

# Harnessing Exosomes as a Therapeutic for Rett Syndrome

by Pranav Sharma | August 10, 2019

## ***Aprovechar los exosomas como agente terapéutico para el Síndrome de Rett***

Por Pranav Sharma | 10 de agosto de 2019

Soy científico en el Instituto de Investigación Scripps en La Jolla, California, y trabajo en el laboratorio del profesor Hollis Cline. La sed de conocimiento es lo que originalmente me atrajo a la ciencia. El potencial de contribuir, aunque sea de manera pequeña, a aliviar el sufrimiento impulsa aún más la sed y la pasión.

La biología humana siempre me ha fascinado. Imagine por un momento cómo se crea el cuerpo humano. Comienza con una sola célula que se multiplica para crear un organismo complejo de billones de células. Se estima que solo el cerebro humano contiene más de 150 mil millones de células, 86 mil millones de neuronas y aproximadamente un número igual de células no neuronales, todas de una amplia variedad de especializaciones. Es alucinante imaginar que unas pocas células fundadoras contienen la información de programación que, a través de una serie de decisiones sobre el destino celular, produce un órgano complejo como el cerebro. ¿Qué tipo de comunicación y logística se requieren para organizar el desarrollo y la función de este gigante?

Un requisito es un mecanismo de entrega de paquetes; piense en ello como el UPS (la empresa de paquetería) del cuerpo, que permite la transferencia de información y material entre las células. Durante la última década, los investigadores descubrieron que nuestros cuerpos emplean sorprendentes mensajeros intercelulares llamados exosomas o vesículas extracelulares para transportar biomoléculas fundamentales como proteínas, ácidos nucleicos y lípidos. Los exosomas también pueden realizar tareas adicionales, como explorar y establecer el camino para un axón en crecimiento o células migratorias. Por ejemplo, las células cancerosas usan exosomas para sentar las bases de su migración fuera de un tumor, lo que lleva a la metástasis.

*Nuestro trabajo ha descubierto* un papel fundamental de la comunicación de exosomas en el desarrollo del cerebro. Mostramos que los exosomas secretados por las neuronas contienen señales para dirigir el desarrollo y la función de los circuitos neuronales. Es importante destacar que hemos descubierto que los exosomas tienen el potencial de convertirse en agentes terapéuticos para los trastornos del desarrollo neurológico, incluido el Síndrome de Rett.

Nuestro cerebro funciona como un conjunto musical. Las neuronas se disparan para producir un patrón de actividad muy parecido a un conjunto de músicos que tocan juntos para producir una melodía. Históricamente, la gran mayoría de los estudios dirigidos a comprender la función cerebral se centraron en las habilidades de las neuronas individuales o en su entrenamiento conjunto para producir una melodía. Descubrimos que cuando estos músicos en nuestro cerebro llamados neuronas se juntan y socializan, usan exosomas para comunicarse entre ellos. Estos exosomas contenían mensajes que les proporcionaron una gran motivación colectiva y fueron extremadamente útiles en su entrenamiento y desempeño. Extendiendo esta analogía al caso del Síndrome de Rett, las neuronas Rett ensayan mucho pero no pueden tocar juntas y producir una melodía. Las neuronas Rett no solo carecían de algunas habilidades musicales, sino que tenían problemas para coordinar su música entre ellas. Descubrimos que el exosoma Rett ya no contenía mensajes motivadores para ayudar a las neuronas con sus habilidades musicales y su coordinación.

Pensamos que tal vez si tomamos exosomas de neuronas sanas y se los damos a las neuronas Rett, les proporcionará el mensaje que les falta y les ayudará a motivarlos a tocar una melodía. Sorprendentemente, el mensaje del exosoma de las neuronas sanas permitió a las neuronas del Síndrome de Rett superar sus defectos y tocar juntas de forma sincrónica para producir una melodía.

Para los lectores con inclinaciones científicas, proporcionaré una descripción más científica. Todas las células en el cerebro secretan exosomas. Sin embargo, no estaba muy claro qué función realizan los exosomas en el cerebro. Purificamos exosomas de cultivos neurales funcionales y preguntamos, ¿podrían estos exosomas contener una bioactividad para realizar alguna función en un circuito neural en desarrollo? Observamos que el tratamiento con exosomas condujo a un aumento en el número neuronal. Esto llevó a una nueva pregunta: si los exosomas tienen un papel en el desarrollo de los circuitos neuronales, ¿qué sucede cuando el desarrollo neuronal es deficiente? Una buena manera de averiguarlo es comparar los exosomas de las neuronas sanas con los exosomas de las neuronas con un trastorno del neurodesarrollo.

