

Artículo de Divulgación

Nuevas estrategias para la recuperación de fibras nerviosas lesionadas

Por Dra. Marta Lapid Volosin

Trasplantes de microglia o de células de médula ósea y novedosos mecanismos para estimular la formación de mielina promueven la recuperación de axones dañados.

Los déficits funcionales ocasionados por lesiones del sistema nervioso central (SNC) y periférico (SNP) se deben principalmente a la interrupción de las conexiones axonales.

Traumatismos, infecciones, bloqueo del aporte sanguíneo y compresión por fractura ósea o tumores son las causas principales de las lesiones de las fibras nerviosas. Como consecuencia la zona inervada pierde funcionalidad, por ejemplo, los músculos se debilitan o paralizan, la sensibilidad es anormal o hay dolor. En la actualidad los tratamientos consisten en aliviar los síntomas y establecer compensaciones o reeducaciones neurológicas diversas.

Restaurar la función perdida con nuevas y originales estrategias terapéuticas es uno de los principales desafíos de la neurociencia contemporánea.

En la frontera de la investigación

Cuando se produce el corte parcial o total de una fibra nerviosa, es decir se cortan los axones, se interrumpe la conducción nerviosa y si estos no se reparan ocurre la muerte gradual de las neuronas.

El Dr. Zhigang He (Boston Children's Hospital, Boston, MA, USA) y sus colaboradores estudian en roedores los mecanismos celulares y moleculares de la regeneración y recuperación de axones lesionados por compresión o *crush* del tracto corticoespinal y del nervio óptico, dos vías del SNC.

Neonatos vs adultos

Los axones del tracto corticoespinal nacen de neuronas localizadas en la corteza cerebral y se dirigen hacia la médula espinal. Estas fibras están vinculadas a movimientos voluntarios especializados de las extremidades y el tronco. Cuando sus conexiones axonales se interrumpen, se produce por debajo de la lesión, debilidad muscular total (plejía) o parcial (paresia) y torpeza de los movimientos finos del lado del cuerpo donde ocurrió el daño medular.

En neonatos las neuronas del SNC mantienen una fuerte capacidad de crecimiento lo que genera un ambiente permisivo para la reparación y regeneración de axones

lesionados. Por el contrario, en mamíferos adultos la médula espinal dañada forma una cicatriz que consiste en varios tipos de células gliales y no se produce regeneración espontánea del axón.

Para He y sus colaboradores esta diferencia era un desafío a resolver. Conocer cómo la médula espinal del neonato respondía a una lesión y organizaba su cicatrización podía dar solución a la limitación en el adulto.

Una de las características de la cicatrización es la acumulación de diversas células gliales que colaboran con el proceso de curación, entre ellas la microglía, las células inmunitarias residentes permanentes del SNC. Estas células son las encargadas de eliminar desechos tóxicos y, además, proporcionan un andamiaje para ciertos aspectos del desarrollo neural y para la recuperación de una lesión.

El *crush* de la médula espinal en ratones neonatos induce una curación sin cicatrices mediada por la microglía, lo que facilita el crecimiento de los axones de proyección larga a través de la lesión (Yi et al. Nature, 2020),

Mediante la técnica de secuenciación de ARN unicelular (scRNA-Seq), que proporciona el perfil transcripcional de miles de células individuales, se analizaron, en una muestra heterogénea de células, qué genes se expresan, en qué cantidades y cómo se diferencian a nivel de una sola célula. Con esta metodología se encontró que la activación de la microglía en neonatos es transitoria y tiene al menos dos funciones claves para lograr la reparación libre de cicatrices: una secreción inicial de fibronectina, una proteína de adhesión que permite la formación de puentes de unión entre los extremos cortados de los axones y la liberación consecuente de moléculas inhibitoras que favorecen la resolución de la inflamación.

Un trasplante de microglía neonatal en el área lesionada de ratones adultos logró restablecer las conexiones y mejorar la reparación y regeneración de los axones, lo que confirmó la importancia de estos hallazgos.

La mielina y el nervio óptico

La mayoría de los axones del sistema nervioso están rodeados de una vaina de mielina, una combinación de proteínas y sustancias grasas que funciona como una capa aislante. La vaina de mielina permite que los impulsos eléctricos se transmitan de manera rápida y eficiente a lo largo del axón. En el cerebro y en la médula espinal la mielina la producen células gliales específicas: los oligodendrocitos.

