

La reactivación del cromosoma X inactivo con biotina corrige las alteraciones celulares en la neurodegeneración asociada a la proteína beta-hélice (BPAN)

Ana Romero González, Diana Reche López, Lola De La Villa Galán, Mónica Álvarez Córdoba, Rocío Piñero Pérez, David Gómez Fernández, Alejandra López Cabrera, José Manuel Romero Domínguez, Paula Cilleros Holgado, Paulo González Tirado, José Antonio Sánchez Alcázar

INTRODUCCIÓN

El hierro es un oligoelemento esencial para la función cerebral, pero su desequilibrio conduce al estrés oxidativo y la neurodegeneración. La neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro (NBIA, por sus siglas en inglés) incluye varios trastornos raros, entre ellos la neurodegeneración asociada a la proteína hélice beta (BPAN), causada por variantes patogénicas dominantes en el gen *WDR45*. La proteína WDR45 es crucial para la autofagia, la homeostasis del retículo endoplásmico (RE), la función mitocondrial y el metabolismo del hierro. Su deficiencia da como resultado defectos en la autofagia, disfunción mitocondrial, estrés del RE y acumulación de hierro, lo que contribuye a la patología de la BPAN. Clínicamente, la BPAN se presenta con retraso en el desarrollo, convulsiones y, posteriormente, demencia y parkinsonismo. Estudios previos en fibroblastos derivados de pacientes revelaron una reducción en la expresión de WDR45, alteración del flujo autofágico, alteraciones mitocondriales, peroxidación lipídica y acumulación de hierro. La suplementación con antioxidantes mejoró parcialmente la fisiopatología celular; sin embargo, la autofagia y la bioenergética celular siguieron estando afectadas. Dado que BPAN es una enfermedad dominante ligada al cromosoma X, la reactivación del cromosoma X inactivo (Xi) en los fibroblastos de BPAN mediante reguladores epigénéticos como la biotina puede representar una estrategia terapéutica para restaurar la expresión de WDR45.

OBJETIVOS:

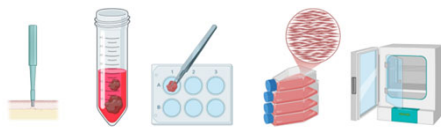
El objetivo de este estudio fue el de aumentar los niveles de expresión del transcrito y la proteína WDR45 silvestre (normal) en células de BPAN mediante la reactivación del cromosoma X inactivo a través de la biotinilación de las histonas.

MÉTODO:

Se analizaron fibroblastos dérmicos derivados de dos pacientes con BPAN con dos mutaciones diferentes en el gen *WDR45*:

- **P1** - c.400C>T (p. Arg134) – *Frameshift* – *STOP codon*
- **P2** - c.182A>C (p. Asn61Thr) - *Missense*

Las células de los pacientes se obtuvieron mediante una biopsia de piel y luego se cultivaron e incubaron en condiciones de 37°C y 5% de CO₂.



BIBLIOGRAFIA:

Reche-López, D., Romero-González, A., Álvarez-Córdoba, M., Suárez-Carrillo, A., Cilleros-Holgado, P., Piñero-Pérez, R., Gómez-Fernández, D., Romero-Domínguez, J. M., López-Cabrera, A., González-Granero, S., García-Verdugo, J. M., & Sánchez-Alcázar, J. A. (2025). Biotin Induces Inactive Chromosome X Reactivation and Corrects Physiopathological Alterations in Beta-Propeller-Protein-Associated Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1315. <https://doi.org/10.3390/ijms26031315>

Suárez-Carrillo, A., Álvarez-Córdoba, M., Romero-González, A., Talaverón-Rey, M., Povea-Cabello, S., Cilleros-Holgado, P., Piñero-Pérez, R., Reche-López, D., Gómez-Fernández, D., Romero-Domínguez, J. M., Munuera-Cabeza, M., Díaz, A., González-Granero, S., García-Verdugo, J. M., & Sánchez-Alcázar, J. A. (2023). Antioxidants Prevent Iron Accumulation and Lipid Peroxidation, but Do Not Correct Autophagy Dysfunction or Mitochondrial Bioenergetics in Cellular Models of BPAN. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14576. <https://doi.org/10.3390/ijms241914576>

RESULTADOS:

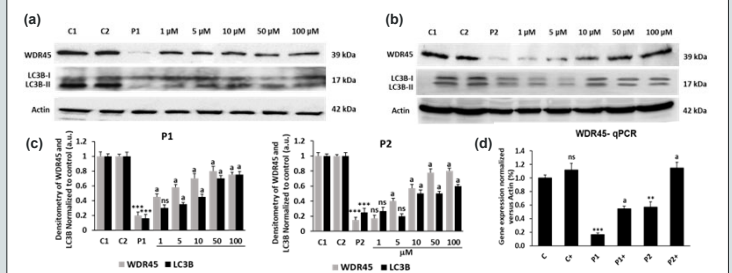


Figura 1. Efecto de la dosis/respuesta de la suplementación con biotina en los niveles de expresión de WDR45 y LC3B. (a,b) Análisis de inmunotransferencia de extractos celulares de líneas celulares de control (C1 y C2) y de pacientes con BPAN (P1 y P2) no tratadas y tratadas con 1, 5, 10, 50 y 100 µM de biotina durante una semana. Se utilizó actina como control de carga. (c) Densitometría del Western blot. (d) Expresión del gen *WDR45* en células de control (C) y BPAN (P1 y P2) no tratadas y tratadas (+) con 10 µM de biotina durante una semana, cuantificada por RT-qPCR. $p < 0,01$, y $*** p < 0,001$ entre las células BPAN y de control. $a p < 0,01$ entre la presencia y la ausencia de biotina; u.a.: unidades arbitrarias; ns: no significativo.

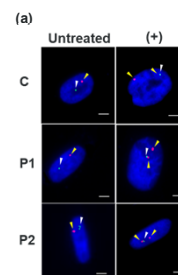
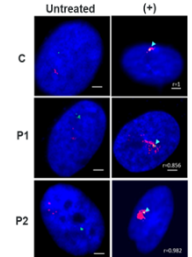


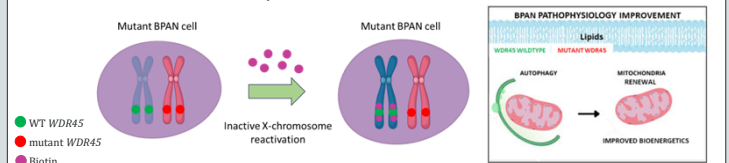
Figura 2. Efecto de la suplementación con biotina en la reactivación del Xi. (a) Imágenes representativas de FISH de ARN de dos colores de fibroblastos de control (C) y de BPAN (P1 y P2) no tratados y tratados (+) con 10 µM de biotina durante una semana, monitorizando la expresión de Xist (verde) y WDR45 (rojo). Los núcleos se tiñeron con DAPI (azul). Las puntas de flecha blancas indican la expresión de Xist, y las puntas de flecha amarillas indican las señales de WDR45. (b) Porcentaje de expresión monoalélica y bialélica de WDR45. $a p < 0,01$ entre la presencia y la ausencia de biotina.

Figura 3. Efecto de la suplementación con biotina en la biotinilación de las histonas en los núcleos de las células. Imágenes representativas de FISH de ARN de dos colores de fibroblastos de control (C) y de BPAN (P1 y P2) no tratados y tratados (+) con 10 µM de biotina durante una semana, monitorizando la expresión de Xist (verde) y la señal del anticuerpo anti-biotina (rojo). Los núcleos se tiñeron con DAPI (azul). Las puntas de flecha blancas indican la expresión de Xist, las puntas de flecha amarillas indican las señales anti-biotina, y las puntas de flecha azul claro indican la colocación de las señales de Xist y biotina. Para corroborar la biotinilación del cromosoma Xi, evaluamos la colocación de la señal de Xist con la de biotina mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró una correlación positiva con un coeficiente de Pearson $> 0,75$.



CONCLUSIÓN:

La suplementación con biotina, a través de la biotinilación de las histonas, aumentó los niveles de expresión del transcrito y de la proteína WDR45 silvestre (normal) y mejoró significativamente todas las alteraciones fisiopatológicas de las mutaciones de *WDR45* en los fibroblastos derivados de pacientes con BPAN.



PERSPECTIVAS FUTURAS:

- Explorar cómo la biotinilación influye en la expresión de otros genes ligados al cromosoma X.
- Evaluar el potencial de la biotinilación para reactivar los alelos normales en otros trastornos ligados al cromosoma X como el síndrome de Rett y el síndrome X frágil.