



El gen **MECP2** produce una proteína clave que tiene diversas funciones en las células, especialmente en las neuronas. Su rol principal es unirse al ADN metilado, actuando como un interruptor genético, regulando qué genes están activados o desactivados. También participa en el mantenimiento de la estructura de la cromatina (la organización del ADN en el núcleo) y en la reparación del ADN. Además, MeCP2 influye en la sinapsis (la comunicación entre neuronas) y en la plasticidad neuronal, la capacidad del cerebro para adaptarse a nuevas experiencias. En el síndrome de Rett, una mutación en el gen **MECP2** provoca que estas funciones se alteren, afectando al desarrollo del cerebro y causando problemas en el lenguaje, la movilidad y las habilidades motoras. Aunque las niñas con Rett nacen aparentemente sanas, los síntomas suelen aparecer después de los primeros meses de vida.

El congreso se dividió en dos salas distintas. De forma paralela y simultánea, en una se daban charlas destinadas a familiares y en la otra, charlas científicas. De forma excepcional, el primer, tercer y último día se hicieron sesiones compartidas en una sola sala. Las distintas presentaciones de la sesión científica se dividieron en 3 grandes grupos: charlas a nivel molecular, a nivel celular y neuronal (circuitos) y a nivel de modelos animales. Hubo también una parte dedicada a la investigación de biomarcadores y, finalmente, gran parte del congreso fue dedicada a las terapias, tanto farmacológicas como génicas.

DIA I

Sesión conjunta

9:00 – 9:30h → “History of Rett Syndrome” – Alan Percy (USA)

9:30 – 10:00h → “Diagnostic challenges in Rett and Rett-related disorders” – Tim Benke (USA)

10:00 – 10:30h → “Novel Insights into the Biology of MeCP2 and Rett Syndrome” – Joe Zhou (USA)

Sesión científica

11:00 – 11:30h → “MeCP2 Transcription / Regulation, miRNAs” – James Ellis (Canadá)

11:30 – 12:00h → “MeCP2. Astrocytes, and Rett Syndrome” – Qjan Canh (USA)

12:00 – 12:20h → “Sex-specific single cell-levels transcriptomic signatures of rett syndrome disease progression” – Osman Sharifi (USA)

12:20 – 12:40h → “Rett syndrome cases caused by elusive structural variants within MeCP2” – Tomer Poleg (Israel)

12:40 – 1:00h → “Molecular mechanisms and efficacy of KIT-13, a synthetic plasmogen derivative, in mouse and cell-based models of Rett Syndrome” – Masanaori Honsho (Japón)

2:00 – 2:30h → “Modeling neural network changes associated with Rett syndrome using induced pluripotent stem cell-derived brain organoids and assembloids” – Bennet Novitch (USA)

2:30 – 2:50h → “In vivo Xenotransplantation model for MECP2 neurodevelopmental disorders” – Hilde Van Esch (Bélgica)

2:50 – 3:10h → “Identification of novel molecules by which Mecp2 knock-out astrocytes exert a synaptotoxic action on neurons” – Angelisa Frasca (Italia)

3:10 – 3:30h → “NEAT1-mediated regulation of the mTOR pathway and mRNA localization impacts autophagy dysregulation in Rett syndrome” – Edilene Soares (España)

4:00 - 4:30h → “Genotype-phenotype relationships in Rett syndrome” – Helen Leonard (Australia)

Resumen día 1:

En el primer día del congreso, se abordó en profundidad la correlación genotipo-fenotipo en el síndrome de Rett. Se estableció una clasificación de mutaciones en el gen MECP2 según su gravedad: aquellas como R133C y R294X presentan efectos más leves, mientras que otras, como R106W y deleciones grandes, se asocian con fenotipos más severos. No obstante, se advirtió que esta categorización tiene un valor predictivo limitado debido a la variabilidad fenotípica influenciada por la inactivación del cromosoma X, el contexto genético individual y factores ambientales.

Entre las principales preocupaciones de las familias se destacaron la mejora en la comunicación para la expresión de dolor y malestar, el control de crisis epilépticas, la reducción de estereotipias manuales, la habilidad para caminar, el control de esfínteres, la regulación de los patrones de sueño y la mejora en la deglución.

