmisión a los descendientes de las futuras generaciones, ya que se ha considerado la herencia como factor no relevante. Al igual que en la mayoría de las enfermedades raras, es característico de las laminopatías su aspecto crónico y degenerativo, además de ser muy graves e invalidantes. La mutación en el gen

LMNA origina una distrofia muscular congénita caracterizada por notable hipotonía axial, síndrome de cabeza caída, debilidad muscular, contracturas articulares, rigidez de la columna vertebral e insuficiencia respiratoria temprana. El desarrollo de déficit motor, sensorial o intelectual en la mitad de los casos, originan una discapacidad en la autonomía. También se han descrito arritmias cardíacas y muerte súbita. (2), (4)

Sin duda, uno de los principales problemas al que se enfrentan los pacientes, es la ausencia de un diagnóstico precoz debido a múltiples causas como son el desconocimiento que rodea a estas patologías, la dificultad de acceso a la información necesaria y la accesibilidad a profesionales o centros especializados. De hecho, en gran parte de los casos, esta demora diagnóstica priva al afectado de intervenciones terapéuticas, lo que conlleva en un 30% de los casos a un agravamiento de la enfermedad que podría haberse evitado o paliado previamente. (4)

Los denominados medicamentos huérfanos son el objetivo de la terapéutica en enfermedades raras. Sin embargo, la realidad demuestra que no son tantos los medicamentos realmente curativos ni los avances científicos. Además se debe justificar que la molécula propuesta para el tratamiento actúa de una forma biológicamente plausible, y que la enfermedad para la que será utilizada está por debajo de la prevalencia exigida para las ER en Europa. Este requisito de apariencia fácil supone una de las grandes dificultades, por esto es importante el desarrollo de estrategias metodológicas precisas que permitan estimar la prevalencia en Europa de las enfermedades para las que se esté investigando algún arma terapéutica. Otro de los obstáculos en la investigación de los medicamentos huérfanos es asegurar que la inversión es proporcional a los resultados en términos de coste-efectividad o coste-utilidad. (5)

3. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica que permita profundizar en el estudio de las laminopatías como enfermedades raras. Asimismo, evalúa la importancia de los mecanismos de control de calidad, que tienen lugar en el núcleo de las células sanas, para salvaguardar su integridad y función. Por otra parte, trata de determinar cómo la degeneración nuclear de los pacientes con laminopatías impide la protección de la viabilidad celular por parte de los mecanismos de control. Por último, pretende identificar los posibles tratamientos que prevengan o ralenticen la progresión de estas patologías.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología seguida para la realización de este trabajo de fin de grado ha consistido en una amplia revisión bibliográfica de artículos científicos de información rigurosa, contrastada y actualizada. Se han consultado diversas bases de datos como Medline (PubMed), Elsevier o Google académico, y otras fuentes de información como páginas webs y libros. Las palabras clave utilizadas para la búsqueda de información han sido las siguientes: "gen LMNA", "laminopatía", "distrofia", "autofagia", "mecanismos control calidad", "compartimentación nuclear"...

Por último, para la elaboración de la bibliografía se ha utilizado el programa informático Mendeley y una guía para la adecuada citación de las referencias bibliográficas según la metodología Vancouver.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. El núcleo y el concepto de lámina nuclear.

Como orgánulo definitorio de los eucariotas, el núcleo mantiene la identidad y el funcionamiento de la célula, y está delimitado por dos membranas concéntricas, la membrana nuclear interna y externa (INM y ONM), que juntas comprenden la envoltura nuclear (NE). Otro aspecto condicionado por la presencia de la lámina nuclear es la distribución de los poros nucleares, responsables de controlar el tránsito de moléculas entre el interior del núcleo y el citoplasma. (6)

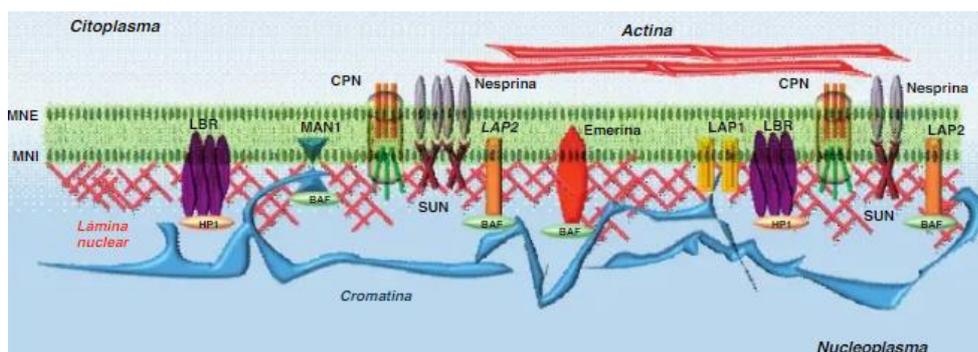
El gen que codifica las proteínas de las laminas (gen LMNA), puede verse afectado por mutaciones críticas en la viabilidad y vida útil de la célula. Es importante tener en cuenta que, estas perturbaciones genéticas o físicas (como el envejecimiento o enfermedades humanas) interrumpen el buen funcionamiento nuclear, pudiendo desarrollar finalmente una laminopatía. (6)

Con esto en mente, los estudios recientes están revelando mecanismos de control de calidad (QC) que salvaguardan la integridad y la función del NE, para proteger la viabilidad celular frente a un mal funcionamiento. (6)

Para entender la enfermedad, lo primero que debemos esclarecer es el concepto de lámina nuclear. La lámina nuclear, en las células eucariotas, es un entramado proteico estructural que separa la membrana interna del núcleo de la cromatina. En mamíferos tiene un espesor de 20 a 25 nm, y la posibilidad de una asociación tan íntima con la membrana interna de la envuelta nuclear es la existencia de al menos veinte proteínas localizadas en la misma (7). Dichas proteínas son denominadas laminas, y existen tres tipos (A, B, C), codificadas por 3 genes distintos. Sin embargo, al hablar de isoformas podemos dividirlos en dos, según su longitud y punto isoeléctrico: tipo A (láminas A y C, son la maduración alternativa del mismo gen LMNA que origina cuatro subtipos) y tipo B (láminas B1 y B2/3 también por procesamiento alternativo del mismo gen). (7)

Comenzaremos hablando de la lamina A y C, ya que son los principales productos que surgen como consecuencia del corte y empalme (splicing) a partir de un pre-ARNm del gen LMNA (localizado en la banda 1q22 del cromosoma 1). La unión entre proteínas conlleva a la formación de polímeros de 3,5 nm de diámetro, interconectados en una malla que se encuentra debajo de la envoltura nuclear; y además, las láminas A y C del nucleoplasma se encuentran unidas a proteínas relacionadas con la cromatina. Asimismo, la lamina A se transcribe y traduce como proteína precursora de la prelámina A, la cual desemboca en la producción de la lamina A madura. Por último, es importante saber que el gen LMNA a su vez, codifica la lámina A delta 10 y la lamina C2. Siguiendo con el estudio, la lámina B está presente en todas las células y se expresa por los genes LMNB1 y LMNB2, ubicados en las bandas cromosómicas 5q23 y 19q13, respectivamente. (7), (8), (9), (10) (11), (12)

Además, la membrana nuclear interna contiene un conjunto de proteínas transmembrana, entre las que se encuentra la MAN1, la proteína SUN, el receptor de la lamina B, el polipéptido asociado a la lamina tipo 1 (LAP1), el LAP2 y la emerina. Estas proteínas permiten la unión a la lamina nuclear, y con ella participan en la localización del núcleo, la organización de la cromatina, la transcripción genética, la regulación de la síntesis, y la respuesta al daño del ADN, la diferenciación y migración celular y la progresión del ciclo celular. (10)



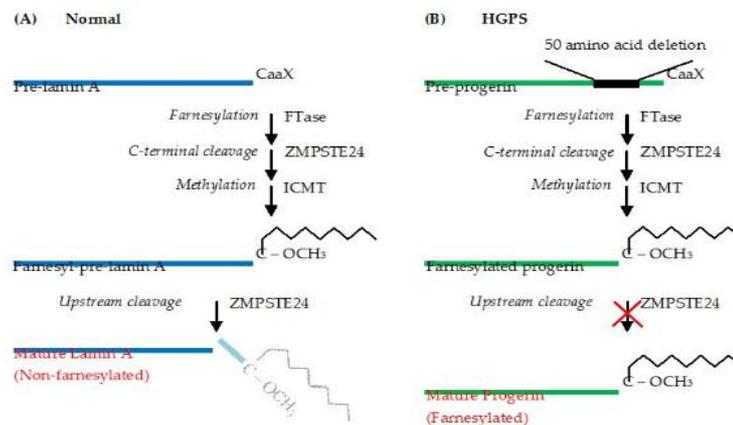
Representación esquemática de la envoltura nuclear con la presencia de la membrana nuclear externa (MNE) e interna (MNI) y los complejos de poros nucleares (CPN). En rojo, representación reticular de la lamina nuclear compuesta por laminas y asociada a proteínas transmembrana; receptor de la lamina B (LBR), antígeno MAN (MAN1), proteína SUN, proteína asociada a las laminas tipo 1 (LAP1) y 2 (LAP2), nesprina (en contacto con la actina citoplasmática) y emerina. En azul, en contacto con algunas de las proteínas transmembrana (LBR, MAN1, LAP1, LAP2, emerina) y con la lamina nuclear, se representa la cromatina. (8)

