

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Máster Titulado:

“Análisis comparativo del transcriptoma DM1 a nivel de poliadenilación alternativa e identificación de eventos de cambio de podio”

Realizado por:

Miguel Alfredo Ger Herrera

Director del proyecto:

Ing. Jorge Espinosa, PhD(c)

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN BIOMEDICINA

Quito, 23 de AGOSTO de 2024

DECLARACION JURAMENTADA

Yo, Miguel Alfredo Ger Herrera, con cédula de identidad # 0401910146, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual que correspondan relacionados a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.

C.I: 0401910146

FIRMA Y CÉDULA

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

“Análisis comparativo del transcriptoma DM1 a nivel de poliadenilación alternativa e identificación de eventos de cambio de podio”

Realizado por:

MIGUEL GER

como Requisito para la Obtención del Título de:

MAGISTER EN BIOMEDICINA

ha sido dirigido por el profesor

JORGE ESPINOSA

quien considera que constituye un trabajo original de su autor

FIRMA

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

ANDRÉS HERRERA

FERNANDA GUTIERREZ

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador

FIRMA

FIRMA

Quito, 23 de AGOSTO de 2024

DEDICATORIA

Dedicado a todos mis compañeros de la Maestría y profesores de la Facultad de
Ciencias de la Salud de la Universidad Internacional SEK.

AGRADECIMIENTO

A mi familia, por toda la motivación, apoyo y amor.

Artículo de tesis

Análisis comparativo del transcriptoma DM1 a nivel de poliadenilación alternativa e identificación de eventos de cambio de podio.

Miguel Ger, Jorge Espinosa

¹ maestría en Biomedicina, Fac Cs Salud, UISEK; Alfredo.ger@uisek.edu.ec

² afiliación 2; Grupo de Investigación en Biomedicina Experimental y Aplicada, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK; damaris.intriago@uisek.edu.ec

* Autor de Correspondencia: jorge.espinosae@uisek.edu.ec; Tel.: (opcional; Código de país; sin son multiples autores de correspondencia, colocar iniciales de los autores

Resumen: La *distrofia miotónica tipo 1 (DM1)* es una enfermedad genética autosómica dominante causada por la expansión de repeticiones de microsatélites en el gen DMPK, caracterizada por una amplia gama de síntomas neuromusculares y multisistémicos. Un mecanismo clave en DM1 es el secuestro de proteínas MBNL por ARN con repeticiones expandidas de *CUG*, lo que desregula el empalme alternativo y la poliadenilación del ARNm, contribuyendo a la diversidad fenotípica observada en la enfermedad. Este estudio utilizó la herramienta bioinformática *tappAS* para analizar la *poliadenilación alternativa (APA)* en 4,767 secuencias de transcriptoma de pacientes con DM1 y sujetos sanos. Se identificaron 304 genes con *APA diferencial (DPA)*, de los cuales 60 presentaron cambio de podio. Estos cambios alteran la estructura del ARNm y posiblemente la función de las proteínas asociadas. Específicamente, genes involucrados en la unión a la actina, filamentos de actina y la constitución estructural del músculo, como ASPH, KLHL3, LMOD3, MAP1A, MYH11, PDLIM3 y PPP1R9A, mostraron cambios de podio, sugiriendo alteraciones en la organización del citoesqueleto y la miofibrillogénesis. Genes como OBSCN y TTN presentaron *DPA*, lo que podría afectar la estructura y función del sarcómero. Además, se observaron alteraciones en la diferenciación celular, la función mitocondrial y la proliferación celular en genes como EIF3F, FBOX31 y OPA1. En cuanto a la homeostasis iónica y la transducción de señales, genes como CACNA1S y ASPH mostraron *DPA*, comprometiendo la regulación del calcio intracelular y la señalización de factores de crecimiento. También se identificaron alteraciones en la regulación de canales de sodio y calcio. En conclusión, los eventos de *DPA* y cambio de podio detectados revelan complejas alteraciones en los procesos celulares y moleculares en DM1, ofreciendo una visión integral de los mecanismos patogénicos y abriendo nuevas vías para la investigación terapéutica.

Palabras clave: Distrofia, Miotónica, Poliadenilación Alternativa, *MBNL*, Isoformas, Empalme, Regulación, Biomarcadores, Transcriptoma.

Abstract: *Myotonic dystrophy type 1 (DM1)* is an autosomal dominant genetic disorder caused by the expansion of microsatellite repeats in the DMPK gene, characterized by a wide range of neuromuscular and multisystemic symptoms. A key mechanism in DM1 involves the sequestration of MBNL proteins by expanded CUG repeat RNA, which dysregulates alternative splicing and mRNA polyadenylation, contributing to the phenotypic diversity observed in the disease. This study utilized the bioinformatics tool tappAS to analyze *alternative polyadenylation (APA)* in 4,767 transcriptome sequences from DM1 patients and healthy subjects. A total of 304 genes with *differential APA (DPA)* were identified, 60 of which exhibited podium changes. These changes alter mRNA structure and potentially the function of the associated proteins. Specifically, genes involved in actin binding, actin filament binding, and muscle structural constitution, such as ASPH, KLHL3, LMOD3, MAP1A, MYH11, PDLIM3, and PPP1R9A, exhibited podium changes, suggesting alterations in cytoskeleton organization and myofibrillogenesis. Genes like OBSCN and TTN displayed *DPA*, which could impact sarcomere structure and function. Additionally, alterations in cell differentiation, mitochondrial function, and cell proliferation were observed in genes such as EIF3F, FBOX31, and OPA1. Regarding ion homeostasis and signal transduction, genes like CACNA1S and ASPH showed *DPA*, potentially compromising intracellular calcium regulation and growth factor signaling. Alterations in the regulation of sodium and calcium channels were also identified. In conclusion, the *DPA* events and podium changes detected reveal complex alterations in cellular and molecular processes in DM1, providing a comprehensive view of the pathogenic mechanisms and opening new avenues for therapeutic research.

Keywords: Dystrophy, Myotonic, Alternative Polyadenylation, MBNL, Isoforms, Splicing, Regulation, Biomarkers, Transcriptome

1. Introducción

La distrofia miotónica (DM) es una enfermedad variable y multisistémica, presente en sus tipos 1 (DM1) y 2 (DM2), caracterizada por ser un trastorno genético autosómico dominante. Esta condición presenta síntomas neuromusculares graves, como defectos en la conducción cardíaca, trastornos gastrointestinales, disfunción endocrina, miotonía, debilidad muscular progresiva, somnolencia excesiva, alteraciones neurológicas (1,2), insuficiencia testicular (3), resistencia a la insulina (4,5), y cataratas (6). En la distrofia miotónica tipo 1 (DM1), el ARN mutante del gen DMPK se acumula en el núcleo de las células musculares y nerviosas. Esta acumulación provoca el secuestro de proteínas reguladoras esenciales, incluyendo los moduladores de empalme MBNL1 y hnRNP H, así como los factores de transcripción SP1, STAT1, STAT3 y RAR γ . Este comportamiento aberrante del ARN mutante afecta la actividad tanto de los moduladores de empalme como de los factores de transcripción, resultando en un deterioro en la expresión y función de varios genes. Este desajuste molecular contribuye al fenotipo multisistémico característico de DM1 (7).

Los mecanismos moleculares estudiados en DM1 involucran factores de transcripción y vías de señalización como las vías de glucógeno sintasa quinasa 3-beta (GSK-3 β) (8), AKT (9), AMPK (10), PKC (11), Tweak/Fn14 (12) PI3K/AKT; proteínas de unión a ARN (p. ej., CELF1) (13), Staufen1 (14), hnRNP A1 (15) y MSI2 (16), generación de ARN circular (17) (18), deficiente regulación del procesamiento de microARN (19–23), disfunción mitocondrial (24,25), aumento de la senescencia celular (26–28), desubiquitinación, (29) disfunción del canal de calcio junto con la disfunción del canal de cloro (30), CLCN1 exón 7a (miotonia) (31,32), BIN1 exón 11 (debilidad muscular) (33), exón 22 de CACNA1S (debilidad muscular) (34) y exón 5A de SCN5A (arritmia cardíaca) (35), además las alteraciones en la actividad de MBNL y CELF1 provocan un patrón de empalme fetal anormal de varias transcripciones, como el receptor de insulina (INSR) (36), la troponina T cardíaca (cTNT) y la troponina T esquelética rápida (TNNT3) (37), distrofina (DMD) (38) y canal de sodio cardíaco (SCN5A) y, a su vez, provocan síntomas clínicos (39).

La vía más estudiada y comprendida en DM1 es aquella relacionada con el secuestro de proteínas *Muscleblind-like* (MBNL)(2). Los músculos esqueléticos expresan principalmente MBNL1, mientras que MBNL2 es más frecuente en el sistema nervioso central (SNC) y MBNL3 cumple funciones relacionadas con la regeneración, el crecimiento placentario y el envejecimiento (39–43). El secuestro de MBNL se debe a una mutación que conlleva a una expansión en el número de repeticiones del triplete CTG en la región no traducida (UTR)3' de la proteína quinasa DMPK (44,45), cuando estas repeticiones se prolongan más de 50 veces se forman DMPK mutantes que se pliegan para formar horquillas de ARN con repeticiones CUG (CUG exp) que secuestra las proteínas MBNL 1 y 2 (40,46); al ocurrir esto se observa un aumento en los niveles de *CUGBP Elav-like family* (CELFs) a causa de la hiperfosforilación mediada por PKC (11,33,47). En DM1, la disminución funcional de las proteínas MBNL resulta en alteraciones a nivel de transcriptoma en el proceso de empalme alternativo, localización de ARNm (36,48), poliadenilación alternativa (49) y procesamiento de miRNA (33).

La ARN polimerasa II (Pol II) transcribe el ADN para producir pre-ARNm, que posteriormente se procesa en ARNm maduros mediante una serie de pasos críticos: protección, empalme, escisión y poliadenilación en el extremo 3' de las transcripciones (50,51). La poliadenilación, un mecanismo clave en la regulación de la expresión génica, determina qué transcripciones e isoformas se generan para un gen específico en un contexto determinado (52). La escisión y poliadenilación alternativa (APA) en el último exón da lugar a isoformas de ARNm que, aunque codifican la misma proteína, presentan diferentes *regiones 3' no traducidas* (UTR) (53,54). Además, el uso de sitios de poliadenilación intrónicos puede resultar en la producción de proteínas truncadas y en cambios en el UTR 3' del ARNm resultante. Durante la transcripción, la maquinaria de escisión y poliadenilación (CPA), compuesta por un complejo multiproteico, se acopla al dominio C-terminal de la Pol II y reconoce secuencias específicas en el ARN naciente. Un componente crucial de esta maquinaria es el *factor de especificidad de CPA* (CPSF), que se une al *motivo hexamérico* (AAUAAA) reconocido como sitio de poliadenilación PAS y a elementos de secuencia circundantes, como UGUA y regiones ricas en uracilo o guanina y uracilo (G+U). Estos elementos reclutan factores adicionales que facilitan el procesamiento en el extremo 3' del ARN. La escisión endonucleolítica del ARN naciente ocurre aproximadamente 20 nucleótidos aguas abajo del PAS, en un contexto de secuencia adecuado, lo que asegura la correcta maduración del ARN mensajero (55).