En cuanto a los modelos animales y las investigaciones transcriptómicas, se remarcó la importancia de analizar la expresión de mRNA considerando el estadio de la enfermedad, especialmente en muestras cerebrales, debido a la variabilidad asociada al estado post-mortem y a las condiciones de la muestra. Se recomendó enfáticamente el uso de ratonas en lugar de ratones, ya que el perfil de genes diferencialmente expresados (DEGs) en el córtex de ratonas guarda mayor similitud con el de pacientes femeninas. Se observó también una dismorfia sexual en el modelo animal, con diferencias significativas en los DEGs y los términos KEGG entre machos y hembras.

Sobre la disfunción de astrocitos, se destacó que las mutaciones en MECP2 interfieren con el transporte de calcio en astrocitos, alterando sus oscilaciones intracelulares y provocando déficits mitocondriales. Esta disfunción eleva la excitabilidad neuronal y genera una hiperactivación de los receptores eNMDAR en neuronas postsinápticas, lo cual contribuye a la alteración sináptica en Rett.

En cuanto a las variantes estructurales (SV), se mencionó la existencia de casos de pacientes sin diagnóstico formal que presentan un cuadro clínico de Rett. Estas SV, difíciles de detectar con técnicas como CES y WES, podrían identificarse mediante secuenciación de largo alcance (Long-read sequencing), utilizando técnicas como read depth, paired reads y split reads.

La neuroinflamación, otro aspecto tratado, se relaciona con una disfunción mitocondrial, aumento del estrés oxidativo, niveles anormales de neurometabolitos y un incremento de triglicéridos de colesterol en suero. Como posible intervención, se está explorando el uso del derivativo plasmolígeno sintético KIT-13.

Respecto a los avances en organoides y assemblóides cerebrales, se señaló que los organoides recapitulan muchas características del desarrollo cerebral humano, mientras que los assemblóides en modelos de Rett reproducen actividades neuronales anormales. Estos modelos son valiosos para estudiar síndromes de neurodesarrollo y evaluar terapias en estudios preclínicos.

El papel de los astrocitos en Rett fue otro punto central. Los astrocitos MECP2 KO muestran una alteración en el soporte neuronal y secretan IL-6, con efecto sinaptotóxico en las neuronas, lo que sugiere su potencial como biomarcador. Además, los KO presentan defectos en la síntesis y transporte de colesterol, y la suplementación de colesterol ha mostrado rescatar parcialmente los defectos sinápticos, subrayando su posible utilidad como diana terapéutica.

Por último, se discutió la importancia del gen NEAT1, cuya expresión es casi nula en muestras de RTT debido a la hipermetilación asociada a la falta de MECP2. En células KO de MECP2 y NEAT1 se observan niveles elevados de proteínas totales y número de endosomas, pero niveles bajos de proteínas relacionadas con la autofagia. Se propuso investigar los niveles de regulación de la vía mTOR en fibroblastos para dilucidar si están aumentados o disminuidos en este contexto.

Este primer día ofreció una visión integral de los desafíos actuales y avances en la comprensión del síndrome de Rett, con hallazgos que subrayan el potencial de nuevas aproximaciones diagnósticas y terapéuticas.

DIA II

9:00 – 9:30h → “Rett syndrome, MECP2 and therapeutic strategies” – Rudolf Jaenisch (USA)

9:30 – 10:00h → “Rett syndrome: Novel insights from preclinical studies” – Nicoletta Landsberger (Italia)

10:00 – 10:30h → “Identifying and evaluating novel therapies in animal models of Rett syndrome” – Jeff Neul (USA)

11:00 – 11:30h → “CDKL5 Deficiency Disorder: Overview and updates” – Tim Benke (USA)

11:30 – 12:00h → “Investigating the role of extracellular vesicles as molecular biomarkers for CDKL5 deficiency disorder” – Antonia Gurgone (Italia)

12:00 – 12:20h → “FoxG1” – Eric Marsh (USA)

12:20 – 12:40h → “MECP2 Duplication syndrome: early findings from the international MECP2 Duplication Database (MDBase)” - Helen Leonard (Australia)

12:40 – 1:00h → “Rett syndrome in males” – Alan Percy (USA)