5.2. Farnesilación y función lámina nuclear

Para ahondar en otro aspecto que favorece la aparición de laminopatías debemos conocer el proceso de farnesilación. La farnesilación permite el anclaje entre las laminas y la membrana nuclear interna mediante la unión de una molécula de farnesilo al dominio globular C-terminal de la lamina nuclear (excepto en las laminas B), permitiendo así la formación de estructuras como dímeros, tetrámeros, filamentos, y por último, el retículo. En concreto, cada monómero de proteínas está formado por una cabeza globular en el extremo amino, una cola globular en el extremo carboxilo y un dominio central. Las cabezas o zonas globulares son las regiones de la proteína encargadas de interactuar con otros componentes celulares, la región central se organiza en una hélice alfa que permite a un monómero unirse a otro para formar dímeros. Dos de estos dímeros pueden asociarse entre sí de forma antiparalela mediante interacciones electrostáticas para formar tetrámeros. Los tetrámeros se asocian lateralmente para formar una estructura laminada de 8 tetrámeros, que se enrolla sobre sí misma, y se une en línea con otras para formar el filamento intermedio, que tiene como misión principal formar un entramado que da forma y aporta cohesión a la envuelta nuclear. (7), (13)

Además de los procesos de farnesilación, llevados a cabo por la enzima farnesil transferasa, la caja C-terminal de la lámina A (a diferencia de la lámina C, que no posee caja CaaX) sufre otros procesos de maduración, como por ejemplo la escisión de los últimos tres aminoácidos por la zinc metalopeptidasa (ZMPSTE24) y la carboximetilación por la enzima isoprenilcisteína carboxilo metiltransferasa (ICMT). A partir de entonces, la escisión adicional por ZMPSTE24 elimina los últimos 15 aminoácidos, produciendo así un péptido corto y una lámina A madura, poseedora de las funciones que determinan el buen funcionamiento nuclear y celular. (10)

A continuación, adjunto un esquema detallado (14) sobre el procesamiento posttraduccional de la prelámina A en condiciones normales (A) y en contraposición, por ejemplo la prelámina A truncada ("pre-progerina") en (B) HGPS. El sitio de escisión proteolítica (RSYLLG) se encuentra dentro de la región de 50 aminoácidos que se pierde debido a la mutación HGPS, y como resultado, la proteasa ZMPSTE24 no puede reconocer y realizar la escisión posterior. En consecuencia, una proteína truncada de la lámina A (es decir, progerina) permanece farnesilada, lo que tiene un efecto negativo dominante en HGPS al aumentar la afinidad por la membrana nuclear, causando así una interrupción en la integridad de la lámina. (15)



A pesar de las funciones trascendentales desempeñadas por la lámina A/C madura, igualmente debemos tener en consideración la prelámina A/C, la cual cobra especial relevancia por su implicación en mecanismos celulares de manera fisiológica y patológica. Como ejemplo de interés, podemos citar la modulación durante la respuesta al estrés, relacionada con la importación de factores de reparación del ADN o activación de enzimas de remodelación de la cromatina. Asimismo, sería la diferenciación miogénica en el reclutamiento de proteínas internas de la membrana nuclear SUN1, SUN2 y Samp1, necesarias para un posicionamiento mionuclear adecuado. Sin embargo, hay que tener presente que la acumulación de prelámina A/C en las células causa toxicidad que conduce a senescencia, así como al envejecimiento del organismo. (10)

Todos estos mecanismos están relacionados con la ocurrencia de un gran número de modificaciones posttraduccionales de la lámina, como fosforilación, sumoilación y acetilación, que influyen en la polimerización y

las interacciones de lámina con proteínas asociadas. Si nos centramos en la fosforilación laminar llevada a cabo por el complejo CDK1-ciclinaB (cuya actividad aumenta a lo largo del ciclo celular, durante la fase de mitosis), observamos por consecuencia que la lámina nuclear se disocia, y gracias a su desorganización permite a los microtúbulos tener acceso a los cromosomas. Tras la segregación de las cromátidas, las láminas son desfosforiladas, y eso promueve de nuevo el reensamblaje de la envoltura nuclear. (8), (10)

La lámina nuclear es una estructura de vital importancia al ser la encargada de múltiples funciones, como dar forma y tamaño al núcleo. Es importante saber que la forma nuclear cambia cuando cambia la expresión de las proteínas, lo cual es observable durante el desarrollo embrionario, la diferenciación celular o ciertas patologías celulares (como es el caso de las laminopatías). Por otra parte, las láminas tienen la función de regular la translocación de algunos factores de transcripción, incluido SREBP1, Oct-1, NRF2, y factor de transcripción A, y como ya hemos mencionado, influye en la organización de la cromatina a través de la unión a proteínas asociadas como BAF e histona desacetilasas, que veremos más adelante. (7), (10)

Por lo tanto, profundizando en nuestro campo de estudio, podemos decir que las deficiencias en las proteínas que forman la lámina nuclear producen laminopatías, las cuales presentan núcleos desorganizados y pueden llevar a la muerte celular o a la fragilidad de la envuelta nuclear. (10)

5.3. Proteínas asociadas a la lámina nuclear

En cuanto a las proteínas asociadas a la lámina nuclear, detallaremos tres de ellas que tienen especial relevancia, y continuaremos mencionando las secundarias.

- Entre las distintas proteínas asociadas a la lámina nuclear es fundamental el estudio de la emerina. En humanos está codificada por el gen EMD. Se ha observado que la emerina cuenta con una región hidrofóbica formada por colas terminales cargadas que tienen un papel imprescindible en el anclaje de la cromatina y del citoesqueleto a la envoltura nuclear, participando así en la localización del núcleo y en la regulación de la expresión génica. (16)

Se expresa altamente en las membranas del músculo cardíaco, esquelético y liso. En el músculo cardíaco específicamente, la emerina también se localiza en las uniones adherentes dentro de los discos intercalados, interviniendo en la mecanotransducción de la tensión celular y en la señalización de beta-catenina (proteína que se localiza tanto en el citoplasma como en el núcleo, y cuya función es la formación de uniones adherentes con las células adyacentes). En ensayos realizados con ratones deficientes de emerina (17), se observó que la proteína tiene una implicación fundamental en los mecanismos anteriormente mencionados. Por ejemplo, en la mecanotransducción; los ratones no lograron transducir las respuestas normales de expresión de genes mecanosensibles a estímulos de tensión y los cardiomiocitos mostraron una redistribución de beta-catenina, así como una arquitectura de disco intercalada, perturbada. (18), (19). En humanos, las mutaciones en la emerina causan distrofia muscular de Emery-Dreifuss, enfermedad recesiva y hereditaria ligada al cromosoma X. No está muy claro cómo la falta de esta proteína produce los signos y síntomas de la enfermedad, caracterizada por debilidad muscular, miocardiopatía dilatada y anomalías de la conducción cardíaca que pueden llegar hasta el bloqueo cardíaco completo.

Además, investigaciones recientes han encontrado que la ausencia de emerina puede disminuir la infectividad del VIH-1 (inmunodeficiencia humana tipo 1). En el proceso, el ADN viral complementario atraviesa la envoltura nuclear para integrarse dentro de la cromatina, y dada su íntima asociación con la envoltura nuclear, se piensa que el VIH-1 se apropia de los componentes de la envoltura durante la infección. En la infección de los macrófagos que carecen de emerina, la integración del virus VIH-1 en la cromatina del huésped fue ineficiente, y la conversión de ADNc viral en ADNc no funcional aumentó. Por lo tanto, la interacción del DNAc viral con la

cromatina depende de la emerina y se especula que los pacientes que padecen distrofia muscular de Emery-Dreifuss pueden mostrar un patrón de infección irregular al VIH1. (18), (20)

- Otra proteína importante es la nesprina (SYNE), la cual pertenece a una familia de proteínas que se encuentran principalmente en la membrana nuclear externa, así como en otros compartimentos subcelulares. Es uno de los componentes del complejo LINC (Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton) y forma una red de enlace entre la lamina nuclear y el citoesqueleto de actina para mantener la organización espacial subcelular. Las interacciones nucleocitoplasmáticas establecidas por el complejo LINC juegan un papel importante en la transmisión de fuerzas mecánicas y en el movimiento y posicionamiento nuclear. (21)