En las isoformas con distintos 3'UTR se encuentran diversos elementos reguladores que influyen en la cantidad de ARNm y proteínas, su localización, así como el ensamblaje de complejos proteicos, lo que tiene un impacto directo en la función de las proteínas (56–58). La expresión de isoformas alternativas de 3'UTR es altamente específica de cada gen y tipo de célula (53,54,59). En el contexto de la distrofia miotónica tipo 1 (DM1), la proteína MBNL desempeña un rol crucial en la modulación de la APA. MBNL se une a sitios específicos en el extremo 3' UTR del ARNm evitando o truncando la selección de sitios de PAS (49). La APA depende de la unión de MBNL a sus sitios de unión específicos en el transcrito objetivo, esto fue comprobado al mutar la zona de unión de MBNL y obtener una regulación APA diferente. Además, se ha evidenciado una alteración de APA asociada a la pérdida de actividad de MBNL *in vivo* por secuestro en ARN de CUG exp, ya sea en un modelo de DM1 de ratón transgénico o en DM1 humano, entre las alteraciones se destaca la expresión de patrones APA fetales en músculo adulto (49). La poliadenilación alternativa (APA) es un mecanismo que regula que isoformas de un gen continuarán el proceso de expresión génica. Cuando este mecanismo está mal regulado se desencadena una serie de eventos que producen un desequilibrio homeostático (50). En DM1, esta disfunción en la APA es fundamental para la patogénesis de la enfermedad, ya que la alteración de los patrones de APA contribuye a la expresión de isoformas aberrantes que pueden estar implicadas en los diversos síntomas clínicos.

tappAS es una herramienta bioinformática creada para el análisis de la *expresión funcional de transcripción (FIT)*, con una *interfaz gráfica de usuario (GUI)* desarrollada en Java. Requiere dependencias como Java \geq v8.40 y R \geq 3.2.2, lo cual permite que se ejecute en cualquier computadora, sin importar su sistema operativo, ofrece una instalación completamente automatizada. En este estudio se utilizó esta herramienta para analizar los eventos de poliadenilación alternativa (APA) en biopsias tibiales DM1 (52).

Al analizar la distrofia miotónica tipo 1 (DM1) y sus mecanismos moleculares subyacentes, surge una pregunta fundamental: ¿Qué isoformas experimentan poliadenilación alternativa y cambio de podio debido a la disminución de MBNL? y ¿cuáles son sus efectos? Para abordar estas preguntas, se realizó un análisis comparativo utilizando *tappAS* de los transcriptomas cuantificados de isoformas de biopsias musculares humanas de pacientes con DM1 y de personas sanas. En particular, se identificaron varias isoformas que muestran cambios en sitio de la poliadenilación con y sin cambio de podio, lo que sugiere alteraciones en la regulación génica y potenciales implicaciones en la patología de la enfermedad. Los hallazgos presentados son nuevos conocimientos susceptibles de validación experimental y proponen nuevos biomarcadores asociados a la DM1 que pueden servir como base para el desarrollo de enfoques terapéuticos dirigidos a restaurar la función normal de las proteínas MBNL y mitigar los efectos de esta enfermedad.

2. Materiales y Métodos

2.1 Origen de las secuencias usadas en el estudio

Los valores de expresión génica fueron obtenidos de biopsias de musculo tibial de 22 sujetos con DM1 y 5 muestras de personas no afectadas. Estos fueron estimados en el Software *kallisto* y publicados por Eric T Wang y su equipo en el repositorio de datos de secuenciación profunda de distrofia miotónica, disponible en <http://dmseq.org/data.html> (2,60).

2.2 Alineamiento Selección y Cuantificación de los datos:

Para el alineamiento de las 27 muestras de tibia (22 DM1 y 5 controles no afectados) se utilizó el programa *STAR* con el genoma humano GRCh38 descargado de *ENSEMBL*. *STAR* facilitó la alineación precisa de las lecturas de RNA-seq a las regiones genómicas correspondientes, se cuantificó a nivel de isoformas utilizando el programa *RSEM* (61,62).

2.3 Identificación de genes con APA

Para identificar aquellos genes que presentan poliadenilación alternativa se utilizó el programa *tappAS*, el cual requiere tres entradas: un archivo de diseño experimental, una matriz de expresión de transcripción y un archivo de anotación funcional a nivel de transcripción(52). La matriz de expresión se obtuvo a partir del mapeo y cuantificación de lecturas cortas utilizando como referencia el transcriptoma del *Homo Sapiens*. Dado que se trabajó con una especie compatible con la aplicación, se utilizaron directamente los datos de anotaciones integrados de *tappAS*, eliminando la necesidad de archivos de anotaciones adicionales(52). En *tappAS*, el cambio de sitio de poliadenilación se determina comparando las coordenadas genómicas de los sitios poli(A) encontrados en diversas isoformas de transcripción de un gen. Este método permite identificar variaciones en las posiciones de los sitios poli(A), tanto en exones terminales con diferentes puntos de inicio 5', como en regiones 3'UTR, permitiendo analizar eventos de poliadenilación alternativos que afectan la *codificación de proteínas* (CR-APA) o la *regulación de ARNm* (UTR-APA) (52).

2.4 Identificación de genes con cambio de podio

tappAS determina cuál es la versión principal de un gen (cambio de podio), identificándola como la que tiene la mayor expresión en cada condición de estudio. Las otras versiones se consideran isoformas menores. Cuando la versión principal cambia y se convierte en una versión menor en una condición o tiempo específico, se denomina cambio de podio o cambio de isoforma principal lo que sugiere la presencia de un posible cambio en el funcionamiento y localización de la proteína traducida por dichos transcritos (52).

2.5 Anotación funcional

Para realizar la anotación funcional de los genes identificados con APA y/o cambio de podio en la Distrofia Miotónica tipo 1 (DM1) se utilizó la herramienta *clusterProfiler*. Esta herramienta permite identificar y visualizar los procesos biológicos y componentes celulares más significativamente afectados, basados en los términos de la *Gene Ontology* (GO). A través de la generación de redes funcionales y gráficos de enriquecimiento (63).

3. Resultados

3.1 Poliadenilación diferencial con cambio de sitio y cambio de podio

En la Distrofia Miotónica 1, la pérdida de actividad de MBNL desregula la poliadenilación alternativa (APA), resultando en patrones de poliadenilación alterados (49). Después de analizar y comparar 4,767 isoformas del transcriptoma de 5 sujetos sanos y 22 pacientes con DM1, se encontró que 304 de estas isoformas presentan poliadenilación diferencial (DPA) (ANEXO 1), y de estas, 60 presentaron cambio de podio. En otras palabras, el 19.74% de las isoformas con DPA cambiaron de podio en la enfermedad (ANEXO 2)

3.2 Funciones moleculares asociadas a genes que presentan poliadenilación alternativa.

El citoesqueleto de actina está relacionado con diversas funciones celulares, y una regulación inadecuada de sus componentes puede conducir a enfermedades como: cáncer (64), trastornos neurológicos, las miocardiomiopatías (65), la colangiocitosis (66), la glomeruloesclerosis, el síndrome de Wiskott-Aldrich (67) y DM1. En nuestro análisis se obtuvieron 304 isoformas que presentan poliadenilación diferencial (DPA), de las cuales 38 están asociadas con funciones moleculares tales como la unión a actina, titina, filamentos de actina, constitución de la estructura del músculo y unión a la titina (figura 1A). En las 38 isoformas hay 7 que exhiben un cambio de podio; ASPH, KLHL3, LMOD3, MAP1A, MYH11, PDLIM3, PPP1R9A (Fig.1). LMOD3 se expresa en el músculo esquelético y cardíaco (predominantemente en el esquelético) se localiza en los filamentos delgados de actina, las disfunciones de este gen pueden resultar en la desorganización de los filamentos finos y miopatía nemelínica grave (68).

Con relación al sistema musculo esquelético se ha identificado 9 genes relacionados con la miopatía nemelínica: *NEB*, *ACTA1*, *TPM3*, *TPM2*, *CEFL2* y *TNNT1* que codifican componentes del filamento delgado sarcomérico en el músculo esquelético, mientras que se cree que *KBTBD13*, *KLHL40* y *KLHL41*, que pertenecen a la familia de proteínas *BTB-BACK-kelch* (BBK), involucradas en la ubiquitinación y degradación de proteínas (69,70). *MYH11* es un gen esencial para el ensamblaje de filamentos gruesos de miosina del musculo esquelético (71), se ha comprobado que la duplicación genómica de *MYH11* causa estrés en el retículo endoplásmico (RE) y autofagia en células del musculo liso de ratón (72) relacionándolo así con procesos de perdida muscular. En la DM1, al igual que en condiciones como la esclerodermia, el lupus eritematoso sistémico, la dermatomiositis, la polimiositis, la amiloidosis, la ceroidosis, encefalomiopatías mitocondriales y la distrofia muscular de Duchenne se ha observado *pseudoobstrucción intestinal crónica miopática* (CIPO), los genes de las proteínas del citoesqueleto implicados en la CIPO miopática incluyen *ACTG2*, *ACTA*, *MYH11*, *MYLK*, *LMOD1*, *MYL9*, *FLNA* (73).

Otras isoformas de interés que presentan poliadenilación diferencial (DPA) en nuestro estudio y son fundamentales para la mantener la estructura del músculo incluyen. La obscurina *OBSCN*, una proteína gigante involucrada en el ensamblaje del sarcómero desempeña un papel importante en la miofibrillogénesis (74). La titina *TTN* es una proteína estriada muscular gigante con una amplia importancia en la elasticidad y la integridad estructural de las miofibrillas (Fig.1). *TTN* presenta diferentes isoformas para diferentes tipos de células musculares (75). También se ha encontrado que *OBSCN* se ensambla con la titina en la banda M durante la formación de miofibrillas, ayudando a mantener la estructura del sarcómero (74).

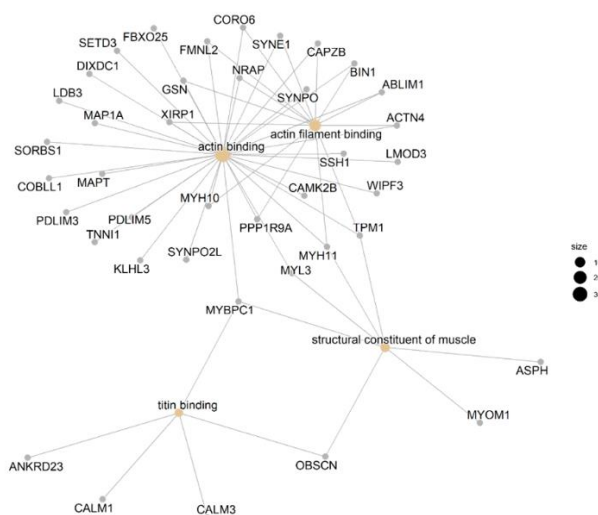


Figura 1. El gráfico representa en círculos amarillos las rutas metabólicas más significativamente alteradas por los genes cuyas isoformas poseen poliadenilación diferencial (DPA) en la comparación de muestras DM1 vs. Control. Los puntos grises interconectados con las rutas metabólicas indican los genes que forman parte de estas rutas.

3.3 Procesos biológicos alterados a causa de la poliadenilación alternativa en biopsias de tibial humano DM1.

Se identificó que en la DM1 se ven afectados procesos relacionados con el músculo, como la diferenciación de células musculares, el desarrollo del tejido muscular y funciones cardíaca (figura 2). Se ha demostrado mediante experimentos *in vivo* que ratones que carecen de *MBNL1* presentan dismorfia en la válvula cardíaca y alteraciones en la composición de la matriz extracelular. Por mecanismos como el empalme alternativo y la compartición de exones (76). En los resultados obtenidos *MBNL2* presenta poliadenilación alternativa.