Decidimos explorar esta pregunta experimentando con células madre pluripotentes inducidas (iPSC) de un paciente con síndrome de Rett. Estos lectores saben muy bien que el Rett está causado por la interrupción de un solo gen, MECP2. Restauramos la función del gen MECP2 en los iPSCs usando la edición del gen CRISPR. Por lo tanto, teníamos dos cultivos neuronales iPSC humanos que son idénticos entre sí genéticamente, excepto en la función de una sola proteína, MECP2. Esta era la configuración ideal para estudiar el papel fundamental de los exosomas en el desarrollo normal del circuito neural y compararlo con una situación en la que el desarrollo del circuito neural es deficiente.

Los cultivos neurales derivados de iPSC del paciente Rett mostraron manifestaciones celulares y de circuito del Síndrome de Rett, mientras que los controles corregidos con CRISPR fueron normales. Luego purificamos los

exosomas secretados por cada cultivo, produciendo exosomas de control normales y exosomas Rett y los comparamos. Nuestros resultados fueron tan notables que nos llevó un tiempo apreciarlos.

Primero, los exosomas estaban llenos de proteínas que son importantes en el desarrollo de las neuronas y en la formación y mantenimiento de las sinapsis. Las sinapsis son conductos del flujo de información electroquímica entre las neuronas y son fundamentales para la función cerebral adecuada.

En segundo lugar, los exosomas de Rett mostraron alteraciones específicas en las capacidades de señalización, como la proliferación, el desarrollo neuronal y la función sináptica. En resumen, descubrimos que los exosomas normales podrían guiar la proliferación, el desarrollo de neuronas y la función de sinapsis, y los exosomas de Rett son algo deficientes en esa función.

A partir de estos resultados, comparamos la bioactividad y descubrimos que los exosomas normales aumentaron la proliferación de células madre neurales y los exosomas de Rett no. Además, el tratamiento normal del exosoma condujo a un gran aumento en la progenie neural y un aumento modesto en la progenie de astrocitos; los astrocitos son otro tipo de células en el cerebro que tienen una variedad de funciones auxiliares. En comparación, el tratamiento con el exosoma de Rett, aunque carecía de la capacidad de aumentar la progenie neural, todavía dirigió el modesto aumento de la progenie de astrocitos. Este resultado muestra que los exosomas de Rett retienen algunas funciones, pero les faltan sus funciones específicas neurales.

Sin embargo, la pregunta más importante todavía nos traía de cabeza. ¿Podría el tratamiento con exosomas de control normal rescatar déficits en cultivos neuronales del Síndrome de Rett? Después de un arduo viaje de resolución de problemas y establecimiento de ensayos, demostramos con éxito que el tratamiento de cultivos neuronales Rett con exosomas de control normal podría aumentar el número de neuronas, aumentar el número de sinapsis y hacer que las neuronas se disparesen de una manera más sincronizada. Es importante destacar que el tratamiento con exosomas mostró mejoras a nivel celular, sináptico y funcional.

Si bien fue un resultado muy emocionante, queríamos llevar esto un paso más allá en animales vivos. Así que tomamos exosomas sanos y los inyectamos en el cerebro de ratones en desarrollo y monitoreamos la proliferación neuronal en el hipocampo, un área cerebral importante para el aprendizaje y la memoria. Las inyecciones de exosomas llevaron a un notable aumento en la proliferación neuronal en el hipocampo, tal y como pasó en los modelos humanos in-vitro. Esto demostró que si se entrega al cerebro en animales vivos, los exosomas pueden entregar la bioactividad presagiada.

Creo que los exosomas tienen un potencial terapéutico inmenso ya que tienen ventajas inherentes. A diferencia de las células madre, no hay posibilidad de que puedan volverse malvadas y formar tumores. Es importante destacar que

los exosomas no provocan una respuesta inmunitaria cuando se inyectan en el paciente. Los exosomas pueden obtenerse de neuronas cultivadas hechas de las propias células del paciente, proporcionando medicina personalizada.

Se cree que los exosomas neurales contienen señales que le guían hacia el cerebro. Se les puede cargar con cualquier fármaco terapéutico o molécula desarrollada para el Síndrome de Rett y enviarla al cerebro. Nuestro trabajo futuro se centrará en optimizar los exosomas para un suministro específico y eficiente al cerebro; encontrar la forma menos invasiva de entregar exosomas al cerebro; y mostrar que los exosomas se pueden usar para liberar de enfermedades en un modelo de ratón con Síndrome de Rett.

*Agradecimientos: Esta sinfonia hubiera sido imposible sin nuestro conjunto de música formado por Hollis T. Cline, Alysson R. Muotri, John R. Yates III, Pinar Mesci, Cassiano Carromeu, Daniel B. McClatchy y Lucio Schiapparelli. Agradezco enormemente a Monica Coenraads la ayuda para poner una major voz a mis palabras.*