Existen varias isoformas, observamos que la nesprina es mayormente citoplasmática, mientras que su parte C-terminal está asociada con la envoltura nuclear. Se encuentra una cantidad significativa de nesprina en los sarcómeros del músculo esquelético, liso y en los mioblastos. Además, está implicada en la unión núcleo-centrosoma y en la migración nuclear en progenitores neurales que implican la asociación del complejo LINC con SUN1 /2. Sin embargo, SYNE2 y SUN2 se ensamblan en conjuntos de líneas nucleares asociadas a actina transmembrana (TAN) que están unidas a cables de actina F y acoplan el núcleo al flujo de actina durante el movimiento nuclear dependiente de actina. (21), (22)

En relación con las laminopatías, la deficiencia en nesprina-1 se asocia con la Distrofia muscular de Emery-Dreifuss 4 (EDMD4), mientras que la deficiencia en nesprina-2 se relaciona con la Distrofia muscular de Emery-Dreifuss 5 (EDMD5). (21), (22)

- La mayoría de las proteínas que contienen dominios SUN, están involucradas en el posicionamiento del núcleo en la célula. Se cree que los dominios SUN interactúan con los dominios KASH en el espacio entre las membranas nucleares externas e internas para tender un puente sobre la envoltura nuclear y transferir la fuerza del nucleoesqueleto al citoesqueleto. (23), (24)

Las mutaciones en las proteínas SUN y KASH contribuyen a enfermedades humanas como distrofia muscular, progeria y cáncer. Si nos centramos en SUN1, su ausencia suprime las patologías de enfermedades asociadas con defectos en la lámina A, por ejemplo en modelos de ratón para la distrofia muscular de Emery-Dreifuss o el síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford. Se observaron resultados similares en pacientes con progeria tratados con RNAsi contra Sun1. Por lo tanto se demostró que las proteínas SUN contribuyen a la progresión de las laminopatías. (24), (25)

Se desconocen los mecanismos de cómo las proteínas SUN contribuyen a las laminopatías, pero se proponen varios modelos. El primero sostiene que mutaciones en la lámina A conducen a núcleos menos rígidos, lo que sugiere que la presencia de Sun1 conduciría a más fuerzas de tracción en la envoltura nuclear y, por lo tanto, más daño a un núcleo debilitado. El otro modelo es que las mutaciones en las laminas, y quizás las proteínas SUN, conducen a patrones de transcripción alterados. Un modelo alternativo es que las mutaciones en la lámina A conducen a la sobreexpresión de Sun1 y a su acumulación, lo que conduce a la toxicidad. El modelo más nuevo plantea que la sobreexpresión de Sun1 en mutantes de lámina A causa toxicidad al inducir hiperactividad en la respuesta al daño del ADN.

- Los antígenos MAN son polipéptidos reconocidos por autoanticuerpos de un paciente con una enfermedad vascular del colágeno, y localizados en la envoltura nuclear. El análisis de la secuencia de proteínas revela que MAN1 comparte un dominio globular (denominado módulo LEM) con otras proteínas de membrana nuclear interna como LAP2 y emerina. (26)
- Otra de las proteínas que encontramos asociada a la lámina nuclear es BAF (factor de barrera a autointegración) que desempeña funciones fundamentales en el ensamblaje nuclear, la expresión génica y el desarrollo de gónadas. Cobra especial interés en la organización de la cromatina, la cual es capaz de comprimir potentemente, y participa en el reclutamiento de la membrana y también en la descondensación de la cromatina durante el ensamblaje nuclear. Se requiere sus funciones tanto en la mitosis como en la interfase del ciclo

celular. Su disrupción provocaría anomalías específicas en la estructura nuclear interfásica y aglomeraciones de cromatina. (27)

- Las histonas deacetilasas (HDAC) son un tipo de enzimas implicadas en la eliminación de los grupos acetilo de las histonas. Las histonas son proteínas que junto al ADN forman los nucleosomas de la cromatina, la cual se encarga de compactar y organizar el ADN dentro del núcleo. Por lo tanto, al suprimir dichos grupos acetilo, que presentan carga negativa, la carga positiva de las histonas se evidencia y, por tanto, se aumenta la afinidad de éstas por el ADN. Este incremento de la unión condensa la estructura del ADN, impidiendo la transcripción. (28)
- El receptor de la lamina B (LBR) es otra proteína localizada en la membrana interna de la envoltura nuclear y el gen que lo codifica es miembro de la familia de la esterol-reductasa. Se encarga de anclar la lámina y la heterocromatina a la membrana, además de mediar en la interacción entre la cromatina y lámina B. (29)

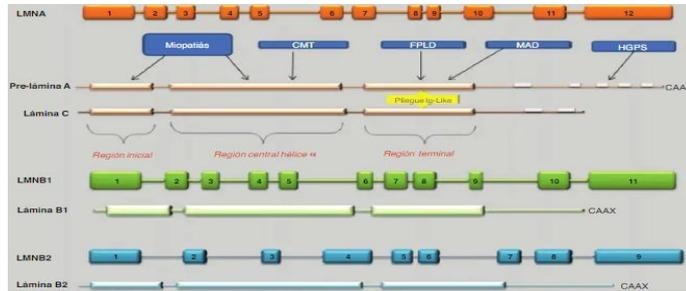
Se ha sugerido que las mutaciones homocigotas del gen LBR conducen a fenotipos leves (PHA en homocigosis), o graves (displasia esquelética de Greenberg), basándose en la heterogeneidad alélica. En el caso de la displasia esquelética HEM/ tipo Greenberg, se observa que las mutaciones se transmiten por herencia autosómica recesiva, y se asocia con anomalías en la biosíntesis del colesterol. Tan sólo hay notificados 10 casos de esta enfermedad en el mundo. Por otro lado, la anomalía de Pelger-Huët (PHA) se caracteriza por la presencia de cromatina con una estructura anómala y las mutaciones en el LBR se transmiten de modo autosómico dominante. (29)

- La proteína asociada a las laminas tipo 1 (LAP-1) parece estar involucrada en el mantenimiento de la estructura de la envoltura nuclear y en el posicionamiento de las laminas y la cromatina. Por otra parte, LAP-2 está implicada en diferentes vías de señalización que equilibran la proliferación y diferenciación celular, la homeostasis de los tejidos y la estabilización de la cromatina. Mutaciones en estas proteínas se vinculan con distrofias musculares y síndromes de envejecimiento prematuro. (30)
- Las proteínas MOK2 (también conocidas como ZNF239), son proteínas que pueden reconocer tanto el ADN como el ARN a través de sus dedos de zinc. Se asocian principalmente con componentes nucleares de ribonucleoproteína, incluidos los nucléolos y las estructuras extranucleolares, e interactúan con el gen LMNA. (32)
- La Cisteína-glutamato ligasa (CGL) es la proteína enzimática encargada de la síntesis de glutatión (GSH), el cual es fundamental para la supervivencia celular por su capacidad antioxidante y por prevenir el estrés oxidativo. El recorte genético de la expresión de GCL se traduce en mortalidad embrionaria, y la desregulación de la función enzimática estar involucrada en la mayoría de las enfermedades, como diabetes, Parkinson, Alzheimer, EPOC, VIH/SIDA y cáncer. (33)
- Las proteínas 1 de heterocromatina (HP1) son las unidades fundamentales del empaque de heterocromatina, y tiene funciones muy importantes en el núcleo celular, por ejemplo la represión génica por formación de heterocromatina, el mantenimiento de la integridad de la heterocromatina y la reparación de ADN. Haciendo referencia a esta última, las isoformas HP1 se reclutan en los sitios dañados del ADN (por rayos UV, daños oxidativos o roturas). (34)
- El factor de crecimiento transformante beta 2 (TGFB2) es una proteína de la familia de las citocinas que regula la proliferación y diferenciación celular, y tiene un papel esencial en el desarrollo embrionario. Además está involucrado en la cicatrización de heridas, en la formación del tejido óseo y en la modulación de las funciones inmunes. (35)

5.4. Mutaciones

Las laminopatías más frecuentes están las localizadas en el gen LMNA, que es el gen más mutado, lo que supone más de 330 enfermedades en total. Este gen incluye una región inicial, una hélice 1A y un dominio de inmunoglobulina (Ig). No obstante, se pueden producir mutaciones en el gen LMNB1, que dan lugar a

duplicaciones. Esta transformación conlleva a la aparición de leucodistrofia autosómica dominante. Por otro lado, la variación del gen LMNB2 supone una laminopatía del tipo lipodistrofia parcial adquirida. Asimismo, podemos encontrar múltiples mutaciones que afectan a las proteínas asociadas a las láminas, por ejemplo la emerina, nesprina 1, nesprina 2 y LBR. (36)



