

Explorando nuevas fronteras en la esclerosis lateral amiotrófica

J. Alberto Ortega

Investigador Ramón y Cajal del Departamento de Patología y Terapéutica Experimental, Instituto de Neurociencias, Universidad de Barcelona, y del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge

Aprovecho esta editorial, a la que amablemente he sido invitado como nuevo miembro del Foro de Jóvenes Teófilo Hernando, para revisar aspectos generales y nuevas perspectivas respecto a una enfermedad a la que he dedicado mi labor científica los últimos 10 años, la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA).

La ELA afecta a las neuronas motoras de la corteza cerebral, el tronco encefálico y la médula espinal, provocando debilidad muscular, atrofia y, finalmente, parálisis. En el 10 % de los casos se consideran ELA familiares, debido a que más de un miembro de una misma familia desarrolla la enfermedad. Esto indica claramente que hay un componente genético que juega un papel en el desarrollo de la enfermedad. De hecho, se han identificado más de 40 genes asociados a la ELA, siendo los más relevantes en número de casos de ELA familiares los asociados a *C9orf72*, *SOD1*, *TARDBP* y *FUS*. Las mutaciones afectan de manera diferente a distintos tipos celulares del sistema nervioso central (SNC), siendo obviamente las neuronas motoras las más afectadas. Hay que tener en cuenta que la etiología de la ELA es multifactorial, y prueba de ello es que múltiples estudios han asociado el desarrollo de la enfermedad, a parte de a factores genéticos, a factores ambientales o lesiones traumáticas, entre otros. Además, los pacientes de ELA presentan

una gran variabilidad clínica, pudiendo cursar con otras enfermedades, como puede ser la demencia frontotemporal. Este complejo panorama hace que el estudio de la enfermedad sea un reto considerable, especialmente debido a la falta de una cura y al impacto severo de la enfermedad en los pacientes y sus familias. En cuanto a los tratamientos disponibles, existen cuatro opciones farmacológicas aprobadas: Riluzol, que reduce la excitotoxicidad mediada por el glutamato y puede prolongar la supervivencia en algunos meses; Edaravona, un antioxidante que ayuda a reducir el estrés oxidativo y puede retrasar el deterioro funcional en fases tempranas; Tofersen, dirigido a pacientes con mutaciones en el gen *SOD1*; La combinación de Dextrometorfano HBr y Sulfato de Quinidina para el control de episodios de síndrome pseudobulbar afecto (PBA), y modular así las respuestas emocionales descontroladas. A pesar de la utilidad de estos tratamientos, su impacto es limitado, lo que motiva la investigación de nuevas terapias, incluidas

las terapias génicas y las basadas en células madre, que podrían ofrecer un enfoque más personalizado y efectivo.

Mi incursión en la investigación de la ELA comenzó en 2015 en el laboratorio del Dr. Evangelos Kiskinis en la Northwestern University. Inicialmente fui a hacer una segunda estancia postdoctoral a este laboratorio, con el fin de conocer la tecnología de células madre humanas y su potencial para estudiar el desarrollo y patologías que afectan al SNC. El Dr. Kiskinis abrió su laboratorio después de haber estado como investigador postdoctoral en el laboratorio de Kevin Eggan en Harvard, donde generaron en 2008 las primeras motoneuronas derivadas de células madre pluripotentes obtenidas a partir de pacientes de ELA. Esta tecnología, que se utilizaba en grupos selectos de investigación, tiene un potencial increíble para el estudio de la ELA. Por un lado, nos da acceso a estudiar las neuronas humanas que degeneran en la enfermedad y que, hasta ese momento, sólo se podían estudiar a través de muestras *post-mortem* de pacientes. Por otro lado, nos permite generar tantas motoneuronas como queramos, con lo que podemos realizar ensayos de cribado de un gran número de tratamientos y permiten estudiar la patología en el perfil genético de cada paciente. En consecuencia, esta herramienta es de una gran utilidad tanto para estudiar la enfermedad como para desarrollar terapias de manera personalizada.

¿Qué ocurre dentro de las motoneuronas en pacientes de ELA?

Durante mi estancia en el laboratorio del Dr. Kiskinis, utilizamos esta tecnología de células madre para estudiar nuevos mecanismos patogénicos en casos familiares de ELA, que pudieran servir de base para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Sobre todo nos centramos en estudiar casos de portadores de la mutación en C9orf72, la mutación genética más frecuente en pacientes de ELA, lo cual implica que cualquier descubrimiento puede tener un alto impacto en la comunidad de afectados de ELA. Esta mutación, caracterizada por una repetición anómala de seis nucleótidos