2:00 – 2:25h → “Microtubule dynamics dysfunction in X-linked neurodevelopmental disorders” – Shani Waninger (Irlanda)

2:25 – 2:50h → “Electrophysiological biomarkers” – Michela Fagiolini (USA)

2:50 – 3:15h → “Using EEG to follow and predict outcomes in Rett syndrome” – Eric Marsh (USA)

3:15 – 3:35h → “Characterizing MeCP2 dose-sensitive biomarkers” – Christine Coquery (USA)

4:00 – 4:30h → “An update on Trofinetide in Rett syndrome” – Alan Percy (USA)

4:30 – 5:00h → “PTP1B inhibition - A mechanism-based approach to the treatment of Rett syndrome” – Nicholas Tonks (USA)

Resumen día II:

El segundo día del congreso se exploraron nuevas perspectivas moleculares, terapéuticas y de diagnóstico para el síndrome de Rett y otros síndromes neurodesarrollos relacionados con genes específicos.

Interacción entre MECP2 y RNA Pol II: Se discutió cómo MECP2 ocupa regiones ricas en CpG cercanas a promotores de más de 4000 genes en neuronas humanas, incluidos genes relacionados con el autismo. Junto con RNA Pol II, MECP2 parece facilitar la unión de RNA Pol II al ADN. En neuronas derivadas de pacientes con mutaciones en MECP2, los genes “ocupados” por ambas proteínas mostraron una expresión reducida, un hallazgo obtenido a través de la técnica CUT&TAG, que podría reemplazar a la ChIP-seq en ciertos estudios.

Evaluación de nuevas terapias en modelos animales: Se resaltaron limitaciones del Bird's score, un test diseñado para ratones machos y que resulta menos efectivo en ratonas, y se propuso priorizar el uso de modelos femeninos en estudios futuros. También se evaluó el receptor M1 PAM VU846 como un posible biomarcador neurofisiológico.

Síndrome CDKL5: Las mutaciones missense en el dominio quinasa de CDKL5 son clínicamente equivalentes a mutaciones de pérdida de función (LoF, por su sigla en inglés). En modelos animales, podría observarse compensación por CDKL2, lo cual sugiere la conveniencia de usar un modelo porcino para estudios más representativos.

Vesículas extracelulares como biomarcadores para CDKL5: Las vesículas extracelulares (EVs), ricas en RNAs, DNA y microRNAs, se postularon como biomarcadores potenciales al reflejar el estado fisiológico y patológico de las células de origen. En saliva de pacientes CDD, se identificaron miRNAs diferencialmente expresados (DE miRNAs), y el número de EVs aumentó significativamente en células KO en comparación con WT. Las EVs derivadas de neuronas KO de CDKL5 afectan negativamente las sinapsis excitatorias, mientras que las de neuronas WT muestran efectos positivos en sinapsis de neuronas KO. Dos DE miRNAs se proponen como biomarcadores.

FOXP1: Se observó que las mutaciones de tipo frame-shift en FOXP1 son las más severas, seguidas de las LoF y, finalmente, de las missense. La epilepsia es un rasgo común en este síndrome, caracterizado por ser refractario a tratamientos, aunque presenta gran variabilidad entre pacientes.

Síndrome de Rett en varones: En varones, la forma clásica de Rett suele ser consecuencia de mosaicos somáticos o del síndrome de Klinefelter, mientras que las variantes germinales resultan en una clínica mucho más grave y variable que en las mujeres.

Dinámicas de microtúbulos en trastornos neurodesarrollos ligados al cromosoma X: En mutantes de CDKL5, la alfa-tubulina acetilada está sobreexpresada, mientras que la alfa-tubulina tirosinada está reducida, especialmente en el hipocampo. Esta sobreexpresión afecta la extensión de dendritas y axones, reduciendo la plasticidad sináptica. Por otro lado, en MECP2-KO, la acetilación está suprimida, sugiriendo defectos en el “trafficking” debido a la inestabilidad de los microtúbulos. Además, se consideraron biomarcadores adicionales como BDNF (reducido en síndromes de degeneración neuronal) y NfL e interleucinas aumentadas en síndromes con neurodegeneración.