Representación esquemática de los genes codificantes para laminas LMNA, LMNB1 y LMNB2 y prelámina A. Señalización de las regiones alteradas de la proteína para diferentes patologías. Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth tipo 2B1 (CMT), lipodistrofia parcial familiar tipo 2 o de Dunningham (FPLD), displasia mandibuloacral con lipodistrofia tipo A (MAD), síndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS). La región central presenta gran conservación, mientras que las regiones inicial y terminal son variables. El residuo terminal CAAX es una señal para la farnesilación. Bajo condiciones fisiológicas y en laminopatías musculares, la prelámina A es apenas detectable debido a la rápida maduración de la lamina A. En las laminopatías progeroides, los niveles de prelámina A aumentan. En HGPS, la prelámina A truncada (progerina) es acumulada debido a un defecto de empalme. (36)

5.5. Clasificación y Fenotipos

La clasificación de las laminopatías atiende a varios aspectos. Según qué estructura sea la afectada, podemos dividir las laminopatías en primarias y secundarias. Las primarias son aquellas cuya afectación se produce directamente sobre la lámina nuclear, por ejemplo sobre el gen LMNA, que por maduración alternativa forma la lamina A/C. Por otro lado, en las laminopatías secundarias, destaca el deterioro de las proteínas asociadas a la lámina, es el caso de la emerina, la nesprina... (36)

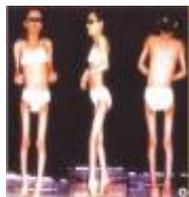
Tabla 1
Laminopatías por alteración de los genes LMNA, LMNB1* y LMNB2**

Tejido muscular estriado
Distrofia muscular Emery-Dreifuss autosómica dominante y recesiva ^{11,58}
Miocardopatía dilatada tipo 1A ²⁰
Miocardopatía dilatada tipo 1A con hipogonadismo hipergonadotropo ^{21,59}
Distrofia de cinturas tipo 1B ¹⁹
Distrofia muscular congénita ⁶⁰
Síndrome «corazón-mano» ⁶¹
Tejido adiposo
Displasia mandibuloacral asociada a lipodistrofia tipo A ²⁵
Lipodistrofia parcial familiar tipo Dunningan ⁶²
Lipodistrofia con diabetes/resistencia a la insulina ⁶³
Lipodistrofia parcial adquirida ¹³
Síndromes atípicos de lipodistrofia ²³
Sistema nervioso
Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth tipo 2B1 ²⁹
Leucodistrofia autosómica-dominante del adulto ³¹
Fenotipo progeria*
Síndrome Hutchinson-Gilford progeria ²²
Síndrome de Werner atípico ⁶⁴
Displasia mandibuloacral asociada a lipodistrofia tipo A ²²
Otros síndromes de envejecimiento precoz ⁶⁵

Según la afectación tisular, las laminopatías pueden clasificarse en sistémicas o localizadas. Las laminopatías sistémicas tienen en común la presencia de envejecimiento prematuro y la afectación generalizada, como es en el caso de la progeria. Dentro de las localizadas, a diferencia de las sistémicas, se encuentra perjudicado un tejido específico. Se han descrito alteraciones en el músculo estriado, esquelético y cardíaco, en el sistema nervioso central y periférico, en el tejido adiposo, óseo y en la piel. Un ejemplo de este modelo sería la miocardopatía dilatada (36). Sin embargo, es frecuente encontrar formas mixtas y cuadros de superposición de fenotipos que mezclan patrones de resistencia a la insulina, de envejecimiento prematuro y de afectación ósea o muscular, por ejemplo la displasia mandibuloacral con lipodistrofia tipo A (MAD). (36)

5.5.1 A continuación, se explican las **laminopatías musculares**, en las que está profundamente afectada la vía molecular controlada por mTOR como consecuencia de la tensión mecánica a la que están sometidas las células del músculo cardíaco y esquelético. Estas células presentan una cantidad alta de desechos, ROS y moléculas tóxicas, especialmente en pacientes afectados de laminopatías, debido a la reducción de la plasticidad nuclear y a la pérdida del receptor ROS de la lámina nuclear que no los puede neutralizar. (10)

- Distrofia muscular de Emery-Dreifuss autosómica dominante y recesiva (DMED): En la EDMD existen tres formas de transmisión hereditaria la autosómica dominante, la autosómica recesiva y la ligada al cromosoma X, y justifican el 50% de los casos diagnosticados. La causa de la enfermedad son mutaciones en los genes que codifican proteínas de la envoltura nuclear, asociando la mayor parte al gen EMD, que codifica la emerina, proteína esencial en el funcionamiento del músculo cardíaco y esquelético por ligar el centrosoma al núcleo en la interfase. Por otro lado, la forma menos común de esta distrofia corresponde a mutaciones en el gen LMNA, que codifica dos proteínas muy similares, las láminas A y C. (16), (36)



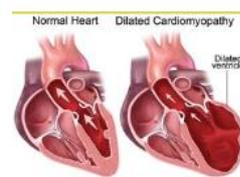
El principal signo es una miopatía degenerativa que afecta al músculo estriado, esquelético y cardíaco. La clínica comienza en la primera década de la vida y cursa con atrofia y debilidad muscular, contracturas precoces en codos, tobillos, tendones de Aquiles y zona posterior cervical y miocardiopatía dilatada. La cardiopatía, que se inicia con trastornos de la conducción y se sigue de fracaso ventricular, es progresivamente limitante y causa la muerte del paciente. Los únicos tratamientos disponibles en la actualidad se basan en la fisioterapia muscular, la implantación de desfibriladores para los trastornos de conducción y el trasplante cardíaco para el fracaso ventricular. (36)

La mutación heterocigótica en el gen LMNA provoca EDMD2 (Emery-Dreifuss distrofia muscular 2) de carácter autosómico dominante, sin embargo la mutación homocigota en el gen LMNA causa EDMD3, de carácter recesivo. También se identificaron mutaciones en los genes que codifican la nesprina (SYNE1 y SYNE2), en pacientes con EDMD4 y EDMD5, respectivamente. Los fibroblastos de estos pacientes mostraron defectos nucleares similares que los descritos en pacientes con mutaciones en los genes LMNA y EMD, lo que indica que la pérdida de nesprina se asocia a todas las formas de EDMD. (1)

La distrofia muscular de cinturas asociada a defectos de la conducción cardíaca (LGMD1B) y la distrofia muscular congénita (MDCL) presentan superposición fenotípica con la EDMD. La primera se hereda de forma autosómica dominante y la MDCL se manifiesta en el primer año de vida y se asocia con envejecimiento precoz. (36)

- Miocardiopatía dilatada tipo 1A (CMD-1A): La CMD-1A tiene patrón de herencia autosómico dominante, que generalmente se presenta en la segunda o tercera década de la vida. Esta enfermedad está causada por una mutación heterocigótica en el gen LMNA.

Se caracteriza por la presencia de dilatación cardíaca y función sistólica reducida, hipertrofia, arritmias, y finalmente paro cardíaco. (36) Representa más de la mitad de todos los trasplantes cardíacos realizados en pacientes entre 1 y 10 años de edad. Como prevención primaria de la muerte súbita en pacientes con miocardiopatía debido a mutaciones genéticas en el gen LMNA se investigaron la eficacia de los desfibriladores automáticos implantables (DAI). (1)



- Síndrome corazón-mano: El síndrome corazón-mano es un síndrome infrecuente que se asocia a miocardiopatía congénita con deformidad de las extremidades y es producido por una transversión en el intrón 9 del gen LMNA (cambio de un nucleótido por otro de distinta clase, purina por pirimidina o viceversa). Este hecho, conocido como transversión, provoca una traducción de proteínas diferente al cambiar la composición de los codones leídos de la secuencia del ADN. (36)

La enfermedad cursa con miocardiopatía dilatada, conducción sinoauricular y auriculoventricular progresiva en la edad adulta, muerte súbita debido a taquiarritmia ventricular, y un tipo único de braquidactilia con afectación leve de las manos y pie. Los cambios en las manos incluyeron falanges cortas y clinodactilia; los cambios en el pie incluyeron falanges cortas o ausentes, huesos metatarsianos cortos, sinfalangismo terminal, huesecillos extra y sindactilia. (1)



5.5.2 Otro de los tejidos afectados en las laminopatías es el **tejido adiposo** como ocurre en las enfermedades descritas a continuación.

- **Displasia mandibuloacral asociada a lipodistrofia tipo A (MADA):** Esta enfermedad se transmite de forma autosómica recesiva, a consecuencia de una mutación en homocigosis o en heterocigosis compuesta -mutación en 2 alelos diferentes del mismo locus- en el gen LMNA (36). Existe otra variante, la displasia mandibuloacral asociada a lipodistrofia tipo B (MADB) que a diferencia de la anterior, está causada por una mutación en el gen ZMPSTE24. (10)

Este síndrome se relaciona con la progeria debido a la similitud de sus síntomas, como por ejemplo la alopecia y la baja estatura. Sin embargo, los signos más característicos de pacientes con MADA cursan con retraso en el crecimiento y con anomalías craneofaciales con hipoplasia clavicular y mandibular (que produce apiñamiento dental severo). También se observan cambios en la pigmentación de la piel, alteraciones esqueléticas con osteolisis distal de las falanges y clavículas, y una distribución anormal de la grasa subcutánea, que desaparece en extremidades y aumenta en el cuello y tronco. Asimismo, es importante percatarse de la delgadez de los huesos craneales y de que las fontanelas y suturas anteriores están todavía abiertas. Además, pueden surgir complicaciones metabólicas debido a la resistencia a la insulina y la diabetes. (1), (36)



- **Lipodistrofia parcial familiar, Dunningan (FPLD):** Esta lipodistrofia es causada por una mutación heterocigótica en el gen LMNA, que codifica la lamina A/C. La herencia sugerida al comienzo fue la de dominante ligada al cromosoma X, pero a continuación se observó que obedecía claramente a los patrones de herencia autosómica dominante. Los análisis de los adipocitos de pacientes con FPLD2 revelan defectos en la heterocromatina periférica y una acumulación de prelámina A en la envoltura nuclear.