Diferenciación de células musculares

Un proceso alterado en la diferenciación de células es la ruta del gen *EIF3F* que es parte del factor de iniciación de la traducción eucariota 3 (*EIF3*) y es necesario para varios pasos en la iniciación de la síntesis de proteínas (77–79). Se ha demostrado que la sobreexpresión de *EIF3F* inhibe la proliferación celular e induce a la apoptosis en células del melanoma y cáncer pancreático mientras que el silenciamiento de esta subunidad protege a las células del melanoma de la apoptosis, lo que indica que es regulador negativo de la traducción (80,81). Basado en estos datos, en la DM1 podría estar alterado el proceso de la diferenciación y proliferación celular, dado que los resultados obtenidos muestran que el gen *EIF3F* está poliadenilado y presenta cambio de podio.

Desarrollo de las células musculares

El desarrollo de las células musculares es uno de los procesos biológicos más afectados por la poliadenilación alternativa (APA). Un ejemplo clave es la proteína supresora de tumores *FBOX31*, que normalmente se mantiene en niveles bajos en células no estresadas, pero cuya expresión aumenta rápidamente tras el estrés genotóxico, conduciendo a la detención del crecimiento o senescencia celular (82). En este estudio, se identificó a *FBOX31* como un transcrito con poliadenilación alternativa y cambio de podio en pacientes con DM1, lo que sugiere que podría contribuir a la patogénesis de la enfermedad al alterar la homeostasis celular. Además, la alteración de la vía de la pentosa fosfato (PPP), crucial para la producción de metabolitos esenciales en el crecimiento y regeneración del músculo esquelético, es otra de las vías afectadas en DM1 (83). En

nuestros resultados los transcritos PPP2R5C, PPP3CB, y PPP1CC presentan poliadenilación alterativa y PPP1R9 muestra un cambio de podio. Estas alteraciones en la APA resaltan la relevancia de la vía PPP en la fisiopatología de DM1.

La disfunción mitocondrial es otro factor clave en DM1, influenciado por la poliadenilación alterativa. La fusión mitocondrial, crucial para la adaptación metabólica y distribución de componentes celulares, depende de proteínas como mitofusinas 1 y 2 (Mfn1, Mfn2) y la proteína de atrofia óptica 1 (OPA1), esencial para la fusión de las membranas internas y el mantenimiento del ADN mitocondrial (84). En las biopsias de DM1, OPA1 presenta cambio de podio, lo que podría comprometer la función mitocondrial y contribuir a los fenotipos musculares observados en DM1. Además, la poliadenilación alterativa también afecta la función de la polimerasa Δ de mamíferos, una enzima crucial en la replicación y reparación del ADN. En nuestro estudio, se encontró que POLD4, una de las subunidades de esta polimerasa, presenta poliadenilación alterativa, lo que podría alterar la estructura y función de la subunidad catalítica p12, afectando la estabilidad genómica en células de DM1 (85). También se ha comprobado que las repeticiones CTG pueden alterar la expresión de MAP1A, proteína esencial para la estabilización de microtúbulos y el crecimiento de neuritas. Nuestros resultados revelan que MAP1A presenta poliadenilación alterativa, lo que sugiere una conexión entre esta alteración y los fenotipos en DM1. Esta alteración podría estar alineada con la deficiencia de MAP1A documentada en estudios previos, que afecta la regeneración muscular y agrava la distrofia muscular (86,87).

Se ha demostrado que en modelos murinos con distrofia miotónica tipo 1 (neonatos HSA LR), la sobreexpresión de la proteína MSI2 provoca un aumento en el flujo autofágico y en la expresión de proteínas clave para este proceso, causando un incremento de núcleos centrales, reducción del área de las miofibras y disminución de la fuerza muscular (16). Estos efectos se producen independientemente de los niveles de MBNL1, MBNL2 y CELF1, que no mostraron variación tras la sobreexpresión de MSI2. La poliadenilación alterativa del transcrito MSI2 observada en nuestros resultados sugiere una posible conexión entre DM1 y alteraciones en la regulación de la autofagia. Otro gen relevante en el estudio de la DM1 es MBNL1 que se encarga de regular la transición de empalme de feto a adulto en el músculo esquelético (41), su ausencia funcional lleva a una regulación positiva de MBNL2, que en nuestros resultados también presenta poliadenilación alterativa.

Nuestros resultados revelaron que los transcritos MYOM1 y SIRT2 presentan poliadenilación alterativa, un hallazgo que complementa estudios previos donde la depleción de MBNL1 se asocia con la aparición de isoformas de empalme embrionario que impactan funciones críticas, como la distensibilidad del miocardio (MYOM1) y la supervivencia celular (CAPN3, SIRT2, CSDA) (88). La identificación de poliadenilación alterativa mal regulada en estos genes refuerza la idea de que las disfunciones observadas en la distrofia miotónica tipo 1 están mediadas por alteraciones en los mecanismos de procesamiento del ARN. Una proteína muy relevante en el estudio de DM1 es CELF2, en nuestro análisis presenta poliadenilación alterativa, previamente se demostró que CELF2 regula la poliadenilación en células (75) por ejemplo, la poliadenilación regulada por CELF2 que reprime la expresión de RBFOX2 (76), una proteína implicada en el desarrollo y mantenimiento de tejidos neuronales, musculares y cardíacos.

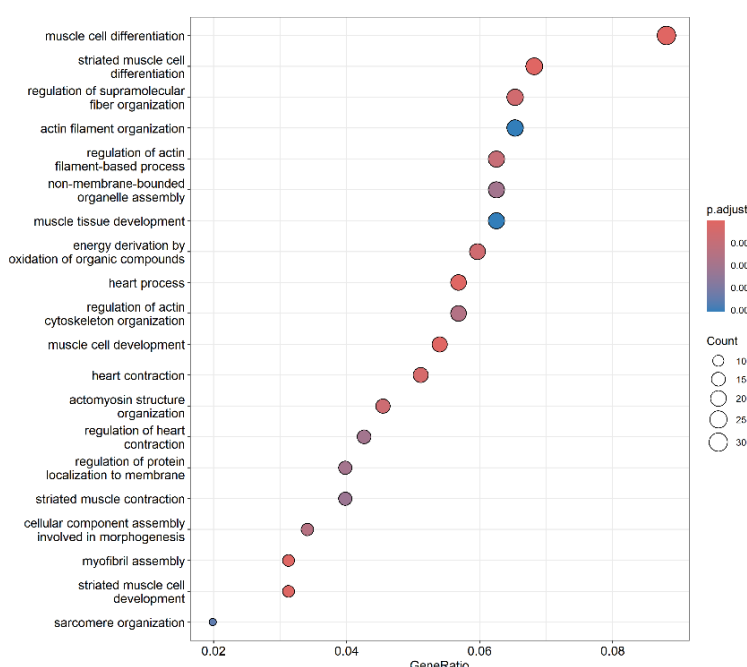


Figura 2 Ilustra la asociación de las isoformas que presentan DM1 con procesos biológicos clave como la diferenciación de células musculares, la organización de fibras y otros, enfatizando su relevancia en la biología muscular y cardíaca, acorde con los síntomas multisistémicos de la enfermedad.

3.4 Componentes celulares afectados en DM1 a causa de la poliadenilación alternativa en biopsias de tibial humano.

En biopsias de tibia humana de pacientes con distrofia miotónica tipo 1 (DM1), la poliadenilación alternativa afecta diversos componentes celulares cruciales. En el sarcómero, CELF1, regulado positivamente por GSK3B, muestra poliadenilación alternativa, lo que podría contribuir a disfunciones en la estructura sarcomérica, como se evidenció en estudios de modelos murinos y de *Drosophila* donde la alteración de la expresión de Bru-3 afecta negativamente los niveles de ARNm de componentes sarcoméricos (13,91). En el lamelipodio, crucial para el movimiento celular, la poliadenilación alternativa de EGF y CDC42, ambos implicados en la formación y función del lamelipodio, sugiere posibles disfunciones en la motilidad celular en DM1 (92–94). En relación con los filamentos de actina, se observa que PDLIM3 presenta poliadenilación alternativa con cambio de podio, lo que podría alterar la organización de los filamentos de actina y afectar la migración celular en DM1 (95). Además, el déficit de MBNL1 está asociado con la función del sarcómero y el citoesqueleto (TRIM55, MAPT, PDLIM3, PDLIM5, SORBS1, SORBS2, FHOD1 Y SPAG9) y componentes estructurales del sarcómero (TNNT2, LDB3)(101). En los resultados obtenidos los transcritos MAPT, SORBS1, LDB3 presentan poliadenilación alternativa.

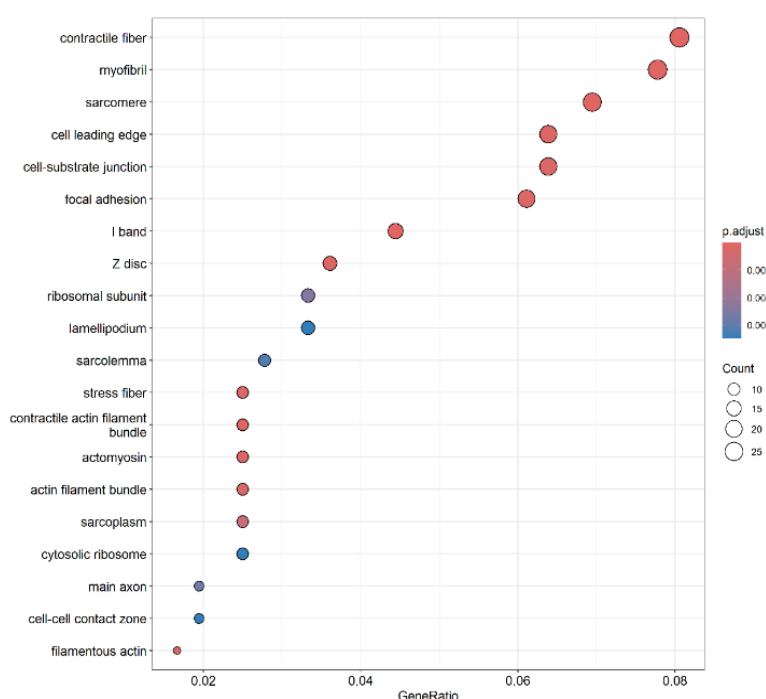


Figura 3 Resalta los componentes celulares afectados en biopsias DM1, como fibras contráctiles, adhesión celular, maquinaria de traducción y otros, subrayando su importancia en la fisiopatología muscular y estructural de la enfermedad.

3.5 Otros procesos biológicos clave en la distrófia miotónica tipo 1 (DM1) relacionados con los resultados obtenidos.

Homeostasis Iónica

CACNA1S Y ASPH están implicados en la señalización del calcio y en nuestros resultados presenta poliadenilación alternativa diferencial (DPA). CANA1S o subunidad alfa 1A del canal dependiente de voltaje de calcio, regula de manera positiva la concentración de iones de calcio citosólico (97). Previamente se identificó un proceso de empalme alterado en el ARNm del gen CACNA1S que, en fibras musculares maduras, contribuye a la liberación de Ca^{2+} inducida eléctricamente, lo que resulta en debilidad muscular (33). Además, ASPH es una proteína de detección de Ca^{2+} unida a la membrana, que es un componente estructural de la unión entre el RE y la membrana plasmática. ASPH codifica 4 isoformas: AspH, humbug, junctin y junctate (98). La isoforma ASPH regula la actividad de los canales de Ca^{2+} liberados y activados (CRAC) en las células T (99), está involucrado en la unión de iones de calcio, la unión del transportador de membrana y entre sus vías se encuentran la conducción cardíaca, el metabolismo de proteínas (100) (Anexo 3).

