

New Drugs Restore Brain Balance to Treat Rett Syndrome

by Xin Tang and Cullen Clairmont | August 2, 2019

Nuevos fármacos restablecen el equilibrio cerebral para tratar el Síndrome de Rett

Por Xin Tang y Cullen Clairmont | 2 de agosto de 2019

El objetivo final de la investigación del síndrome de Rett es encontrar una cura. Los investigadores, los pacientes con síndrome de Rett y sus familias esperan el día en que un medicamento o terapia génica pueda revertir totalmente los síntomas del síndrome de Rett. Informado por la gran cantidad de conocimientos de la investigación preclínica, el descubrimiento de fármacos dirigido a genes objetivo de la enfermedad tiene el potencial, mientras tanto, de proporcionar alivio sintomático. Como investigadores en el laboratorio de Rudolf Jaenisch en el Instituto Whitehead de Investigación Biomédica, llevamos a cabo investigaciones sobre compuestos químicos que pueden restaurar el equilibrio cerebral y revertir los síntomas encontrados en modelos de ratones con síndrome de Rett. El trabajo, dirigido por el becario postdoctoral Xin Tang, se publicó recientemente en *Science Translational Medicine*.

MECP2, el gen mutado responsable del síndrome de Rett, produce una proteína que regula la expresión, o actividad de producción de proteínas, de cientos de genes en el cerebro. La disfunción neurológica en Rett probablemente no sea causada directamente por la proteína MeCP2 mutada en sí, sino por la falta de regulación de la expresión proteica de estos genes posteriores que ocurre en ausencia de proteína MeCP2 funcional en las células cerebrales. Nuestro grupo investiga estos genes posteriores con el objetivo de corregir su expresión. Dado que estos genes son directamente responsables de la función cerebral, es probable que su reparación resulte en un alivio sintomático en pacientes con síndrome de Rett.

Nuestros trabajos previos [1, 2], así como los estudios de otros investigadores [3-5], han proporcionado pruebas sólidas para demostrar que un objetivo importante de MeCP2 más abajo en la cadena es un gen llamado KCC2. En el Síndrome de Rett, cuando la proteína MeCP2 no funciona correctamente, el nivel de expresión de KCC2 disminuye sustancialmente. Creemos que las anomalías en la expresión de KCC2 son responsables de gran parte de los síntomas neurológicos en el síndrome de Rett. KCC2 sirve como un bombeo que elimina activamente los iones de cloruro de las neuronas. La actividad de bombeo de KCC2 es absolutamente crítica para mantener el delicado equilibrio en el cerebro entre la excitación y la inhibición que permite las funciones motoras y sociales complejas en las personas. Cuando se rompe este equilibrio, surgen síntomas como convulsiones, pérdida de coordinación motora

y problemas de comunicación social. Por lo tanto, la reducción en la expresión de KCC2 en el Síndrome de Rett tiene efectos directos sobre la función cerebral.

Con el apoyo financiero de RSRT, buscamos desarrollar medicamentos que sean capaces de activar la expresión del gen KCC2 en las neuronas del síndrome de Rett. Las ventajas de un enfoque terapéutico basado en medicamentos son la facilidad de administración y la capacidad de controlar la dosificación. Usando una nueva herramienta de edición de genes llamada CRISPR, modificamos la composición genética de las neuronas derivadas de células madre humanas en placas de cultivo mediante la inserción de una enzima biológica productora de luz llamada "luciferasa de luciérnaga" justo al lado del gen KCC2 para que se activen juntos. De esta manera, la cantidad de KCC2 producida en una neurona es directamente proporcional a la cantidad de luz generada a partir de ella. Luego desarrollamos un ensayo de detección aprovechando la sofisticada robótica de las instalaciones centrales de detección de alto rendimiento del MIT para probar una gran cantidad de medicamentos para ver si alguno hacía que las células brillaran más, aumentando así la producción de KCC2. Después de probar cientos de medicamentos, encontramos un total de 30 compuestos potenciadores de la expresión de KCC2, o para abreviar, KEEC. En otras pruebas descubrimos que los KEEC no solo activaron la producción de la proteína KCC2, sino que también repararon el alto nivel de cloruro intracelular y la inhibición defectuosa en las neuronas del Síndrome de Rett humano que carecen del gen MECP2.

Después de reducir nuestros candidatos a fármaco, pasamos de las pruebas en neuronas del Síndrome de Rett en placa de laboratorio a modelos de ratón del Síndrome de Rett. Estos ratones que carecen de la versión para ratones del gen MECP2 humano y reflejan los signos de pacientes humanos con Síndrome de Rett de muchas maneras: tienen patrones de respiración irregulares, problemas de coordinación y movimiento, problemas de comunicación social y, lo que es más importante, una expresión reducida de KCC2 en el cerebro. En colaboración con el laboratorio de Mriganka Sur en el Instituto Picower en el MIT, tratamos a los ratones con dos KEEC, KW-2449 y Piperine, y observamos resultados alentadores: los ratones inyectados con KEEC comenzaron a moverse significativamente más y redujeron la aparición de pausas respiratorias anormales, en comparación con los ratones de la misma camada que no habían recibido tratamiento farmacológico. Los signos similares al Síndrome de Rett en estos ratones se revirtieron después del tratamiento con estos medicamentos que restauran el equilibrio cerebral.

Antes de que podamos hablar sobre la efectividad de nuestros compuestos de mejora de la expresión de KCC2, debemos probarlos en ensayos clínicos en pacientes con Síndrome de Rett. Dado que la mayoría de los candidatos a medicamentos que analizamos son productos naturales disponibles como complementos alimenticios o ya están aprobados por la FDA para el tratamiento de otras enfermedades, esperamos que los ensayos clínicos se puedan acelerar. Además, todos nuestros candidatos a fármacos son moléculas pequeñas que pueden administrarse de manera segura a través de una cápsula oral. Nuestra investigación marca el comienzo de una estrategia

terapéutica para restablecer el equilibrio cerebral en pacientes con síndrome de Rett que esperamos sea segura, conveniente, efectiva y disponible en centros clínicos en un futuro cercano.

Referencias

1. Tang, X., et al., *KCC2 rescues functional deficits in human neurons derived from patients with Rett syndrome*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016. **113**(3): p. 751-6.
2. Banerjee, A., et al., *Jointly reduced inhibition and excitation underlies circuit-wide changes in cortical processing in Rett syndrome*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016. **113**(46): p. 7287.
3. Duarte, S.T., et al., *Abnormal expression of cerebrospinal fluid cation chloride cotransporters in patients with Rett syndrome*. *PLoS One*, 2013. **8**(7): p. e68851.
4. Lozovaya, N., et al., *Early alterations in a mouse model of Rett syndrome: the GABA developmental shift is abolished at birth*. *Sci Rep*, 2019. **9**(1): p. 9276.
5. Gogliotti, R.G., et al., *Total RNA Sequencing of Rett Syndrome Autopsy Samples Identifies the M4 Muscarinic Receptor as a Novel Therapeutic Target*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018. **365**(2): p. 291-300.