Biomarcadores sensibles a la dosis de MECP2 (MDS): El ASO ION440, un oligonucleótido antisentido específico para el pre-mRNA de MECP2 humano, actúa reduciendo los transcritos de

MECP2 vía RNaseH1, y disminuyendo así los niveles de la proteína. En cuanto a biomarcadores en sangre, se identificaron hemo oxigenasa 2, biliverdina y PRKCA, que disminuyen en MDS y presentan una correlación negativa con la expresión de MECP2.

Inhibición de PTP1B como potencial terapia para Rett: La inhibición de PTP1B, previamente explorada como tratamiento para la obesidad, se está evaluando para Rett, pues la proteína PTP1B interactúa directamente con MECP2, que en su versión mutante aumenta la expresión de PTP1B y disminuye la señalización de BDNF. En modelos de ratón, inhibidores de PTP1B aumentan la fosforilación de TRKB, mejorando el fenotipo. Un posible fármaco candidato es DPM-1003, cuya administración en ratonas heterocigotas para MECP2 ha demostrado mejoras fenotípicas.

Este segundo día proporcionó perspectivas avanzadas para terapias dirigidas y diagnósticos mejorados en síndromes neurodesarrollos relacionados con MECP2 y CDKL5, así como enfoques para el manejo del síndrome de Rett.

DIA III

Sesión conjunta

8:30 – 8:50h → “Clinical development of trofinetide in Rett syndrome” – Jeff Neul (USA)

8:50 – 9:10h → “A novel full-spectrum medicinal cannabis-derived clinical trial in Rett syndrome” – Carolyn Ellaway (Australia)

9:10 – 9:30h → “TSHA-102 - An investigational gene therapy for Rett syndrome” – Suku Nagendran (USA)

9:30 – 9:50h → “The Development of NGN-401, a self-regulating gene therapy for Rett syndrome” – Stuart Cobb (UK)

9:50 – 10:10h → “miRARE: An approach, a philosophy, and an expanding adventure” – Sarah Sinnet (USA)

Sesión científica

11:00 – 11:25h → “Gene editing and Rett syndrome” – Wendy Gold (Australia)

11:25 – 11:50h → “ADAR-Mediated transcript modification for a common nonsense mutation in Rett syndrome” – Ron Emeson (USA)

11:50 – 12:15h → “The use of antisense oligonucleotides as a potential therapeutic for MeCP2 disorders” – Ashley Anderson (USA)

12:15 – 12:40h → “A new view on Rett syndrome and its treatments through single-cell whole-brain imaging in model mice” – Lieselot Carrette (USA)

12:40 – 1:00h → “First cohort data from the REVEAL adolescent/adult and pediatric studies of TSHA-102 gene therapy for Rett syndrome” – Suku Nagendran (USA)

2:00 – 2:30h → “Bioengineering adeno-associated viruses (AAVs) for effective gene therapy: advances and applications in Rett syndrome” – Andrea Perez-Iturralde (España)

2:30 – 3:00h → “Nanoparticle platforms for therapeutic Applications” – Frank Caruso (Australia)

Resumen día III:

El tercer día del congreso se centró en los avances recientes en terapias innovadoras y biomarcadores para el tratamiento del síndrome de Rett y otros trastornos del neurodesarrollo.

Trofinetide: En el estudio LILAC, los efectos secundarios más comunes del tratamiento con Trofinetide son diarrea y vómitos, siendo la diarrea la principal causa de abandono. Las evaluaciones sobre la eficacia de este tratamiento se basan en cuestionarios a familiares y cuidadores, lo cual introduce subjetividad en los resultados. Se encuentran en curso estudios adicionales como RTT-001, RTT-002, Lavender, LILAC, LILAC-2 y Dafodil. La conclusión general es que los resultados aún no son muy alentadores, lo que subraya la necesidad de un biomarcador objetivo.

Cannabis y NTI164: NTI164, un producto de cannabis diseñado principalmente para uso pediátrico, se administra en forma de gotas de aceite. Estudios preclínicos in vitro han sugerido propiedades neuroprotectoras y efectos positivos en la neuroinflamación, aunque no se ha logrado clarificar el mecanismo de acción en epilepsia ni obtener evidencia de un efecto directo sobre esta condición.