Estos hechos provocan un trastorno metabólico caracterizado por una distribución anormal del tejido adiposo subcutáneo que comienza en la infancia tardía o en la vida adulta temprana. Las personas afectadas pierden gradualmente grasa de las extremidades superiores e inferiores y las regiones glútea y troncal, lo que resulta en una apariencia muscular con venas superficiales prominentes. En algunos pacientes, el tejido adiposo se acumula en la cara y el cuello, causando una papada, cuello gordo o apariencia relacionada con el síndrome de Cushing. Las anomalías metabólicas incluyen diabetes mellitus resistente a la insulina, hipertrigliceridemia y descenso de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). (10) (36)

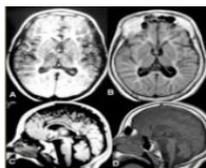
5.5.3 También observamos afectación en el **sistema nervioso periférico**, por ejemplo en las enfermedades expuestas a continuación.

- **Enfermedad Charcot-Marie-Tooth tipo 2B (CMT2B1):** El sistema nervioso periférico está afectado en la enfermedad CMT2B1, provocada por una mutación homocigótica en el gen LMNA de la lámina A/C. Esta laminopatía sugiere una transmisión autosómica recesiva y constituye un grupo de neuropatías motoras y sensoriales que se divide en 2 tipos: tipo 1, la forma desmielinizante, caracterizada por una velocidad de conducción nerviosa menor; y tipo 2, la forma axonal, con una velocidad de conducción nerviosa normal. (1)

La enfermedad comienza a manifestarse en la segunda década de vida con debilidad y atrofia de la musculatura de las extremidades inferiores asociada a arreflexia, dolor neuropático y con la disminución o pérdida de la sensibilidad en piernas y pies, que posteriormente afectará también a manos y brazos. El signo que caracteriza principalmente a la enfermedad CMT es la deformidad de los pies, como la presencia de arcos muy pronunciados y dedos en martillo. Esto supone gran dificultad a la hora de caminar y al flexionar el talón, lo que provoca el pie caído. (36), (1)



- Leucodistrofia autonómica-dominante adulto (ADLD): La leucodistrofia autosómica dominante del adulto (ADLD) es originada por mutaciones en el gen LMNB1 que codifica la lamina B1 y cuya sobreexposición estar implicada en el desarrollo de la enfermedad. La clínica progresa de forma lenta desde la cuarta o quinta década de vida, e incluye la afectación cerebelosa (ataxia de la marcha, nistagmo, dismetría, temblores de acción) y piramidal desautosómica (espasticidad, debilidad de las extremidades, hiperreflexia). Estos síntomas son consecuencia de una pérdida progresiva de la mielinización del sistema nervioso central, provocando en última instancia la muerte. (36)



5.5.4 Existe otro fenotipo denominado **fenotipo progeria**, en el que encontramos dos enfermedades muy características.

- Síndrome Hutchinson-Gilford progeria (HGPS): El síndrome HGPS es un trastorno congénito letal, caracterizado por la aparición prematura de envejecimiento acelerado en niños. Los pacientes tienen una mutación de herencia autosómica dominante en el alelo paterno del gen LMNA, en el que se sustituye una citosina por una timina. Aunque aparentemente se trata de una mutación silenciosa (es decir, sin cambios en el aminoácido), causa un empalme de ARNm aberrante, lo que conduce a la producción de una proteína pre-lamina A truncada llamada progerina. (37)



Su clínica es apreciable el primer año de vida y cursa con piel esclerótica, ojos prominentes, alopecia, depleción de la grasa subcutánea, vascularización subcutánea realzada y retraso del crecimiento, pero sin defectos en las capacidades mentales e intelectuales. Otras características evidentes son cabeza desproporcionadamente grande, baja estatura y bajo peso, lipodistrofia, osteolisis, nariz gílfica, micrognatia (mandíbula pequeña) y rasgos faciales que se asemejan a personas de edad avanzada. El compromiso cardiovascular es lo que conduce a la muerte prematura. Sorprendentemente, la progerina también se encuentra al aumentar la edad en individuos sanos, lo que sugiere un mecanismo genético similar en la progeria que en el envejecimiento fisiológico normal. (10), (37)

- Síndrome Werner atípico (SW): Este síndrome se manifiesta en portadores de mutaciones de herencia autosómica dominante en el gen LMNA. Al igual que el SW clásico, causado por mutaciones en el gen WRN, los pacientes muestran normalmente una apariencia envejecida a edades tempranas. El SW atípico está causado por la mutación del mismo gen causante del síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford (gen LMNA), pero sin embargo, los pacientes con WS desarrollan la enfermedad al alcanzar la segunda década de la vida. (38)



El SW atípico muestra un envejecimiento acelerado caracterizado por talla baja, encanamiento del cabello, atrofia de la piel, lipodistrofia y arteroesclerosis. La presencia de grasa subcutánea tiende a depositarse en el tronco y, combinada con la osteoporosis de las extremidades, los pacientes exhiben una apariencia robusta. La calcificación de las válvulas cardíacas y el infarto de miocardio son las causas de muerte más frecuentes. (39)

5.5.5 Además de las laminopatías descritas, existe un grupo muy heterogéneo de otras enfermedad de de la envoltura nuclear que se deben a la presencia de mutaciones en genes que codifican **proteínas relacionadas con las láminas**. (36)

Tabla 2
Otras enfermedades de la membrana nuclear relacionadas con las laminopatías

Enfermedad	Gen	Proteína	Herencia
Ataxia cerebelosa autosómica recesiva ³⁵	SYNE1	Nesprina-1	AR
Distrofia muscular Emery-Dreifuss ligada al X ³²	EMD	Emerina	Ligada al X
Miocardiopatía dilatada 1T ³³	TMPO	LAP2	AD
Distonía de torsión primaria ³⁴	TOR1A	Torsina A	Lig. X, AR o AD
Anomalia de Pelger-Hüet ³⁷	LBR	R. lámina B	AD
Displasia esquelética o de Greenberg ³⁸	LBR	R. lámina B	AR
Síndrome de Reynolds ³⁹	LBR	R. lámina B	AD
Dermopatía restrictiva ⁴¹	ZMPSTE24	Prelámina A	AR
Displasia mandibuloacral asociada a lipodistrofia tipo B ¹⁰	ZMPSTE24	Prelámina A	AR
Síndrome de Buschke-Ollendorff ⁴⁶	LEMD3	MAN1	AD
Osteopoiquilosis ⁴⁶	LEMD3	MAN1	AD
Dermatofibrosis lenticular diseminada ⁴⁶	LEMD3	MAN1	Desconocida

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva.

- La EDMD ligada a X está causada por mutaciones del gen EMD, que condiciona la pérdida de emerina, localizada en la membrana nuclear de las células y está estrechamente unida a la lámina A.
- Por otro lado, en la miocardiopatía dilatada tipo 1A (CMD1A) observamos mutaciones en el gen TMPO, que codifica el LAP2.
- Otra laminopatía es la ataxia cerebelosa autosómica recesiva tipo 8 (ARCA1 o SCAR8), causada por la finalización prematura de la transcripción de la nesprina-1, proteína transmembrana que se relaciona con el citoesqueleto y con las proteínas SUN.
- También es importante LBR, proteína de la membrana nuclear disminuida en pacientes con la anomalía de Pelger Hüet (PHA), caracterizada por un trastorno de la organización de la cromatina en los núcleos de los leucocitos. Por otra parte, la mutación en homocigosis del mismo gen ocasiona la displasia esquelética o de Greenberg.
- El síndrome de Reynolds es una enfermedad autoinmune causada por mutaciones en el gen que codifica la endoproteasa ZMPSTE24, imprescindible para la maduración final de la lamina A, y evitar así la acumulación de formas farnesiladas.
- Finalmente, déficits de la proteína MAN1 codificada por el gen LEMD3 producen el síndrome Buschke-Ollendorff (BOS), asociado a alteraciones del colágeno.

5.6. Mecanismos de control de calidad

La identidad bioquímica de la envoltura nuclear confiere su capacidad para establecer una barrera que protege el compartimento nuclear y su función. Las células han desarrollado estrategias para mantener dicha compartimentación, y mitigar la progresión y la gravedad de posibles enfermedades asociadas al mal funcionamiento de la envoltura nuclear, siendo un ejemplo las laminopatías.