Numerosos trastornos hereditarios se han asociado con mutaciones en los canales de sodio (NaCh), incluidas enfermedades del músculo esquelético, trastornos cardíacos, migraña y epilepsia (101,102). Previamente se ha demostrado que la depleción de MBNL1 resulta en la persistencia de isoformas de empalme embrionario, algunos de ellos involucrados en las corrientes de sodio y calcio (SCN5A, JUNCTIN, JUNCTATE, ATP2A1, ATP11A, CACNA1S, RYR2) en los resultados obtenidos los genes SCN1B y ATP2A2 (SERCA2) presentan poliadenilación alternativa (100). SCN1B codifica la subunidad beta 1 ($\beta 1$) de los canales de sodio dependientes de voltaje, importantes para la fase ascendente del potencial de acción en células excitables como las neuronas y las células musculares. La subunidad $\beta 1$ de los canales de sodio dependientes de voltaje es una proteína auxiliar que interactúa con varias subunidades alfa (α), incluidas SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN4A, SCN5A, esta interacción permite la formación del poro del canal por donde fluyen los iones de sodio, esta asociación influye en cómo se abren y cierran los canales, así como en su sensibilidad al voltaje y en la velocidad de su respuesta a los cambios en el potencial de membrana (103,104). Además la disminución de SERCA en cardiomiocitos KO conduce a una acumulación de Na^{+} intracelular debido al aumento de la actividad del NCX y del intercambiador $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$, agravada por la acidosis. Esta acumulación contribuye a un ciclo de retroalimentación negativa que empeora la insuficiencia cardíaca (105). Aparte de los iones más comúnmente conocidas la presencia de APA con cambio de podía en el gen

La poliadenilación alternativa de ANKRD9 podría sugerir que células musculares DM1 pueden presentar irregularidades en los procesos de homeostasis iónica del cobre (Anexo 3).

Enfermedades de la transducción de señales por receptores de factores de crecimiento y segundos mensajeros.

La contracción muscular se inicia cuando una célula pasa del estado de reposo a la contracción gracias a la regulación del calcio. El calcio ingresa desde el citosol hasta el retículo sarcoplásmico por la bomba de calcio SERCA donde es utilizado por calsequestrina (CASQ) para sintetizar TRDN, ASPH y regular negativamente RYR. RYR es un canal de Ca^{2+} que se encuentra en la membrana del retículo sarcoplásmico su función es permitir la liberación de Ca^{2+} al citosol, lo que facilita el ciclo de puentes cruzados en el complejo troponina que involucra proteínas como MYH11, MYL3, TNNI1, TPM1, que ayudan en el proceso de generación de fuerza para la contracción muscular a través de la hidrólisis de ATP (106,107). En este estudio se identificó grupos de genes con poliadenilación alternativa asociados con funciones de la contracción muscular, ATP2A2, ASPH, TPM1, MYH11, CALM1 (Tabla2). En DM1 se presenta miotonía que es una condición neuromuscular que causa dificultad al relajar los músculos. La alteración en estos genes podría ser clave para entender este aspecto de la enfermedad.

En nuestros resultados el factor de crecimiento EGF y segundos mensajeros como AKT1, AKT2 presentan poliadenilación alternativa con cambio de podio. AKT es una proteína que se encuentra regulada negativamente en DM1 (108), juega un papel crítico en la endocitosis. Su activación está regulada por la activación de receptores tirosina quinasa como el receptor del factor de crecimiento epidérmico EGFR (109). Cuando EGFR está neddilatado recluta proteínas de la maquinaria endocítica de manera similar al EGFR monoubiquitinado lo que induce a la regulación negativa de EGFR y por ende reduce los niveles de AKT (109). EGF estimula la neddilación y ubiquitinación de EGFR, lo que mejora la ubiquitinación posterior, así como la clasificación de EGFR para su degradación (109). En ratones que carecen MBNL1 Y 2 presentan firmas moleculares como la reducción del 50% de las proteínas del factor de crecimiento EGF (110)(Anexo 3).

Fosforilación de CREB mediada por CaMK IV

La calmodulina (CaM) y sus isoformas (CALM1, CALM2, CALM3) son cruciales para la activación de CaMK IV, ya que la unión de Ca^{2+} a CaM permite que esta proteína se asocie con y active CaMK IV. Además, CaMKK desempeña un papel fundamental en la activación de CaMK IV y otras quinasas dependientes de CaM mediante la fosforilación. Esta cascada de activación tiene un impacto significativo en una amplia gama de procesos celulares y fisiológicos. En particular, CaMK IV regula la transcripción de genes esenciales para la plasticidad neuronal, la morfogénesis y la regulación metabólica, en particular juega un papel crucial en la regulación de la transcripción de genes importantes para estos procesos, a través de la

fosforilación de factores de transcripción como CREB (111). Con base en los resultados obtenidos, se sugiere que en la DM1 pueden presentarse alteraciones en las vías tipo CALM y CaMK, dado que CALM1, CALM3, CaMK2A y CaMK2B presentan poliadenilación alterativa.

Conducción Cardíaca

La bomba de calcio SERCA (ATP2A2) es crucial para la función diastólica y sistólica del corazón al regular el ciclo de calcio intracelular, facilitando la contracción durante la sístole y la relajación durante la diástole (112). El envejecimiento afecta la función cardiovascular, resultando en contracciones miocárdicas más lentas y una relajación ventricular incompleta en comparación con individuos más jóvenes (113). Este deterioro se debe en parte al aumento del estrés oxidativo en el miocardio senescente, que daña SERCA y desregula la maquinaria de manejo del calcio, contribuyendo a la disfunción diastólica y a la insuficiencia cardíaca (114,115). Considerando los datos obtenidos en este estudio se sugiere que las alteraciones en la función diastólica sistólica del corazón en DM1 podría estar relacionada con la poliadenilación alterativa con cambio de podio de SERCA (ATP2A2). Además, se ha descubierto que la proteína quinasa II dependiente de Ca^{2+} /Calmodulina (CaMKII), es casi menor en un 50% en corazones de ratas envejecidas (116). La poliadenilación alterativa presente en SERCA y CAMK2 puede contribuir a una función deteriorada del proceso de conducción cardíaca.

Regulación de la expresión y degradación de TP53.

La neddilación es un mecanismo postraducciona reversible que regula algunas funciones en la célula, la neddilación conduce a la unión de NEDD8 a residuos de lisina de una proteína sustrato a través de una cascada enzimática que comienza con la enzima activadora de NEDD8 E1 (NAE), las enzimas conjugadoras de NEDD8 E2 (UBC12/UBE2M O UBE2F) y las ligasas NEDD8 E3 específicas de sustrato (117). La ubiquitina y NEDD8 son similares en un 59% (118) pero a pesar de su similitud tienen funciones no intercambiables (119,120). La neddilación interviene en diversas funciones biológicas relativas a los genes MDM2 (121), PML (122), PTPN11(123). MDM2 es una ubiquitina ligasa E3 que puede agregar NEDD8 a la proteína supresora de tumores p53, inhibiendo su capacidad para activar genes importantes en respuesta al daño celular (121). Los resultados de este estudio muestran una relación clara entre los genes involucrados en la neddilación y aquellos que presentan poliadenilación alterativa como MDM2, PML y PTPN11.

Discusión

La distrofia miotónica tipo 1 (DM1) es una enfermedad multisistémica causada por repeticiones anormales de segmentos de ADN (CTG o CCTG) que afectan a músculos, corazón y sistema nervioso, entre otros. Estas repeticiones atrapan proteínas esenciales para la función muscular, como las proteínas MBNL. La cantidad de proteínas atrapadas varía con la longitud de las repeticiones y el nivel de expresión, lo que contribuye a la variabilidad de los síntomas (19). Un aspecto crítico de la patogénesis de DM1 es la alteración en la regulación de la poliadenilación alterativa (APA), un proceso influenciado por la desregulación de las proteínas MBNL (2). En la última década, se ha observado que la expresión génica y la APA pueden ser procesos independientes, con cambios en las isoformas 3'UTR que no siempre afectan la expresión génica global (54,124–127). Esta disociación sugiere que la APA alterada puede generar isoformas de ARNm anómalas, contribuyendo a la diversidad funcional de las proteínas y a la aparición de síntomas clínicos en DM1.

En este estudio, utilizamos *tappAS* para analizar la APA en secuencias de biopsias tibiales de 50 sujetos con DM1, empleando datos del repositorio de secuenciación profunda. *tappAS* permite identificar y comparar sitios de poliadenilación entre isoformas del mismo gen, calculando la distancia entre estos sitios y etiquetándolos como APA cuando superan un umbral predefinido. Este enfoque proporciona información detallada sobre cómo las variaciones en los extremos 3' del ARNm pueden afectar la función génica y la expresión proteica (52).

Nuestros análisis revelaron 304 isoformas con diferencias en poliadenilación (DPA), de las cuales 60 presentaron cambios de podio (poliA switch). A continuación, discutimos algunos de los hallazgos más relevantes: ARID2 está asociado con la progresión tumoral y una mayor sensibilidad a la quimioterapia en el cáncer de pulmón (128). La alteración en APA en ARID2 podría influir en su función reguladora, sugiriendo un papel potencial en la patogénesis de DM1. La expresión de BTBD3 en el hipocampo regula conductas exploratorias y compulsivas (129). La poliadenilación alterativa observada en BTBD3 podría afectar la función reguladora en personas con DM1, implicando posibles alteraciones en el comportamiento. ASPH, también conocido como junctate es crucial para la detección de Ca^{2+} en el retículo endoplásmico (99). Su alteración en APA y el cambio de podio podrían estar relacionados con disfunciones en los canales de calcio, contribuyendo a la degeneración muscular en DM1 (34). KLHL3 está asociado con la hipertensión y pseudohipoadosteronismo tipo II (130), en los resultados obtenidos KLHL3 presenta poliadenilación alterativa diferencial (DPA), lo que podrían tener implicaciones en la afectación cardíaca en DM1 (131). LMOD3 está descrito como un biomarcador potencial en pacientes con DM1 (132), nuestro estudio respalda un desequilibrio en su expresión, sugiriendo que presenta DPA lo que podría generar una isoforma defectuosa relacionada con fenotipos DM1. MAP1A está asociado con la esclerosis lateral amiotrófica, que comparte síntomas con DM1, como debilidad muscular progresiva y pérdida del control motor (133). La alteración en APA de MAP1A podría estar vinculada con la manifestación clínica de DM1. MYH11 está relacionado con enfermedades cardíacas y gastrointestinales,

como el síndrome de megacistis-microcolon-hipoperistalsis intestinal 2, y aneurisma aórtico torácico familiar 4 y la miopatía visceral (134). Su alteración en APA podría contribuir a los problemas cardiovasculares observados en DM1. PDLIM3 está asociado con distrofia muscular facioescapulohumeral y miocardiopatía dilatada (135). La isoforma alterada de PDLIM3 podría estar implicada en la manifestación de DM1. MBNL2 es similar y suplente de MBNL1, su poliadenilación alternativa podría reflejar problemas en la regulación de la ubiquitinación, afectando la función celular en DM1 (29). El gen MSI2 desencadena fenotipos en la distrofia miotínica 1, el hecho de que en nuestros resultados este poliadenilado hace pensar que al igual que MBNL1 se ve afectado por la expansión de trinucleótidos, puede haber otra ruta alterada en la que un gen desconocido es responsable de mal regular la poliadenilación de MSI2. Además es interesante como el Factor específico de poliadenilación CPSF6 presenta poliadenilación alternativa, CPSF6 es un componente clave en la maquinaria de CPA que no solo determina el sitio de escisión del ARN naciente, sino que también regula la formación del extremo 3' del mRNA mediante la poliadenilación. En este contexto, la presencia de isoformas diferentes de CPSF6 puede influir en la regulación de la poliadenilación alternativa (APA) de otros pre-ARNm(55).