Terapia génica:

1. TAYSHA: REVEAL (Fase 1/2): Este ensayo en Estados Unidos, Canadá y Reino Unido, se basa en la administración de un minigen de MECP2 junto con miRARE, un regulador de la producción de MECP2. Se han observado mejoras en habilidades motoras, comunicación y control de epilepsia, con los primeros efectos entre los 7 y 10 días post-inyección.
2. Neurogene: NGN-401 (Fase 1/2): La administración vía ICV introduce una copia completa del gen MECP2 utilizando el sistema EXACT, que regula su expresión para evitar toxicidad. Este sistema también podría adaptarse a otros trastornos del neurodesarrollo. En estudios en modelos murinos y primates no humanos, se ha demostrado una buena tolerancia y efectos positivos en la expresión de MECP2.

Edición génica en síndrome de Rett: Se están explorando técnicas como la edición del ADN y del ARN y la inactivación del cromosoma X. Con Cas9, se ha logrado sustituir exones mutados por exones sanos en células modelo y organoides cerebrales, aunque aún existen desafíos para alcanzar una eficacia óptima en entornos celulares complejos.

Sistema ADAR: El sistema ADAR permite convertir adenosina en inosina en el ARN, pudiendo corregir mutaciones G>A. Como ventaja, utiliza la maquinaria endógena de edición y es temporal, permitiendo aplicaciones en células post-mitóticas como las neuronas. Para mutaciones que generan codones STOP, podría ser posible reprogramar el codón para codificar un triptófano en lugar de truncar la proteína.

Uso de oligonucleótidos antisentido (ASOs): En el síndrome de Rett, los ASOs pueden modular la expresión de MECP2, promoviendo un "switch" hacia la isoforma deseada. En modelos murinos, esta estrategia ha mostrado mejoras fenotípicas.

Decitabina y degradación de Xist: La decitabina inhibe la DNA metiltransferasa (DNMT), reduciendo la metilación del cromosoma X inactivo (no portador de la mutación). Además,

mediante oligos antisentido, es posible degradar Xist, el ARN no codificante que mantiene inactivo el cromosoma X.

Ingeniería de partículas de transporte: Se presentaron avances en nanopartículas que cruzan la barrera hematoencefálica (BBB) y podrían transportar proteínas, ácidos nucleicos y otras moléculas a tejidos diana de manera más específica y menos inmunogénica que los actuales vectores AAV9.

DIA IV

Sesión conjunta

9:00 – 9:30h → “Seizures and seizure-like episodes in Rett syndrome” – Alezandra Johnson (Australia)

9:30 – 9:45h → “Discussion: Seizures and seizure-like episodes in Rett syndrome”

9:45 – 9:50h → “I have Rett Syndrome” – Jacinta Rome (Australia)

9:50 – 10:20h → “Sibling Panel”

10:20 – 10:30 → “Discussion Panel”

11:00 – 11:20h → “What parents/carers want others to know about living with Rett syndrome” – Paige Nues (USA), Elizabeth Davies (Australia) & Trish Donnelly (Australia)

11:20 – 11:40h → “Rare disease registries: Why do we need them?” – John Christodoulou (Australia)

11:40 – 12:00h → “Clinical trials in Australia” – Robyn Langham (Australia)

12:00 – 12:10h → “The future of Rett syndrome from the clinical perspective” – Jeff Neul (USA)

12:10 – 12:20h → “The future of Rett syndrome from the preclinical and basic research perspective” – Joe Zhou (USA)

12:20 – 12:40h → “Therapies Wrap Up” – Jeff Neul & Joe Zhou (USA)

12:40 – 1:00h → “Closing Ceremony”

Resumen día IV:

- **Epilepsia al RETT:**

- Los pacientes presentan muchos tipos diferentes de epilepsia: focal, generalizada, mioclónica, atónica, espasmos infantiles, ESES, etc. Donde la focal y la generalizada son las más frecuentes.
- Hacer hincapié en que de cara a los clínicos es muy importante que las familias lleven un control de las crisis detallado y, si se puede, hacer algún vídeo de los episodios.
- Terapias actuales para la epilepsia: medicamentos antiepilépticos (valproado sódico, carbamazepinas, CBD, estimuladores del nervio vago (VNS), etc.