Para asegurar la homeostasis de las proteínas, las células cuentan con mecanismos de control de calidad (QC) que estimulan el replegamiento o la degradación de proteínas mal plegadas o dañadas. Se cree que la pérdida de estos mecanismos contribuye a la disminución de la función celular relacionada con la edad, y a la acumulación de agregados tóxicos en orgánulos como el núcleo. Su presencia sugeriría una actuación local de protección (6). Existen numerosas vías de control de calidad, la mayoría convergen en el sistema ubiquitina-proteasoma o en mecanismos de autofagia, en concreto en el de nucleofagia, al tratarse de la degradación parcial y específica del núcleo para eliminar las proteínas defectuosas de la célula.

Empezando por la ubiquitinación, podemos decir que es un mecanismo de regulación de la expresión génica por modificación post-traducciona que consiste en la adición de una o varias moléculas de ubiquitina de manera covalente a proteínas blanco. Este proceso ocurre mediante tres enzimas: E1 de activación, E2 de conjugación y E3 de ligación. Esta última, define en gran medida la especificidad de la reacción, dirigiendo las E2-ubiquitinas a las proteínas blanco. La consecuencia principal del proceso de ubiquitinación es la degradación por el proteasoma 26S de las proteínas marcadas. (40)

Por otro lado, la autofagia guía la degradación de los componentes celulares citoplasmáticos y nucleares, de los cuales se han obtenido evidencias recientemente, constatando la degradación de la lámina nuclear en mamíferos. La proteína autofágica LC3/Atg8 está presente en el núcleo, e interactúa directamente con la proteína de lámina nuclear B1. Ambas proteínas se unen a los mismos dominios en la cromatina, lo que conlleva que esta interacción LC3-laminaB1 medie la degradación de la lámina, la cual es transportada desde el núcleo al citoplasma, y es entregada al lisosoma para su eliminación (6). La autofagia de la lámina nuclear se efectúa cuando el ADN celular está dañado o ante los insultos oncogénicos, como por RAS activado, lo que promueve la senescencia. Sin embargo, la inhibición de la autofagia o la interacción LC3-laminaB1 previene la pérdida de la lámina B1 inducida por RAS activada y atenúa la senescencia. (41)

Ambos mecanismos son de vital importancia en la membrana nuclear interna (INM), donde las proteínas están aisladas de otras vías de control de calidad, al no haber síntesis de las mismas en el núcleo. Otra de las razones por las que se requiere su presencia, es por la gran tensión y estrés mecánico al que está sometido el núcleo, lo que podría conducir al daño de las proteínas de la INM, incluyéndose las laminas.

Como la envoltura nuclear (NE) es continua con el retículo endoplasmático (ER), parecería plausible que los mecanismos QC de las proteínas del ER y su degradación asociada se extendieran también a la proteína INM. (6)

5.6.1. ERAD

Los componentes clave de la degradación asociada al retículo endoplasmático (ERAD) incluyen dos ubiquitin ligasas, Hrd1 y Doa10, que son responsables de la ubiquitinación de todos los sustratos ERAD conocidos, por lo que se dirigen a ellos para la degradación proteasómica. (6)

Además, ERAD está involucrado en el recambio de proteínas en la NE, y un trabajo pionero establece que Doa10 es capaz de acceder y actuar en el INM. La evidencia más directa para ERAD en el INM, fue probar la estabilidad de un alelo sec61-2 al agregarle una secuencia de direccionamiento INM. Sorprendentemente, la degradación del alelo sec61-2 localizado en INM dependía de la función de dos ligasas E3, Asi1 y Asi3, lo que respalda la existencia de un brazo de ERAD específico de INM. (6)

Más allá, los orgánulos tienen la capacidad de reconocer y degradar específicamente proteínas localizadas de manera inapropiada. Este control lo ejerce el complejo Asi, que examina el proteoma INM y es capaz de distinguir lo "propio" de lo "no propio". (6)

La necesidad de estos mecanismos de control surge tras la suposición de que el INM podría ser vulnerable a un error. Como hemos visto, Sec61-2 puede acceder al INM, lo que sugiere que muchas proteínas ER podrían atravesar la membrana de los poros nucleares y así ser plausible una retención errónea de proteínas que puedan desplazar a las nativas del INM o generar efectos negativos en las funciones nucleares. Dado que la composición del INM se rige en última instancia por el NPC (que impone una barrera de difusión a las proteínas de membrana y facilita el transporte activo de otros componentes), una mutación provocaría que el NPC fuera más permisivo en la acumulación de proteínas INM. (6)

Otra función crítica de ERAD en la envoltura nuclear, es controlar los niveles de enzimas que sintetizan esteroides, y alteran su fluidez. Por tanto, el complejo Asi es un componente crítico de la maquinaria de control de calidad para el mantenimiento del subcompartimento de la NE al proteger no solo su proteoma único, sino también un lipidoma único. (6)

5.6.2. NPC

Los complejos de poro nuclear (NPC) se construyen a partir de proteínas denominadas nucleoporinas o nups, que se ensamblan en múltiplos de 8 y forman estructuras en andamio increíblemente estables. Esta estructura es de vital importancia, ya que si un NPC se desarma podría contribuir a la pérdida de la integridad de la barrera de difusión de la NE. (6)

Existe un grupo de nups desordenados (FG-nups) que recubren el canal central del NPC, establecen una barrera de difusión a proteínas solubles, y facilitan el transporte activo de macromoléculas (y algunas proteínas de membrana). Es probable que proteínas del ER desempeñen papeles clave en la formación de los poros, pero no se ha identificado ningún fusógeno capaz de fusionar el INM y el ONM, lo que representa un obstáculo para dilucidar el proceso de ensamblaje. (6)

Otro desafío es esclarecer cómo las células son capaces de hacer frente a un NPC que pierde la función debido al despliegue o daño de proteínas, ya que no hay mecanismos conocidos para eliminar NPC completamente formados que abarcan tanto el INM como el ONM. Este deterioro puede deberse al daño oxidativo, lo que provoca la pérdida de algunos nups de andamio, impidiendo el correcto funcionamiento de los NPC en las neuronas post-mitóticas, lo que sugiere que el mal funcionamiento de los NPC podría ser una entrada al envejecimiento. (6)

Los mecanismos de control de calidad espacial protegen la herencia de los NPC, que pasará a las células hijas. Este mecanismo conduce al secuestro de proteínas mal plegadas y defectuosas, mitigando así los efectos nocivos en la homeostasis celular, la viabilidad y la vida útil. Un posible ejemplo de control, es la capacidad de segregar los NPC funcionales de los no funcionales, cuyo mecanismo podría estar en el canal central FG-nup, Nsp1. Se ha observado que los niveles de Nsp1 y un nups se reducen en las células madre viejas, por tanto, es probable que Nsp1 sea crítico en una vía de control de calidad que detecta la funcionalidad de los NPC y regula su transmisión a la progenie. (6)

5.6.3. ESCRT (endosomal sorting complexes required for transport)

La maquinaria ESCRT consta de varios módulos, ESCRT-0, I, II, III y la ATPasa AAA, Vps4 (y factores asociados). Si bien se cree que los ESCRT 0, I y II median el proceso de clasificación, los ESCRT-III y Vps4 son necesarios en la escisión de membrana. Para el mecanismo de escisión se propone la capacidad de ESCRT-III para oligomerizarse en un filamento capaz de invadir membranas. Por otra parte, se cree que Vps4 desempeña el desmontaje del filamento ESCRT-III y la promoción de la escisión. Estudios recientes respaldan que solo ESCRT-III y AAA-ATPase Vps4 funcionan en el NE. (6)

El aspecto más conservado de la función ESCRT-III es proteger la compartimentación nuclear durante el ciclo celular, manteniendo así la barrera NE. Partiendo de esta premisa, se han observado que los cambios en las membranas de la NE permiten eventos de remodelación esenciales para su función. A diferencia de otros orgánulos, que las células hijas heredan intactos durante la mitosis, la envoltura nuclear (incluido los NPC) se descompone por completo y se reforman en cada división celular. Si los eventos de remodelación no son correctos representan una amenaza para la compartimentación nuclear, por lo tanto, podrían estar bajo la vigilancia de mecanismos de control de calidad como es el complejo ESCRT, que garantiza el ensamblaje y la función adecuada de los NPC durante la interfase, facilitando la eliminación de intermedios de ensamblaje defectuosos. (6)

El mayor riesgo durante la remodelación de la NE tras la mitosis, es establecer una NE continua. Durante el proceso, los túbulos ER se adhieren a la cromatina y encapsulan al genoma. Finalmente, las láminas de la membrana ER deben fusionarse para sellar el NE, gracias a mediadores críticos en el proceso, como son la maquinaria ESCRT-III y la AAA ATPase Vps4. (6)