Estos hallazgos subrayan la importancia de considerar la poliadenilación alternativa y los cambios de podio de isoformas como factores clave en la heterogeneidad fenotípica observada en DM1. La identificación de nuevos biomarcadores asociados a la enfermedad proporciona una base sólida para futuras investigaciones sobre los mecanismos moleculares subyacentes y el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a restaurar la función normal de las proteínas MBNL, así como a mitigar los efectos clínicos de DM1.

5. Conclusiones

El análisis de poliadenilación alternativa reveló que un significativo porcentaje (19.74%) de los genes con poliadenilación diferencial en DM1 presentan cambios en la versión principal o cambio de podio. Esto sugiere que en DM1, las versiones predominantes de los genes pueden cambiar, afectando potencialmente la funcionalidad y expresión génica. Los eventos de cambio de podio pueden tener implicaciones críticas en la adaptación y regulación celular, impactando la estructura y función de las proteínas codificadas.

Se identificaron varias isoformas con poliadenilación alternativa asociadas con funciones clave en la célula, como la unión a actina y la constitución del músculo. Los genes con cambios de podio, como ASPH y LMOD3, están relacionados con la organización del citoesqueleto y la miofibrillogénesis. Las alteraciones en estos genes podrían contribuir a la desorganización de los filamentos de actina y problemas en la miofibrillogénesis, que son característicos de la DM1.

La poliadenilación alternativa de genes como EIF3F y FBOX31, junto con el cambio de podio, indica posibles alteraciones en la regulación de la diferenciación y proliferación celular en DM1. Estos cambios podrían afectar procesos esenciales como la respuesta al estrés y la regulación de la apoptosis, lo que se alinea con las observaciones clínicas de alteraciones en la función celular en la DM1.

La poliadenilación alternativa en genes relacionados con la homeostasis iónica, como CACNA1S y ASPH, así como en componentes del metabolismo celular como los genes de la vía de la pentosa fosfato, sugiere un impacto en la regulación del calcio y el sodio, así como en el metabolismo energético. Estas alteraciones podrían contribuir a problemas en la contracción muscular y la función cardíaca, aspectos críticos en la DM1.

La identificación de cambios en la poliadenilación y el cambio de podio en genes como PDLIM3 y CELF1 sugiere posibles disfunciones en la organización del sarcómero y el movimiento celular. Las alteraciones en estas proteínas esenciales para el mantenimiento de la estructura celular y el lamelipodio podrían explicar problemas en la migración celular y la contracción muscular observados en pacientes con DM1.

Sugerencias

Es crucial explorar la recuperación funcional de MBNL *in vivo* y llevar a cabo análisis de secuenciación para identificar qué transcritos, entre los mencionados en este estudio, continúan presentando poliadenilación alternativa. Este enfoque permitirá determinar qué otras rutas, además de las reguladas por MBNL1, están afectadas debido a una poliadenilación alternativa mal regulada en DM1.

Referencias citadas

1. Pennock E, Mahadevan MS. Therapeutics development in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* [Internet]. 2011 Aug [cited 2024 Jul 16];44(2):160–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21607985/>
2. Wang ET, Treacy D, Eichinger K, Struck A, Estabrook J, Olafson H, et al. Transcriptome alterations in myotonic dystrophy skeletal muscle and heart. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2019 Apr 15 [cited 2024 Jul 16];28(8):1312–21. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddy432>
3. Peric S, Nisic T, Milicev M, Basta I, Marjanovic I, Peric M, et al. Hypogonadism and erectile dysfunction in myotonic dystrophy type 1. *Acta Myologica* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jul 29];32(2):106. Available from: </pmc/articles/PMC3866901/>
4. Matsumura T, Iwahashi H, Funahashi T, Takahashi MP, Saito T, Yasui K, et al. A cross-sectional study for glucose intolerance of myotonic dystrophy. *J Neurol Sci*. 2009 Jan 15;276(1–2):60–5.
5. Savkur RS, Philips A V., Cooper TA. Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nature Genetics* 2001 29:1 [Internet]. 2001 Aug 27 [cited 2024 Jul 29];29(1):40–7. Available from: <https://www.nature.com/articles/ng704z>
6. Overby SJ, Cerro-Herreros E, Llamusi B, Artero R. RNA-mediated therapies in myotonic dystrophy. *Drug Discov Today*. 2018 Dec 1;23(12):2013–22.
7. Magaña JJ, Cisneros B, Magaña JJ, Cisneros B. Myotonic Dystrophy Type 1 (DM1): From the Genetics to Molecular Mechanisms. *Muscular Dystrophy* [Internet]. 2012 May 9 [cited 2024 Aug 18]; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/36727>
8. Jones K, Wei C, Iakova P, Bugiardini E, Schneider-Gold C, Meola G, et al. GSK3 β mediates muscle pathology in myotonic dystrophy. *J Clin Invest* [Internet]. 2012 Dec 3 [cited 2024 Jul 16];122(12):4461–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23160194/>
9. Morriss GR, Rajapakshe K, Huang S, Coarfa C, Cooper TA. Mechanisms of skeletal muscle wasting in a mouse model for myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2018 Aug 15 [cited 2024 Jul 17];27(16):2789–804. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddy192>
10. Ravel-Chapuis A, Duchesne E, Jasmin BJ. Pharmacological and exercise-induced activation of AMPK as emerging therapies for myotonic dystrophy type 1 patients. *J Physiol* [Internet]. 2022 Jul 1 [cited 2024 Jul 29];600(14):3249–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35695045/>
11. Kuyumcu-Martinez NM, Wang GS, Cooper TA. Increased steady-state levels of CUGBP1 in myotonic dystrophy 1 are due to PKC-mediated hyperphosphorylation. *Mol Cell* [Internet]. 2007 Oct 12 [cited 2024 Jul 29];28(1):68–78. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17936705/>

12. Yadava RS, Foff EP, Yu Q, Gladman JT, Zheng TS, Mahadevan MS. TWEAK Regulates Muscle Functions in a Mouse Model of RNA Toxicity. *PLoS One* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Jul 29];11(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26901467/>
13. Wei C, Stock L, Valanejad L, Zalewski ZA, Karns R, Puymirat J, et al. Correction of GSK3 β at young age prevents muscle pathology in mice with myotonic dystrophy type 1. *The FASEB Journal* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 Jul 29];32(4):2073. Available from: [/pmc/articles/PMC5893173/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/305893173/)
14. Ravel-Chapuis A, Bélanger G, Yadava RS, Mahadevan MS, DesGroseillers L, Côté J, et al. The RNA-binding protein Staufen1 is increased in DM1 skeletal muscle and promotes alternative pre-mRNA splicing. *J Cell Biol* [Internet]. 2012 Mar 19 [cited 2024 Jul 29];196(6):699–712. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22431750/>
15. Li M, Zhuang Y, Batra R, Thomas JD, Li M, Nutter CA, et al. HNRNPA1-induced spliceopathy in a transgenic mouse model of myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2020 Mar 10 [cited 2024 Jul 29];117(10):5472–7. Available from: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1907297117>
16. Sabater-Arcis M, Moreno N, Sevilla T, Perez Alonso M, Bargiela A, Artero R. Msi2 enhances muscle dysfunction in a myotonic dystrophy type 1 mouse model. *Biomed J*. 2024 Aug 1;47(4):100667.
17. Voellenkle C, Perfetti A, Carrara M, Fuschi P, Renna LV, Longo M, et al. Dysregulation of Circular RNAs in Myotonic Dystrophy Type 1. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Apr 2 [cited 2024 Jul 29];20(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31010208/>
18. Czubak K, Sedehizadeh S, Kozłowski P, Wojciechowska M. An Overview of Circular RNAs and Their Implications in Myotonic Dystrophy. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol 20, Page 4385 [Internet]. 2019 Sep 6 [cited 2024 Jul 29];20(18):4385. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4385/htm>
19. Fernandez-Costa JM, Garcia-Lopez A, Zuñiga S, Fernandez-Pedrosa V, Felipe-Benavent A, Mata M, et al. Expanded CTG repeats trigger miRNA alterations in *Drosophila* that are conserved in myotonic dystrophy type 1 patients. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2013 Feb [cited 2024 Jul 29];22(4):704–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23139243/>
20. Gambardella S, Rinaldi F, Lepore SM, Viola A, Loro E, Angelini C, et al. Overexpression of microRNA-206 in the skeletal muscle from myotonic dystrophy type 1 patients. *J Transl Med* [Internet]. 2010 May 20 [cited 2024 Jul 29];8(1):1–9. Available from: <https://link.springer.com/articles/10.1186/1479-5876-8-48>
21. Perbellini R, Greco S, Sarra-Ferraris G, Cardani R, Capogrossi MC, Meola G, et al. Dysregulation and cellular mislocalization of specific miRNAs in myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscular Disorders*. 2011 Feb 1;21(2):81–8.

22. Cerro-Herreros E, Fernandez-Costa JM, Sabater-Arcis M, Llamusi B, Artero R. Derepressing muscleblind expression by miRNA sponges ameliorates myotonic dystrophy-like phenotypes in *Drosophila*. *Scientific Reports* 2016 6:1 [Internet]. 2016 Nov 2 [cited 2024 Jul 29];6(1):1–13. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep36230>
23. Perfetti A, Greco S, Cardani R, Fossati B, Cuomo G, Valaperta R, et al. Validation of plasma microRNAs as biomarkers for myotonic dystrophy type 1. *Scientific Reports* 2016 6:1 [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2024 Jul 29];6(1):1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep38174>
24. Mikhail AI, Nagy PL, Manta K, Rouse N, Manta A, Ng SY, et al. Aerobic exercise elicits clinical adaptations in myotonic dystrophy type 1 patients independently of pathophysiological changes. *J Clin Invest* [Internet]. 2022 May 16 [cited 2024 Jul 29];132(10). Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI156125>
25. Di Leo V, Lawless C, Roussel MP, Gomes TB, Gorman GS, Russell OM, et al. Resistance Exercise Training Rescues Mitochondrial Dysfunction in Skeletal Muscle of Patients with Myotonic Dystrophy Type 1. *J Neuromuscul Dis* [Internet]. 2023 Nov 7 [cited 2024 Jul 29];10(6):1111–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37638448/>
26. Hasuike Y, Mochizuki H, Nakamori M. Cellular Senescence and Aging in Myotonic Dystrophy. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol 23, Page 2339 [Internet]. 2022 Feb 20 [cited 2024 Jul 29];23(4):2339. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/4/2339/htm>
27. Bigot A, Klein AF, Gasnier E, Jacquemin V, Ravassard P, Butler-Browne G, et al. Large CTG Repeats Trigger p16-Dependent Premature Senescence in Myotonic Dystrophy Type 1 Muscle Precursor Cells. *Am J Pathol*. 2009 Apr 1;174(4):1435–42.
28. Conte TC, Duran-Bishop G, Orfi Z, Mokhtari I, Deprez A, Côté I, et al. Clearance of defective muscle stem cells by senolytics restores myogenesis in myotonic dystrophy type 1. *Nature Communications* 2023 14:1 [Internet]. 2023 Jul 19 [cited 2024 Jul 29];14(1):1–17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-39663-3>
29. Wang PY, Chang KT, Lin YM, Kuo TY, Wang GS. Ubiquitination of MBNL1 Is Required for Its Cytoplasmic Localization and Function in Promoting Neurite Outgrowth. *Cell Rep* [Internet]. 2018 Feb 27 [cited 2024 Jul 24];22(9):2294–306. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29490267/>
30. Cisco LA, Sipple MT, Edwards KM, Thornton CA, Lueck JD. Verapamil mitigates chloride and calcium bi-channelopathy in a myotonic dystrophy mouse model. *J Clin Invest* [Internet]. 2024 Jan 2 [cited 2024 Jul 29];134(1). Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI176089>
31. Charlet-B. N, Savkur RS, Singh G, Philips A V., Grice EA, Cooper TA. Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol Cell* [Internet]. 2002 [cited 2024 Aug 15];10(1):45–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12150906/>