- **Preguntas para el futuro:**

- ¿Cuál es el rol de MECP2 en la regulación génica y de la cromatina? ¿Qué papel juega en la metilación? CHIP-seq? Hi-C?
- ¿Cuál es la relación entre RTT y trastornos RTT-like? ¿La semejanza fenotípica puede explicarse de forma molecular?
- ¿Qué papel juega la epilepsia en todo esto? ¿Es causa o efecto de algunos de los parámetros clínicos de los pacientes?
- ¿Hasta qué punto es categórico el momento de inicio de una terapia génica? Si el diagnóstico es tardío, ¿hay beneficios en la implementación de la terapia en pacientes adultos?
- ¿Por qué mutaciones en otros genes conducen a una disminución de la concentración de MECP2? ¿Resolviendo los niveles de esta proteína serviría también para estos síndromes con mutaciones a otros genes?
- ¿Es necesario hacer llegar la terapia a todos los tipos neuronales? ¿Hay tipos celulares más afectados que otros? ¿Qué papel juega la microglía?
- **¿DÓNDE ESTAN LOS BIOMARCADORES?**

Valoración final

La asistencia a este congreso nos ha permitido conocer de primera mano el estado actual de la investigación en el síndrome de Rett y las últimas actualizaciones en el tema. Hemos podido aprender y debatir sobre los avances en terapias génicas, las nuevas técnicas de edición genética y el desarrollo de biomarcadores más precisos para medir la evolución y la respuesta al tratamiento de estos pacientes. Sin embargo, en este último aspecto, ha quedado claro que aún queda mucho por investigar.

Uno de los puntos más positivos ha sido la diversidad de enfoques en los estudios presentados, que abarcaron desde ensayos clínicos con nuevas moléculas hasta innovaciones en el uso de terapias génicas. Las ponencias y sesiones de discusión destacaron tanto los logros como los desafíos persistentes en la búsqueda de tratamientos efectivos y en la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a estas patologías. Especialmente, se subrayó la necesidad de contar con biomarcadores más precisos para este tipo de enfermedades. En este sentido, el intercambio de ideas con otros investigadores resultó especialmente útil para contrastar metodologías, enfoques y resultados. Observamos la gran variedad de biomarcadores posibles y el potencial de cada uno, con el objetivo de identificar el más adecuado para esta patología.

Asistir a este congreso también nos brindó una excelente oportunidad para establecer conexiones con diversos grupos, las cuales son fundamentales para avanzar en proyectos comunes, ya que la investigación en este campo depende en gran medida de la cooperación internacional y del acceso compartido a datos y recursos. Al ser una enfermedad minoritaria, cualquier colaboración o conexión puede ser determinante. Personalmente, después de hablar con asistentes del congreso, regreso con muchas ganas (e ideas) sobre cómo podemos implementar la IA en nuestros datos. Este es un campo nuevo y con un potencial inmenso; aprender a utilizarlo en nuestro beneficio puede abrirnos muchas puertas.

A nivel personal, valoré enormemente la experiencia de compartir este congreso junto a familiares de pacientes con síndrome de Rett. Esta perspectiva más cercana a las pacientes refuerza el propósito de nuestra labor y nos permite entender mejor las preocupaciones de las familias y las pacientes, para orientar la investigación hacia la resolución de estos problemas. Además, el hecho de tener una hermana afectada por un síndrome tipo Rett (STXBP1) y la oportunidad de conocer la perspectiva de otras familias (y hermanos) fue una experiencia única y enriquecedora, tanto a nivel científico como personal.

En conclusión, valoramos muy positivamente la organización del evento y agradecemos profundamente la oportunidad que nos han dado de asistir. En cuanto a las distintas charlas, resaltamos el alto nivel de las sesiones, que han sido de gran utilidad tanto en el ámbito práctico como en el conocimiento científico y clínico. Nos llevamos una perspectiva renovada y muchas ideas que esperamos aplicar en nuestras propias investigaciones, con la esperanza de contribuir a un futuro en el que las pacientes y sus familias puedan contar con terapias cada vez más eficaces y menos invasivas.