en el primer intrón del gen, produce efectos neurotóxicos a través de varios mecanismos. Entre ellos, destacan la reducción en la expresión del gen, la formación de ARN mutado que secuestra proteínas de unión a ARN y la producción de polipéptidos tóxicos con repeticiones dipeptídicas (DPRs, por sus siglas en inglés). Estos mecanismos desencadenan alteraciones en procesos celulares clave, como el transporte nucleocitoplasmático, la autofagia, la proteostasis y la función mitocondrial, entre otros. En uno de nuestros estudios, nos centramos en estudiar más a fondo las consecuencias de las alteraciones en el transporte núcleo-citoplasma causados por la mutación en C9orf72. A través de técnicas proteómicas encontramos que en presencia de la mutación hay una redistribución de proteínas asociadas al metabolismo del ARN y la traducción. Una de estas proteínas es eRF1, que se acumula dentro de invaginaciones de la envoltura nuclear, donde el mecanismo de decaimiento mediado por mutación sin sentido protege a las neuronas de las moléculas tóxicas de ARN mutado de C9orf72, inhibiendo la exportación de estos transcritos desde el núcleo y evitando su traducción citosólica en DPRs (Ortega et al., 2020). La reducción de producción de DPRs, puede significativamente reducir la neurotoxicidad asociada a la mutación de C9orf72. En esta línea, en otro trabajo quisimos estudiar en profundidad la alta toxicidad de los DPRs que contienen arginina, que se producen a partir de la mutación en C9orf72. Mediante la combinación de técnicas multidisciplinares incluyendo distintos métodos de caracterización química, análisis de interacción molecular y el uso de múltiples modelos experimentales *in vitro* humanos, observamos que estos DPRs ricos en arginina se unen preferentemente a moléculas de ARN ribosómico. De hecho, y en gran medida, se unen a secuencias específicas del ARN ribosómico, a partir de las cuales diseñamos unos oligonucleótidos sintéticos que eran capaces de atrapar estos DPRs y reducir su toxicidad *in vitro* e *in vivo* (Ortega et al., 2023).

¿Hay en la ELA cambios alrededor de las motoneuronas que provoquen su muerte?

Desde que establecí mi laboratorio en la Universidad de Barcelona en 2021, me he centrado en el estudio de las alteraciones en los microambientes de la medula espinal en la ELA, y el posible papel de estas en la patofisiología de la enfermedad. Si bien la mayoría de la investigación en la ELA se centra en el estudio de mecanismos intrínsecos de degeneración neuronal, cada vez hay más evidencias que sugieren que alteraciones en la matriz extracelular (MEC) pueden jugar un papel relevante en la enfermedad. La desregulación de su homeostasis puede influir en la neuroinflamación, la excitotoxicidad y la viabilidad de las motoneuronas, convirtiéndola en una diana terapéutica de gran interés. Aún así, hay todavía un gran desconocimiento sobre la composición y relevancia funcional de la MEC que rodea a las motoneuronas. Esto es debido a la gran complejidad molecular y biofísica de la MEC, que la hace difícil de caracterizar y manipular.

En nuestro laboratorio hemos adaptado e integrado distintas técnicas para caracterizar a nivel estructural, mecánico y molecular, así como el origen celular de la MEC de la médula espinal en el contexto de la ELA. Además, el uso de múltiples modelos experimentales, incluyendo modelos *in vitro* basados en células madre derivadas de paciente, o modelos *in vivo* de mosca o ratón, nos permite interrogar cómo los cambios observados en la MEC pueden estar implicados en la degeneración de motoneuronas. Estamos convencidos de que estos estudios, aunque incipientes, abrirán nuevas perspectivas sobre el papel de los microambientes neurales en la ELA. Además, el enfoque multidisciplinario que proponemos, donde se combina biología molecular y celular, farmacología y neurociencia traslacional, será esencial para encontrar nuevas soluciones terapéuticas.

Es fundamental continuar impulsando la investigación en este campo para encontrar soluciones terapéuticas transformadoras. Desde mi experiencia, he podido ver cómo la tecnología y conocimiento en el ámbito de la neurociencia avanzan a pasos

agigantados, y tengo la firme esperanza de que cada descubrimiento nos acerque más a una cura para la ELA. Por mi parte, seguiré comprometido con el desarrollo de conocimientos que puedan marcar la diferencia en la vida de quienes padecen esta enfermedad.

Referencias

1. Ortega, J. A., Daley, E. L., Kour, S., Samani, M., Tellez, L., Smith, H. S., Hall, E. A., Esengul, Y. T., Tsai, Y. H., Gendron, T. F., Donnelly, C. J., Siddique, T., Savas, J. N., Pandey, U. B., & Kiskinis, E. (2020, Apr 8). Nucleocytoplasmic Proteomic Analysis Uncovers eRF1 and Nonsense-Mediated Decay as Modifiers of ALS/FTD C9orf72 Toxicity. *Neuron*, 106(1), 90-107.e113. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.01.020>
2. Ortega, J. A., Sasselli, I. R., Boccitto, M., Fleming, A. C., Fortuna, T. R., Li, Y., Sato, K., Clemons, T. D., McKenna, E. D., Nguyen, T. P., Anderson, E. N., Asin, J., Ichida, J. K., Pandey, U. B., Wolin, S. L., Stupp, S. I., & Kiskinis, E. (2023, Nov 10). CLIP-Seq analysis enables the design of protective ribosomal RNA bait oligonucleotides against C9ORF72 ALS/FTD poly-GR pathophysiology. *Sci Adv*, 9(45), eadf7997. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adf7997>