-
32. Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H, Beck CL, Bowers WJ, Moxley RT, et al. Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of CIC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol Cell* [Internet]. 2002 [cited 2024 Aug 3];10(1):35–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12150905/>
 33. Rau F, Freyermuth F, Fugier C, Villemin JP, Fischer MC, Jost B, et al. Misregulation of miR-1 processing is associated with heart defects in myotonic dystrophy. *Nat Struct Mol Biol* [Internet]. 2011 Jul [cited 2024 Jul 29];18(7):840–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21685920/>
 34. Tang ZZ, Yarotskyy V, Wei L, Sobczak K, Nakamori M, Eichinger K, et al. Muscle weakness in myotonic dystrophy associated with misregulated splicing and altered gating of Ca(V)1.1 calcium channel. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2012 Mar [cited 2024 Jul 29];21(6):1312–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22140091/>
 35. Freyermuth F, Rau F, Kokunai Y, Linke T, Sellier C, Nakamori M, et al. Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. *Nat Commun* [Internet]. 2016 Apr 11 [cited 2024 Aug 3];7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27063795/>
 36. Ho TH, Charlet-B N, Poulos MG, Singh G, Swanson MS, Cooper TA. Muscleblind proteins regulate alternative splicing. *EMBO Journal*. 2004 Aug 4;23(15):3103–12.
 37. Philips A V., Timchenko LT, Cooper TA. Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* (1979). 1998 May 1;280(5364):737–41.
 38. Rau F, Lainé J, Ramanoudjame L, Ferry A, Arandel L, Delalande O, et al. Abnormal splicing switch of DMD's penultimate exon compromises muscle fibre maintenance in myotonic dystrophy. *Nat Commun* [Internet]. 2015 May 28 [cited 2024 Aug 3];6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26018658/>
 39. Konieczny P, Stepniak-Konieczna E, Sobczak K. MBNL proteins and their target RNAs, interaction and splicing regulation. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2014 Sep 29 [cited 2024 Aug 3];42(17):10873–87. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/nar/gku767>
 40. Charizanis K, Lee KY, Batra R, Goodwin M, Zhang C, Yuan Y, et al. Muscleblind-like 2-mediated alternative splicing in the developing brain and dysregulation in myotonic dystrophy. *Neuron* [Internet]. 2012 Aug 9 [cited 2024 Jul 29];75(3):437–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22884328/>
 41. Poulos MG, Batra R, Li M, Yuan Y, Zhang C, Darnell RB, et al. Progressive impairment of muscle regeneration in muscleblind-like 3 isoform knockout mice. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2013 Sep 9 [cited 2024 Jul 23];22(17):3547. Available from: [/pmc/articles/PMC3736872/](https://pmc/articles/PMC3736872/)

42. Choi J, Dixon DM, Dansithong W, Abdallah WF, Roos KP, Jordan MC, et al. Muscleblind-like 3 deficit results in a spectrum of age-associated pathologies observed in myotonic dystrophy. *Scientific Reports* 2016 6:1 [Internet]. 2016 Aug 3 [cited 2024 Jul 29];6(1):1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep30999>
43. Spruce T, Plass M, Gohr A, Ray D, de Lagrán MM, Rot G, et al. The X-linked splicing regulator MBNL3 has been co-opted to restrict placental growth in eutherians. *PLoS Biol* [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2024 Aug 3];20(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35476669/>
44. Cerro-Herreros E, González-Martínez I, Moreno N, Espinosa-Espinosa J, Fernández-Costa JM, Colom-Rodrigo A, et al. Preclinical characterization of antagomiR-218 as a potential treatment for myotonic dystrophy. *Mol Ther Nucleic Acids* [Internet]. 2021 Dec 12 [cited 2024 Aug 3];26:174. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35476669/>
45. Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H, et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* [Internet]. 1992 Feb 21 [cited 2024 Jul 16];68(4):799–808. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1310900/>
46. Kanadia RN, Johnstone KA, Mankodi A, Lungu C, Thornton CA, Esson D, et al. A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* [Internet]. 2003 Dec 12 [cited 2024 Aug 3];302(5652):1978–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14671308/>
47. Kalsotra A, Singh RK, Gurha P, Ward AJ, Creighton CJ, Cooper TA. The Mef2 transcription network is disrupted in myotonic dystrophy heart tissue, dramatically altering miRNA and mRNA expression. *Cell Rep* [Internet]. 2014 [cited 2024 Aug 3];6(2):336–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24412363/>
48. Wang ET, Cody NAL, Jog S, Biancolella M, Wang TT, Treacy DJ, et al. Transcriptome-wide regulation of pre-mRNA splicing and mRNA localization by muscleblind proteins. *Cell* [Internet]. 2012 Aug 17 [cited 2024 Jul 29];150(4):710–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22901804/>
49. Batra R, Charizanis K, Manchanda M, Mohan A, Li M, Finn DJ, et al. Loss of MBNL leads to disruption of developmentally regulated alternative polyadenylation in RNA-mediated disease. *Mol Cell* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jul 29];56(2):311–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25263597/>
50. Tian B, Manley JL. Alternative polyadenylation of mRNA precursors. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2017 Dec 19 [cited 2024 Aug 3];18(1):18–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27677860/>
51. Gruber AJ, Zavolan M. Alternative cleavage and polyadenylation in health and disease. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 Jul 29];20(10):599–614. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31267064/>
52. De La Fuente L, Arzalluz-Luque Á, Tardáguila M, Del Risco H, Martí C, Tarazona S, et al. TappAS: A comprehensive computational framework for the analysis of the functional impact of differential splicing.

- Genome Biol [Internet]. 2020 May 18 [cited 2024 Jul 29];21(1):1–32. Available from: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-020-02028-w>
53. Lianoglou S, Garg V, Yang JL, Leslie CS, Mayr C. Ubiquitously transcribed genes use alternative polyadenylation to achieve tissue-specific expression. *Genes Dev* [Internet]. 2013 Nov 1 [cited 2024 Jul 29];27(21):2380–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24145798/>
54. Fansler MM, Mitschka S, Mayr C. Comprehensive annotation of 3'UTRs from primary cells and their quantification from scRNA-seq data. *bioRxiv* [Internet]. 2023 Jun 22 [cited 2024 Aug 3];2021.11.22.469635. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.11.22.469635v2>
55. Mitschka S, Mayr C. Context-specific regulation and function of mRNA alternative polyadenylation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2022 23:12 [Internet]. 2022 Jul 7 [cited 2024 Aug 18];23(12):779–96. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41580-022-00507-5>
56. Mayr C. Regulation by 3'-Untranslated Regions. *Annu Rev Genet* [Internet]. 2017 Nov 27 [cited 2024 Jul 29];51:171–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28853924/>
57. Mayr C. What Are 3' UTRs Doing? *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 Jul 29];11(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30181377/>
58. Chen X, Mayr C. A working model for condensate RNA-binding proteins as matchmakers for protein complex assembly. *RNA* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2024 Jul 29];28(1):76–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34706978/>
59. Derti A, Garrett-Engle P, MacIsaac KD, Stevens RC, Sriram S, Chen R, et al. A quantitative atlas of polyadenylation in five mammals. *Genome Res* [Internet]. 2012 Jun [cited 2024 Aug 3];22(6):1173–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22454233/>
60. dmseq. secuencia DM [Internet]. [cited 2024 Aug 3]. Available from: <http://dmseq.org/>
61. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* [Internet]. 2013 Jan [cited 2024 Aug 3];29(1):15. Available from: <https://pmc/articles/PMC3530905/>
62. Li B, Dewey CN. RSEM: Accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics* [Internet]. 2011 Aug 4 [cited 2024 Aug 20];12(1):1–16. Available from: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-12-323>
63. Wu T, Hu E, Xu S, Chen M, Guo P, Dai Z, et al. clusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *Innovation*. 2021 Aug 28;2(3).

64. Li M, Peng L, Wang Z, Liu L, Cao M, Cui J, et al. Roles of the cytoskeleton in human diseases. *Molecular Biology Reports* 2022 50:3 [Internet]. 2023 Jan 6 [cited 2024 Jul 29];50(3):2847–56. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-022-08025-5>
65. Myers KA, he Y, Hasaka TP, Baas PW. Microtubule Transport in the Axon: Re-thinking a Potential Role for the Actin Cytoskeleton. <http://dx.doi.org/10.1177/1073858405283428> [Internet]. 2006 Apr 1 [cited 2024 Jul 25];12(2):107–18. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1073858405283428>
66. Doctor RB, Fouassier L. Emerging roles of the actin cytoskeleton in cholangiocyte function and disease. *Semin Liver Dis* [Internet]. 2002 Aug [cited 2024 Aug 3];22(3):263–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12360420/>
67. Huang KY, Lai MW, Lee WI, Huang YC. Fatal Cytomegalovirus Gastrointestinal Disease in an Infant with Wiskott-Aldrich Syndrome. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2008 Jan 1;107(1):64–7.
68. Yuen M, Sandaradura SA, Dowling JJ, Kostyukova AS, Moroz N, Quinlan KG, et al. Leiomodin-3 dysfunction results in thin filament disorganization and nemaline myopathy. *J Clin Invest* [Internet]. 2014 Nov 3 [cited 2024 Jul 24];124(11):4693–708. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25250574/>
69. Romero NB, Sandaradura SA, Clarke NF. Recent advances in nemaline myopathy. *Curr Opin Neurol* [Internet]. 2013 Oct [cited 2024 Jul 24];26(5):519–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23995272/>
70. Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, et al. Identification of KLHL41 Mutations Implicates BTB-Kelch-Mediated Ubiquitination as an Alternate Pathway to Myofibrillar Disruption in Nemaline Myopathy. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2013 Dec 5 [cited 2024 Jul 24];93(6):1108–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24268659/>
71. UNITPRO. MYH11_HUMAN. [cited 2024 Jul 25]. MYH11_HUMAN UNITPRO. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P35749/entry#function>
72. Kwartler CS, Chen J, Thakur D, Li S, Baskin K, Wang S, et al. Overexpression of Smooth Muscle Myosin Heavy Chain Leads to Activation of the Unfolded Protein Response and Autophagic Turnover of Thick Filament-associated Proteins in Vascular Smooth Muscle Cells. *J Biol Chem* [Internet]. 2014 May 5 [cited 2024 Jul 25];289(20):14075. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24022877/>
73. Hashmi SK, Ceron RH, Heuckeroth RO. Visceral myopathy: Clinical syndromes, genetics, pathophysiology, and fall of the cytoskeleton. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Jul 25];320(6):G919–35. Available from: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00066.2021>
74. Young P, Ehler E, Gautel M. Obscurin, a giant sarcomeric Rho guanine nucleotide exchange factor protein involved in sarcomere assembly. *J Cell Biol* [Internet]. 2001 Jul 9 [cited 2024 Jul 29];154(1):123–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11448995/>