Centrándonos en el tejido muscular esquelético y cardíaco, la vía metabólica mTOR es fuertemente activada por estímulos anabólicos como contracción muscular, insulina y nutrientes, lo que generaría hipertrofia muscular debido a la creación de nuevas fibras musculares (10). Por otra parte, la señalización de mTOR en el tejido adiposo juega un papel indispensable en la regulación de la adipogénesis (favorecida por la activación de mTOR al contribuir en la formación de tejido adiposo blanco), y en el metabolismo de los lípidos. La lipodistrofia, enfermedad en la cual los adipocitos maduros carecen del complejo mTORC1, demuestra este hecho.(10)

5.6.5. Papel de mTOR en laminopatías

La caída significativa de actividad autofágica se ha descrito en modelos de laminopatías musculares. La alteración de la vía de señalización de mTOR se apoya en la presencia de modificaciones metabólicas, incluyendo el aumento de tamaño de cuerpos grasos y cantidad de triglicéridos, dependientes de la edad. La sobreexpresión de Atg1 (promotor de autofagia) suprime los defectos cardíacos asociados con mutaciones de la lámina A/C, restableciendo la función y la vida útil. Se ha demostrado que las células cardíacas portadoras de mutaciones en la lámina A/C causan distrofia muscular de Emery-Dreifuss tipo 2, al presentar un mecanismo de autofagia defectuoso en respuesta a la inanición. En el suero de pacientes afectados por laminopatías musculares, se demostró un aumento significativo en los niveles de TGF2, que neutralizan la vía hiperactivada de mTOR, mostrando así un papel importante en la vía de señalización en EDMD2. Finalmente, la confirmación de la importancia del eje mTORC1/autofagia en las laminopatías cardio-musculares, provino de las evidencias de que la rapamicina o su temsirolimus análogo mejora las funciones cardíacas y musculares. (10)

Estudiando otros tipos de laminopatías, se ha demostrado que la autofagia deteriorada contribuye a la regulación negativa de los genes del tejido adiposo blanco en las células de pacientes con lipodistrofia parcial familiar. Como consecuencia, se puede observar la formación deteriorada de gotas lipídicas en la lipodistrofia de LMNA. La inactivación de mTORC2 específicamente en el tejido adiposo provocó un aumento de peso y un alto gasto de energía, y la rapamicina revirtió esta condición. La reducción de la adiposidad parece estar relacionada con la lipólisis, que disminuye con dicho tratamiento. Por tanto, se ha sugerido un vínculo entre la lámina A del tejido adiposo y mTOR, al descubrir que su señalización estaba hiperactivada y que el tratamiento con rapamicina suprimía el proceso defectuoso. Esto implica que la regulación metabólica puede estar relacionada con la regulación mTOR alterada en ausencia de una lámina funcional. (10)

Por otro lado, la señalización de las vías AKT-mTOR ha sido analizada en fibroblastos con síndrome de Hutchinson-Gilford progeria. En un estudio de células con progeria, la fosforilación de la quinasa prelámina A se redujo en hígado y músculo esquelético, lo que sugiere la activación autofágica. Por tanto, una ablación genética de la prelámina causaría la activación de AKT y una inactivación de mTOR, modulando tanto la señalización autofágica, como la reducción de la senescencia celular. Normalmente, no se observa la degradación de progerina en células HGPS, a menos que sean tratadas con rapamicina para inhibir la actividad de mTOR. Se ha reportado que la rapamicina elimina la progerina a través de la autofagia y revierte el fenotipo celular en fibroblastos de niños con HGPS, y en consecuencia retrasa el envejecimiento celular. El principal inconveniente que presenta la rapamicina es su efecto sobre el crecimiento y desarrollo al inhibir la proteína mTOR. Sin embargo, considerando la severidad de la enfermedad, los beneficios pueden compensar los efectos secundarios. (10)

En resumen, se requiere la lámina A/C funcional para regular la autofagia por la vía mTOR. Los estudios en células con laminopatías, mutaciones en el gen LMNA (lámina A/C), muestran problemas en la calidad nuclear. Este hecho se debe a la regulación inapropiada de diversos mecanismos de control de calidad, como por ejemplo, el aumento de la vía mTOR, que inhibe la autofagia (imposibilitando la pérdida de la lámina en momentos necesarios como en presencia de daño en el DNA) y la apoptosis, que favorece el envejecimiento y el crecimiento celular, pudiendo incluso desarrollar tumores. Además, las mutaciones en los NPC, tornándose más permisivos, provocarían la acumulación de proteínas en INM, y con ello la pérdida de la integridad NE.

5.7 Tratamiento

Hasta la fecha no existe una terapia curativa aprobada para las laminopatías, lo más común para ayudar al abordaje de estas enfermedades raras es el reposicionamiento de fármacos para intentar ganar tiempo. El reposicionamiento de fármacos consiste en la utilización de un medicamento en una enfermedad diferente para la que se había diseñado.

La rapamicina o sirolimus (nombre genérico asignado para el producto natural) es un medicamento que inhibe mTOR y posee eficacia para combatir algunos cánceres, al frenar la proliferación celular y el crecimiento de los tumores. Evidencias sugieren que la rapamicina podría modular una serie de mecanismos relacionados con el envejecimiento y podría ser una posible terapia antienvjecimiento. (10)

En pacientes con HGPS, la rapamicina reduce los niveles de progerina en las células, evitando la acumulación de prelámína A farnesilada, que interrumpiría la integridad de la membrana (10). Temsirolimus es un análogo de rapamicina con un perfil farmacocinético más favorable. Parece que el temsirolimus disminuye los niveles de progerina, aumenta la proliferación, reduce los núcleos deformes y mejora parcialmente el daño del ADN, pero no mejora la actividad del proteasoma o la disfunción mitocondrial (42). La combinación de drogas se considera actualmente el enfoque más prometedor para la terapia con HGPS, que permiten el uso de dosis bajas para limitar la toxicidad. En un estudio, el ácido retinoide todo-trans (ARt), que induce a la apoptosis, y la rapamicina demostraron mejorar sinérgicamente la relación de progerina en la lámina A. Otro caso es la administración de rapalogs (análogos de la rapamicina) con metformina, que regula el proceso de traducción dependiente de mTORC1, activando la vía AMP e inhibiendo directamente mTOR. La metformina disminuye la expresión de progerina, lo que sugiere un posible potencial terapéutico. Otro enfoque reciente para el tratamiento de HGPS, implica la combinación de rapamicina con lonafarnib (inhibidor de la farnesiltransferasa, FTIs, que limita la producción previa de progerina farnesilada) o con everolimus (inhibidor mTOR con un perfil farmacocinético más favorable) (10). Finalmente, otra estrategia para modular la autofagia son los inhibidores del proteasoma MG132, que inducen la degradación de la progerina a través de macroautofagia. (43)

Estos tratamientos son eficaces en otras laminopatías, por ejemplo en la displasia mandibuloacral asociada a lipodistrofia tipo A (MADA) la sobreexpresión de la lámina A muestra la activación de la vía mTOR. La inhibición de esta vía gracias al tratamiento con everolimus mejoró la capacidad de los osteoblastos de LMNA para estimular la osteoclastogénesis, lo que incita a su exploración como enfoque terapéutico. (10)

Debido a los efectos secundarios de la rapamicina y rapalogs, se han investigado otros mecanismos dependientes de mTOR, como la ingesta de nutrientes y el gasto de energía. Ambos procesos, afectados en las laminopatías, sugieren una estrategia terapéutica compleja dirigida a rescatar las buenas condiciones metabólicas, mientras se reducen los niveles de láminas mutadas. (10)

6. CONCLUSIÓN

Tras analizar la información recopilada, queda respaldada la vital importancia de los mecanismos de control de calidad que aseguran la compartimentación nuclear y preservan la función de los complejos de poros nucleares, manteniendo la integridad de la envoltura nuclear. Cualquier desequilibrio en la dinámica o disfunción de los mecanismos de control de calidad, resultaría en una alteración de la actividad celular como por ejemplo, la mezcla de los contenidos citosólicos y nucleares provocada por la pérdida de compartimentación; o la falta de eliminación de agregados proteicos celulares. Estos agregados de proteínas en la envoltura o en el núcleo son muy comunes en las laminopatías, enfermedades con la lámina defectuosa, como resultado de la expresión de alelos patógenos del gen LMNA. Asimismo, es imprescindible una adecuada regulación del proceso de autofagia, puesto que errores a estos niveles han resultado ser factores cruciales en el desarrollo y progresión de las enfermedades. Se ha demostrado que la regulación positiva de la autofagia inducida farmacológicamente, mitiga el impacto nocivo de

los alelos mutantes de LMNA, lo que respalda que los escenarios de tratamiento también podrían beneficiarse con la vía de control de calidad.