75. Bang ML, Centner T, Fornoff F, Geach AJ, Gotthardt M, McNabb M, et al. The complete gene sequence of titin, expression of an unusual approximately 700-kDa titin isoform, and its interaction with obscurin identify a novel Z-line to I-band linking system. *Circ Res* [Internet]. 2001 Nov 23 [cited 2024 Jul 29];89(11):1065–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11717165/>
76. Coram RJ, Stillwagon SJ, Guggilam A, Jenkins MW, Swanson MS, Ladd AN. Muscleblind-like 1 is required for normal heart valve development in vivo. *BMC Dev Biol* [Internet]. 2015 Oct 15 [cited 2024 Jul 20];15(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26472242/>
77. Masutani M, Sonenberg N, Yokoyama S, Imataka H. Reconstitution reveals the functional core of mammalian eIF3. *EMBO J* [Internet]. 2007 Jul 25 [cited 2024 Jul 28];26(14):3373–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17581632/>
78. Lee ASY, Kranzusch PJ, Cate JHD. eIF3 targets cell-proliferation messenger RNAs for translational activation or repression. *Nature* [Internet]. 2015 Jun 4 [cited 2024 Jul 28];522(7554):111–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25849773/>
79. Lee ASY, Kranzusch PJ, Doudna JA, Cate JHD. eIF3d is an mRNA cap-binding protein that is required for specialized translation initiation. *Nature* [Internet]. 2016 Jul 27 [cited 2024 Jul 28];536(7614):96–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27462815/>
80. Shi J, Kahle A, Hershey JWB, Honchak BM, Warneke JA, Leong SPL, et al. Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f deregulates translation and apoptosis in tumor cells. *Oncogene* [Internet]. 2006 Aug 10 [cited 2024 Jul 29];25(35):4923–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16532022/>
81. Gomes-Duarte A, Lacerda R, Menezes J, Romão L. eIF3: a factor for human health and disease. *RNA Biol* [Internet]. 2018 Jan 2 [cited 2024 Jul 29];15(1):26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29357859/>
82. Choppara S, Malonia SK, Sankaran G, Green MR, Santra MK. Degradation of FBXO31 by APC/C is regulated by AKT- and ATM-mediated phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2018 Jan 30 [cited 2024 Jul 29];115(5):998–1003. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29357831/>
83. Zumbaugh MD, Johnson SE, Shi TH, Gerrard DE. Molecular and biochemical regulation of skeletal muscle metabolism. *J Anim Sci* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Jul 29];100(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3539271/>
84. Gordaliza-Alaguero I, Cantó C, Zorzano A. Metabolic implications of organelle–mitochondria communication. *EMBO Rep* [Internet]. 2019 Sep [cited 2024 Jul 28];20(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31672690/>

-
85. Prindle MJ, Loeb LA. DNA polymerase delta in dna replication and genome maintenance. *Environ Mol Mutagen* [Internet]. 2012 Dec 1 [cited 2024 Aug 2];53(9):666–82. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/em.21745>
86. Velázquez-Bernardino P, García-Sierra F, Hernández-Hernández O, Bermúdez De León M, Gourdon G, Gomes-Pereira M, et al. Myotonic dystrophy type 1-associated CTG repeats disturb the expression and subcellular distribution of microtubule-associated proteins MAP1A, MAP2, and MAP6/STOP in PC12 cells. *Molecular Biology Reports* 2011 39:1 [Internet]. 2011 May 13 [cited 2024 Jul 28];39(1):415–24. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-011-0753-y>
87. Shi H, Boadu E, Mercan F, Le AM, Flach RJR, Zhang L, et al. MAP kinase phosphatase-1 deficiency impairs skeletal muscle regeneration and exacerbates muscular dystrophy. *The FASEB Journal* [Internet]. 2010 Aug [cited 2024 Aug 2];24(8):2985. Available from: [/pmc/articles/PMC2909286/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2090286/)
88. Todorow V, Hintze S, Kerr ARW, Hehr A, Schoser B, Meinke P. Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation model for myotonic dystrophy type 1. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Aug 2 [cited 2024 Jul 29];22(16). Available from: [/pmc/articles/PMC8395314/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35395314/)
89. Chatrikhi R, Mallory MJ, Gazzara MR, Agosto LM, Zhu WS, Litterman AJ, et al. RNA Binding Protein CELF2 Regulates Signal-Induced Alternative Polyadenylation by Competing with Enhancers of the Polyadenylation Machinery. *Cell Rep* [Internet]. 2019 Sep 10 [cited 2024 Jul 29];28(11):2795–2806.e3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31509743/>
90. Gazzara MR, Mallory MJ, Roytenberg R, Lindberg JP, Jha A, Lynch KW, et al. Ancient antagonism between CELF and RBFOX families tunes mRNA splicing outcomes. *Genome Res* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2024 Jul 27];27(8):1360–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28512194/>
91. Picchio L, Legagneux V, Deschamps S, Renaud Y, Chauveau S, Paillard L, et al. Bruno-3 regulates sarcomere component expression and contributes to muscle phenotypes of myotonic dystrophy type 1. *Dis Model Mech* [Internet]. 2018 May 5 [cited 2024 Jul 26];11(5). Available from: [/pmc/articles/PMC5992612/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30092612/)
92. Howard J. *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*. 2001 [cited 2024 Jul 22]; Available from: <http://www.sinauer.com/detail.php?id=3344>
93. Small JV, Stradal T, Vignal E, Rottner K. The lamellipodium: Where motility begins. *Trends Cell Biol* [Internet]. 2002 Mar 1 [cited 2024 Jul 29];12(3):112–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11859023/>
94. Kurokawa K, Itoh RE, Yoshizaki H, Ohba Y, Nakamura T, Matsuda M. Coactivation of Rac1 and Cdc42 at Lamellipodia and Membrane Ruffles Induced by Epidermal Growth Factor. *Mol Biol Cell* [Internet]. 2004 Mar 1 [cited 2024 Jul 22];15(3):1003. Available from: [/pmc/articles/PMC363057/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1363057/)

-
95. Thomas JD, Oliveira R, Sznajder LJ, Swanson MS. Myotonic Dystrophy and Developmental Regulation of RNA Processing. *Compr Physiol* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 Jul 20];8(2):509–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29687899/>
96. Dixon DM, Choi J, El-Ghazali A, Park SY, Roos KP, Jordan MC, et al. Loss of muscleblind-like 1 results in cardiac pathology and persistence of embryonic splice isoforms. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Mar 12 [cited 2024 Jul 29];5. Available from: [/pmc/articles/PMC4356957/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/256957/)
97. Ensembl. CACNA1A (ENSG00000141837) - GO: Proceso biológico - Homo_sapiens . [cited 2024 Jul 29]. Gen: CACNA1A (ENSG00000141837) - GO: Proceso biológico - Homo_sapiens - Navegador de genomas Ensembl 112. Available from: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Ontologies/biological_process?g=ENSG00000141837;r=19:13206442-13624489
98. Zheng W, Wang X, Hu J, Bai B, Zhu H. Diverse molecular functions of aspartate β -hydroxylase in cancer. *Oncol Rep* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Jul 20];44(6):2364. Available from: [/pmc/articles/PMC7610305/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33000000/)
99. Srikanth S, Jew M, Kim K Do, Yee MK, Abramson J, Gwack Y. Junctate is a Ca^{2+} -sensing structural component of Orai1 and stromal interaction molecule 1 (STIM1). *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2012 May 29 [cited 2024 Jul 26];109(22):8682–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22586105/>
100. GeneCards. Gen ASPH : aspartato beta-hidroxilasa. [cited 2024 Aug 3]. ASPH Gene - GeneCards | ASPH Protein | ASPH Antibody. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ASPH>
101. S.B. Andavan G, Lemmens-Gruber R. Voltage-gated sodium channels: mutations, channelopathies and targets. *Curr Med Chem* [Internet]. 2011 Jun 11 [cited 2024 Jul 30];18(3):377–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21143119/>
102. George AL. Inherited disorders of voltage-gated sodium channels. *J Clin Invest* [Internet]. 2005 Aug [cited 2024 Jul 30];115(8):1990–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16075039/>
103. Baroni D, Picco C, Moran O. A mutation of SCN1B associated with GEFS+ causes functional and maturation defects of the voltage-dependent sodium channel. *Hum Mutat*. 2018 Oct 1;39(10):1402–15.
104. GeneCards. Gen SCN1B : subunidad beta 1 del canal dependiente de voltaje de sodio. [cited 2024 Aug 15]. SCN1B Gene - GeneCards | SCN1B Protein | SCN1B Antibody. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SCN1B>
105. Li L, Louch WE, Niederer SA, Aronsen JM, Christensen G, Sejersted OM, et al. Sodium Accumulation in SERCA Knockout-Induced Heart Failure. *Biophys J* [Internet]. 2012 May 5 [cited 2024 Jul 30];102(9):2039. Available from: [/pmc/articles/PMC3341551/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22586105/)

106. GeneGlobe. Señalización del calcio . [cited 2024 Aug 3]. Señalización del calcio | GeneGlobe. Available from: <https://geneglobe.qiagen.com/us/knowledge/pathways/calcium-signaling>
107. Reactome. Striated muscle contraction. [cited 2024 Jul 24]. Reactome | Navegador de rutas. Available from: <https://reactome.org/PathwayBrowser/#/R-HSA-397014&SEL=R-HSA-390522&FLG=P35749>
108. Ozimski LL, Sabater-Arcis M, Bargiela A, Artero R. The hallmarks of myotonic dystrophy type 1 muscle dysfunction. *Biological Reviews*. 2021 Apr 1;96(2):716–30.
109. Oved S, Mosesson Y, Zwang Y, Santonico E, Shtiegman K, Marmor MD, et al. Conjugation to Nedd8 instigates ubiquitylation and down-regulation of activated receptor tyrosine kinases. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2006 Aug 4 [cited 2024 Jul 22];281(31):21640–51. Available from: <http://www.jbc.org/article/S0021925819476825/fulltext>
110. Lee KY, Seah C, Li C, Chen YF, Chen CY, Wu CI, et al. Mice lacking MBNL1 and MBNL2 exhibit sudden cardiac death and molecular signatures recapitulating myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2022 Sep 9 [cited 2024 Jul 22];31(18):3144. Available from: [/pmc/articles/PMC9476621/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36476621/)
111. Tokumitsu H, Sakagami H. Molecular Mechanisms Underlying Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Kinase Signal Transduction. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2024 Jul 29];23(19). Available from: [/pmc/articles/PMC9570080/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36476621/)
112. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation* [Internet]. 2003 Jan 21 [cited 2024 Jul 29];107(2):346–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12538439/>
113. Babušíková E, Lehotský J, Dobrota D, Račay P, Kaplán P. Age-associated changes in Ca(2+)-ATPase and oxidative damage in sarcoplasmic reticulum of rat heart. *Physiol Res* [Internet]. 2012 [cited 2024 Jul 29];61(5):453–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22881224/>
114. Qin F, Siwik DA, Lancel S, Zhang J, Kuster GM, Luptak I, et al. Hydrogen peroxide-mediated SERCA cysteine 674 oxidation contributes to impaired cardiac myocyte relaxation in senescent mouse heart. *J Am Heart Assoc* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jul 29];2(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23963753/>
115. Ertl G, Ruschitzka F. The Year in Cardiology 2013: heart failure. *Eur Heart J* [Internet]. 2014 Feb [cited 2024 Jul 29];35(7):470–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24385377/>
116. Gharipour M, Mani A, Baghbahadorani MA, de Souza Cardoso CK, Jahanfar S, Sarrafzadegan N, et al. How Are Epigenetic Modifications Related to Cardiovascular Disease in Older Adults? *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Jul 29];22(18). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34576113/>