A pesar de los avances logrados, aún existen numerosas estrategias terapéuticas en desarrollo e investigación, enfocadas a un tratamiento de prevención o ralentización en la progresión de estas patologías. Como sabemos, estos progresos buscan mejorar la calidad de vida de los pacientes y aumentar su esperanza de vida, por ello es necesaria la implicación de toda la sociedad para conseguir el éxito. Por limitados que sean los casos, la sociedad no debe olvidar a estos pacientes, y la mejor forma de ayudar es fomentando el estudio de enfermedades raras, pero sobre todo, invirtiendo en los recursos necesarios para la investigación.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Genética Clínica – Laminopatías [Internet]. <https://especialidades.sld.cu/geneticaclinica/2012/05/17/las-laminopatias-comprenden-las-siguientes-enfermedades-geneticas/>
2. Orphanet: Distrofia muscular congénita relacionada con laminopatía. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=17166&MISSINGCONTENT=Distrofia-muscular-congenita-relacionada-com-laminopatia&search=Disease_Search_Simple&title=Distrofia-muscular-congenita-relacionada-com-laminopatia
3. Laminopatía: ¿en qué consiste esta rara enfermedad?. https://www.65ymas.com/salud/preguntas/laminopatia-en-que-consiste-rara-y-peligrosa-enfermedad_6401102.html
4. Enfermedades Raras: preguntas frecuentes | FEDER [Internet]. [cited 2020 Apr 17]. <https://enfermedades-raras.org/index.php/enfermedades-raras/preguntas-frecuentes>
5. M. Posada, C. Martín-Arribas, A. Ramírez. Enfermedades raras. Concepto, epidemiología y situación actual en España. An Sis San Navarra Pamplona. 2008;31.
6. Webster BM, Lusk CP. Border Safety: Quality Control at the Nuclear Envelope. Trends Cell Biol. 2016;26:29–39.
7. Atlas de Histología Vegetal y Animal. [Internet]. Available: <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/4-envuelta.php>
8. Lamina nuclear - BIOLOGÍA CELULAR CB174 - UNSAAC - StuDocu <https://www.studocu.com/es/document/universidad-nacional-de-san-antonio-abad-del-cusco/biologia-celular/resumenes/lamina-nuclear/5727585/view>
9. Orphanet: LMNA: https://www.orpha.net/consor4.01/www/cgi-bin/Disease_Genes.php?lng=ES&data_id=16364&MISSING=LMNA&search=Disease_Genes_Simple&title=LMNA
10. Chiarini F, Evangelisti C, Cenni V, Fazio A, Paganelli F, Martelli AM, et al. The cutting edge: The role of mTOR signaling in laminopathies. Int J Mol Sci. 2019;20(4).
11. Orphanet: LMNB1 [Internet]. [cited 2020 Apr 17]: https://www.orpha.net/consor4.01/www/cgi-bin/Disease_Genes.php?lng=ES&data_id=16365&MISSINGCONTENT=LMNB1&search=Disease_Genes_Simple&title=LMNB1
12. Orphanet: LMNB2]. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Genes.php?lng=ES&data_id=18960&MISSINGCONTENT=LMNB2&search=Disease_Genes_Simple&title=LMNB2
13. Martin C, Chen S, Maya-Mendoza A, Lovric J, Sims PFG, Jackson DA. Lamin B1 maintains the functional plasticity of nucleoli. J Cell Sci. 2009 May 15;122(10):1551–62.
14. Baek J-H, McKenna T, Eriksso M. Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. In: Genetic Disorders. InTech; 2013. <http://www.intechopen.com/books/genetic-disorders/hutchinson-gilford-progeria-syndrome>
15. Genoveva González Morán M, Día P AL. Síndrome de Progeria de Hutchinson-Gilford. Causas, investigación y tratamientos farmacológicos. Vol. 25, Educ. quim. 2014.
16. Identificación de nuevas mutaciones en el gen de distrofia muscular Emery-Dreifuss y evidencia de heterogeneidad genética de la enfermedad [Genética Molecular Humana] Oxford Academic. <https://academic.oup.com/hmg/article-abstract/4/10/1859/738270?redirectedFrom=fulltext>
17. Lammerding J, Hsiao J, Schulze PC, Kozlov S, Stewart CL, Lee RT. Abnormal nuclear shape and impaired mechanotransduction in emerin-deficient cells. J Cell Biol. 2005 Aug;170(5):781–91.

18. Múltiples roles para emerin: implicaciones para la distrofia muscular de Emery-Dreifuss. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2559942/>
19. Nelson WJ. Regulation of cell-cell adhesion by the cadherin-catenin complex. In: Biochemical Society Transactions. 2008. p. 149–55.
20. Jacque JM, Stevenson M. The inner-nuclear-envelope protein emerin regulates HIV-1 infectivity. Nature. 2006 Jun 1;441(7093):641–5.
21. SYNE1 - Nesprin-1 - Homo sapiens (Human) - SYNE1 gene & protein. <https://www.uniprot.org/uniprot/Q8NF91>
22. SYNE2 - Nesprin-2 - Homo sapiens (Human) - SYNE2 gene & protein. <https://www.uniprot.org/uniprot/Q8WXH0>
23. Tapley EC, Starr DA. Connecting the nucleus to the cytoskeleton by SUN-KASH bridges across the nuclear envelope. Vol. 25, Current Opinion in Cell Biology. Elsevier Ltd; 2013. p. 57–62.
24. Colón Bolea P. Regulación de la morfología nuclear por la GTPasas Rho. 2015.
25. Mutaciones en los genes SUN1 y SUN2 causan algunos casos de distrofia muscular Emery-Dreifuss. Genética Médica News. 2014;
26. Lin F, Blake D, Callebaut I, Skerjanc I, Homer L, McBurney M. MAN1, una proteína de membrana nuclear interna que comparte el dominio LEM con el polipéptido 2 asociado a la lámina emergente. J. Biol. Chem PubMed. 2000.
27. Furukawa K, Sugiyama S, Osouda S, Goto H, Inagaki M, et al. Barrier-to-autointegration factor plays crucial roles in cell cycle progression and nuclear organization in Drosophila. J Cell Sci. 2003 Sep 15;116(18):3811–23.
28. Sengupta N, Seto E. Regulation of histone deacetylase activities. J Cell Biochem. 2004;93(1):57–67.
29. LBR lamin B receptor [Homo sapiens (humano)] - Gen - NCBI [Internet]. 2020 [cited 2020 May 4]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3930>
30. Gesson K, Vidak S, Foisner R. Lamina-associated polypeptide (LAP)2 α and nucleoplasmic lamins in adult stem cell regulation and disease. Semin Cell Dev Biol [Internet]. 2014 May [cited 2020 May 4];29:116–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24374133>
31. Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, Ferré P, Foufelle F. SREBP transcription factors: Master regulators of lipid homeostasis. Vol. 86, Biochimie. Elsevier B.V.; 2004. p. 839–48.
32. Arranz V, Harper F, Florentin Y, Puvion E, Kress M, Ernoult-Lange M. Human and mouse MOK2 proteins are associated with nuclear ribonucleoprotein components and bind specifically to RNA and DNA through their zinc finger domains. Mol Cell Biol. 1997 Apr;17(4):2116–26.
33. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis [Internet]. Vol. 30, Molecular Aspects of Medicine. Elsevier Ltd; 2009 [cited 2020 May 4]. p. 42–59. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005>
34. Dinant C, Luijsterburg MS. The Emerging Role of HP1 in the DNA Damage Response. Mol Cell Biol. 2009 Dec 15;29(24):6335–40.
35. Clark DA, Coker R. Transforming growth factor-beta (TGF- β). Int J Biochem Cell Biol. 1998 Mar 1;30(3):293–8.
36. Méndez-López I. Laminopatías. Enfermedades de la lámina nuclear. Vol. 138, Medicina Clínica. Ediciones Doyma, S.L.; 2012. p. 208–14.
37. Baek J-H, McKenna T, Eriksso M. Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. In: Genetic Disorders. InTech; 2013. <http://www.intechopen.com/books/genetic-disorders/hutchinson-gilford-progeria-syndrome>
38. Síndrome de Werner atípico. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=ES&Expert=79474
39. Lishan C, Junko O. Síndrome de Werner. J Biomed Biotechnol. 2002;2:46–54.
40. Zamudio Arroyo JM, Peña Rangel MT, Riesgo Escovar JR. La ubiquitinación: un sistema de regulación dinámico de los organismos. TIP Rev Espec en ciencias químico-biológicas. 2012;15.
41. Dou Z, Xu C, Donahue G, Shimi T. La autofagia media la degradación de la lámina nuclear. Nature. 2015;105–9.
42. Gabriel D, Gordon LB, Djabali K. Temsirolimus partially rescues the Hutchinson-Gilford progeria cellular phenotype. PLoS One. 2016 Dec 1;11(12).
43. Harhour K, Navarro C, Depetris D, Mattei M, Nissan X, Cau P, et al. MG 132-induced progerin clearance is mediated by autophagy activation and splicing regulation. EMBO Mol Med. 2017 Sep;9(9):1294–313.