117. He ZX, Yang WG, Zengyangzong D, Gao G, Zhang Q, Liu HM, et al. Targeting cullin neddylation for cancer and fibrotic diseases. *Theranostics* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jul 27];13(14):5017–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37771770/>
118. Whitby FG, Xia G, Pickart CM, Hill CP. Crystal structure of the human ubiquitin-like protein NEDD8 and interactions with ubiquitin pathway enzymes. *J Biol Chem* [Internet]. 1998 Dec 25 [cited 2024 Jul 27];273(52):34983–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9857030/>
119. Choi YS, Jeon YH, Ryu KS, Cheong C. 60th residues of ubiquitin and Nedd8 are located out of E2-binding surfaces, but are important for K48 ubiquitin-linkage. *FEBS Lett* [Internet]. 2009 Oct 20 [cited 2024 Jul 21];583(20):3323–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19782077/>
120. Enchev RI, Schulman BA, Peter M. Protein Neddylation: Beyond Cullin-RING Ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2015 Dec 22 [cited 2024 Jul 21];16(1):30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27513186/>
121. Xirodimas DP, Saville MK, Bourdon JC, Hay RT, Lane DP. Mdm2-mediated NEDD8 conjugation of p53 inhibits its transcriptional activity. *Cell* [Internet]. 2004 Jul 9 [cited 2024 Jul 22];118(1):83–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15242646/>
122. Shao X, Chen Y, Xu A, Xiang D, Wang W, Du W, et al. Deneddylation of PML/RAR α reconstructs functional PML nuclear bodies via orchestrating phase separation to eradicate APL. *Cell Death Differ* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Jul 22];29(8):1654–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35194189/>
123. Li Y, Zhou H, Liu P, Lv D, Shi Y, Tang B, et al. SHP2 deneddylation mediates tumor immunosuppression in colon cancer via the CD47/SIRP α axis. *J Clin Invest* [Internet]. 2023 Feb 15 [cited 2024 Jul 27];133(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36626230/>
124. Brumbaugh J, Di Stefano B, Wang X, Borkent M, Forouzmand E, Clowers KJ, et al. Nudt21 Controls Cell Fate by Connecting Alternative Polyadenylation to Chromatin Signaling. *Cell* [Internet]. 2018 Jan 25 [cited 2024 Jul 29];172(3):629–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29373832/>
125. Spies N, Burge CB, Bartel DP. 3' UTR-isoform choice has limited influence on the stability and translational efficiency of most mRNAs in mouse fibroblasts. *Genome Res* [Internet]. 2013 Dec [cited 2024 Jul 29];23(12):2078–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24072873/>
126. Gruber AR, Martin G, Müller P, Schmidt A, Gruber AJ, Gumieny R, et al. Global 3' UTR shortening has a limited effect on protein abundance in proliferating T cells. *Nat Commun* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jul 29];5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25413384/>
127. Wang R, Zheng D, Yehia G, Tian B. A compendium of conserved cleavage and polyadenylation events in mammalian genes. *Genome Res* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Jul 29];28(10):1427–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30143597/>

-
128. Moreno T, Monterde B, González-Silva L, Betancor-Fernández I, Revilla C, Agraz-Doblas A, et al. ARID2 deficiency promotes tumor progression and is associated with higher sensitivity to chemotherapy in lung cancer. *Oncogene* [Internet]. 2021 Apr 4 [cited 2024 Jul 28];40(16):2923. Available from: [/pmc/articles/PMC7610680/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/341398019-0558-7/)
 129. Thompson SL, Welch AC, Ho E V., Bessa JM, Portugal-Nunes C, Morais M, et al. Btbd3 expression regulates compulsive-like and exploratory behaviors in mice. *Translational Psychiatry* 2019 9:1 [Internet]. 2019 Sep 9 [cited 2024 Jul 28];9(1):1–14. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41398-019-0558-7>
 130. Boyden LM, Choi M, Choate KA, Nelson-Williams CJ, Farhi A, Toka HR, et al. Mutations in kelch-like 3 and cullin 3 cause hypertension and electrolyte abnormalities. *Nature* [Internet]. 2012 Feb 2 [cited 2024 Aug 3];482(7383):98–102. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22266938/>
 131. Mahadevan MS, Yadava RS, Mandal M. Cardiac Pathology in Myotonic Dystrophy Type 1. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Jul 29];22(21). Available from: [/pmc/articles/PMC8584352/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/341398019-0558-7/)
 132. Aoussim A, Légaré C, Roussel MP, Madore AM, Morissette MC, Laprise C, et al. Towards the Identification of Biomarkers for Muscle Function Improvement in Myotonic Dystrophy Type 1. *J Neuromuscul Dis* [Internet]. 2023 Nov 7 [cited 2024 Jul 29];10(6):1041. Available from: [/pmc/articles/PMC10657677/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/341398019-0558-7/)
 133. MalaCards. Esclerosis lateral amiotrófica - MalaCards [Internet]. [cited 2024 Jul 29]. Available from: https://www.malacards.org/card/amyotrophic_lateral_sclerosis#Genes_Related_wrapper
 134. GeneCards. Gen MYH11. [cited 2024 Jul 29]. Gen MYH11 - GeneCards | Proteína MYH11 | Anticuerpo MYH11. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MYH11&keywords=MYH11#diseases>
 135. GeneCards. PDLIM3. [cited 2024 Jul 29]. PDLIM3 Gene - GeneCards | PDLI3 Protein | PDLI3 Antibody. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PDLIM3&keywords=PDLIM3#diseases>

Anexo 1**Tabla 1.** Genes presentan poliadenilación alternativa y cambio de podio.

<https://drive.google.com/file/d/18lhXGnG6dG5qLvhrjAubb2g4YH2nuEa/view?usp=sharing>

Anexo 2**Tabla 2.** Genes que presentan cambio de podio.

Gen	DPA	PoliA Switching	Gen	DPA	PoliA Switching
ABCA8	DPA	YES	MED16	DPA	YES
ABI2	DPA	YES	MPP6	DPA	YES
AKAP7	DPA	YES	MTRF1L	DPA	YES
ANKRD9	DPA	YES	MXRA7	DPA	YES
ARID2	DPA	YES	MYH11	DPA	YES
ARMCX5	DPA	YES	OPA1	DPA	YES
ASPH	DPA	YES	PARG	DPA	YES
ATP5F1	DPA	YES	PCHGB4	DPA	YES
BTBD3	DPA	YES	PDLIM3	DPA	YES
C9orf3	DPA	YES	POLD4	DPA	YES
CACNA1S	DPA	YES	PPP1R9A	DPA	YES
CELF2	DPA	YES	PRDM5	DPA	YES
CHORDC1	DPA	YES	PTPN2	DPA	YES
CLINT1	DPA	YES	RBM34	DPA	YES
EFR3A	DPA	YES	RLNS	DPA	YES
EIF3F	DPA	YES	RNPS1	DPA	YES
FAM188A	DPA	YES	RPL37	DPA	YES
FBXO31	DPA	YES	SEMA6C	DPA	YES
FRMD4B	DPA	YES	SLC25A17	DPA	YES
GFPT1	DPA	YES	SLC4A7	DPA	YES
GSTM3	DPA	YES	SNF8	DPA	YES
IDH1	DPA	YES	SNX27	DPA	YES
ISY1	DPA	YES	SPECC1L	DPA	YES
KANSL1L	DPA	YES	TBCD	DPA	YES
KLHL3	DPA	YES	TCOF1	DPA	YES
KPNB1	DPA	YES	TRO	DPA	YES
LMOD3	DPA	YES	TSPAN12	DPA	YES
LZTS2	DPA	YES	TULP4	DPA	YES
MAGED2	DPA	YES	ZDHHC3	DPA	YES
MAP1A	DPA	YES	ZNF850	DPA	YES

*Los genes de la Tabla 2 representan a las 60 isoformas que presentan DPA y cambio de uso o polyA Switching,

Anexo 3

Tabla 3. Análisis de enriquecimiento funcional de genes asociados con procesos biológicos clave en Distrofia Miotónica tipo 1 (DM1)

Gen	GeneRatio	pvalue	GeneID
Contracción muscular	17/236	1.8958 67e-06	ASPH/ATP2A2/CALM1/CALM3 /CAMK2A/CAMK2B/DMPK/FGF13 /HIPK1/MYBPC1/MYH11/MYL3/SCN1 B /SLC8A3/SORBS1/TNNI1/TPM1 AKT1/AKT2/CALM1/CALM3/CAMK2A /CAMK2B/CPSF6/CTBP1/DUSP7/EGF /FOXO3/FXR1/GAB1/JAG2/KLC1/LMO 7 /LRP6/MDM2/NCOR2/PPP1CC/PPP2R5 C /PSME3/PTPN11/RICTOR/UBB
Enfermedades de la transducción de señales por receptores de factores de crecimiento y segundos mensajeros.	25/236	6.2215 98e-06	ASPH/ATP2A2/CALM1/CALM3/CAMK 2A /CAMK2B/DMPK/SLC8A3 AKT1/AKT2/CALM1/CALM3/CAMK2A /CAMK2B/EGF/FOXO3/GAB1/MDM2 /PHC2/PIP5K1A/PML/PPP2R5C/PSME3 /PTPN11/RICTOR/UBB/USP13
Homeostasis de iones	8/236	2.3156 77e-05	CALM1/CALM3/CAMK2A /CAMK2B/FGF13/SCN1B
Señalización intracelular por segundos mensajeros.	19/236	3.7928 23e-05	CALM1/CALM3/CAMK2A/CAMK2B
Fase 0: despolarización rápida	6/236	7.4051 41e-05	CALM1/CALM3/CAMK2A /CAMK2B/PPP1CC/PPP2R5C
Fosforilación de CREB mediada por CaMK IV	4/236	8.9010 59e-05	AKT1/AKT2/MDM2/PPP2R5C/RICTOR/ UBB
Activación RAF	6/236	1.0347 27e-04	AKT1/AKT2/MDM2/PPP2R5C/RICTOR/ UBB
Regulación de la degradación de TP53	6/236	1.0347 27e-04	ASPH/ATP2A2/CALM1/CALM3/CAMK 2A/ CAMK2B/DMPK/FGF13/HIPK1/SCN1B/ SLC8A3
Regulación de la expresión y degradación de TP53.	6/236	1.2130 83e-04	
Conducción cardíaca	11/236	1.2319 78e-04	

*La tabla presenta genes relacionados con funciones biológicas clave y enfermedades, destacando su participación en procesos como contracción muscular, señalización intracelular y homeostasis iónica. Estos genes muestran variaciones en el procesamiento de poliadenilación alternativa (DPA), lo que puede influir significativamente en estas funciones y procesos biológicos.