Los axones mielinizados del nervio óptico, que se ubica en la parte posterior del ojo, son un modelo óptimo para estudiar los mecanismos que controlan la mielinización. Estos axones transportan impulsos nerviosos sensoriales desde neuronas de la retina hacia los centros visuales del cerebro. Si se dañan puede provocar disminución de la visión o incluso ceguera.

Aunque son múltiples las estrategias conocidas que promueven el crecimiento robusto de los axones del nervio óptico después de una lesión, estos axones

regenerados permanecen amielínicos por mecanismos aún desconocidos. El equipo de He (Wang at al. Neuron, 2020) examinó los posibles mecanismos que regulan este proceso.

Un tratamiento combinado

Los receptores GPR17 son moduladores de la mielinización en el SNC, como sensores del daño local de la vaina de mielina desempeñan un papel en la reconstrucción y reparación de las áreas desmielinizadas por procesos inflamatorios en curso.

En condiciones fisiológicas, los receptores GPR17 presentes en las células precursoras de oligodendrocitos (OPCs, por sus siglas en inglés) son los responsables de su diferenciación y posterior maduración. Por el contrario, cuando se dañan las neuronas el número de estos receptores aumenta y se convierten en mediadores de los procesos desmielinizantes.

En el modelo del nervio óptico lesionado, He y su equipo mostraron que las OPCs experimentan una proliferación transitoria pero no se diferencian en oligodendrocitos maduros competentes para la mielinización. Esto se debe a dos mecanismos bien definidos: el bloqueo de la primera etapa de la diferenciación de las OPCs por una serie de señales intrínsecas de los receptores GPR17 y la interferencia causada por la activación sostenida de la microglía que impide su maduración a oligodendrocitos capaces de mielinizar.

El siguiente paso fue bloquear el efecto de los GPR17 con varios compuestos, entre ellos Montelukast, un antiinflamatorio que se utiliza en el tratamiento del asma y las alergias estacionales. Aunque esta droga resultó ser efectiva, solo un 15% de los axones pudieron ser remielinizados. Este porcentaje se elevó al 60% al combinar Montelukast con PLX3397, un compuesto que remueve la microglía de la zona dañada. Es decir, que con la co-manipulación de factores intrínsecos (GPR17) y extrínsecos (microglía) se logró una mielinización robusta de los axones regenerados.

Estos mecanismos reguladores dependientes del estadio de diferenciación de las OPCs serían una excelente estrategia para abordar una eficiente mielinización de novo en lesiones del SNC, que incluso podrían extrapolarse a otras enfermedades como la esclerosis múltiple que en su estado más avanzado desarrolla fallas en el proceso de formación de mielina.

Últimos hallazgos

Los hallazgos de sus últimos estudios llevaron a He a proponer que para lograr la reparación y regeneración completa se necesita combinar ambas estrategias: “Es necesario conseguir el control temporal de la microglía activada – como en el neonato – para retornar a un estado homeostático rápido y espontáneo, crucial para un proceso de reparación libre de cicatriz y, es fundamental abordar los múltiples pasos y mecanismos regulatorios necesarios para lograr una (re) mielinización eficiente”, afirma He.

Puesto que una regeneración exitosa de los axones no conduce en forma directa a la recuperación de la funcionalidad, es crítico aumentar la capacidad intrínseca de crecimiento y mejorar el entorno alrededor de los sitios de lesión. “En efecto, comenta He, en estudios previos demostramos que los axones regenerados son capaces de formar contactos sinápticos funcionales pero sin una recuperación completa de la función. Considerando la capacidad plástica del SNC, soy optimista que estos hallazgos son un gran aporte para conseguirlo”.

Un escenario similar es el de los bebés recién nacidos que tienen conexiones neurales casi completas, pero que aun así tardan algún tiempo en poder caminar y hablar. Para He la mielinización es uno de los factores que permiten que los bebés caminen / hablen y que los animales neonatos lesionados se recuperen. Fue contundente al afirmar: “Para el desempeño conductual, es clave coordinar diferentes partes del SNC y esto es particularmente importante para los adultos que tenemos cerebro grande y médula espinal larga”.

La pregunta que ronda apunta al entrenamiento de rehabilitación como terapia crucial para revertir los efectos de la lesión. “Cada una de estas estrategias por sí sola puede no dar lugar a la recuperación, porque esto probablemente requiere muchos *cableados* diferentes (como conexiones de axones y mielinización) y software (programas de aprendizaje), solo espero poder tener pronto respuestas concluyentes para estas preguntas”, finaliza.

El dialogo con el Dr. He se dio en el marco de la reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias (Octubre, 2020) donde el Dr. He dictó una de conferencia plenaria.

Otra mirada desde Argentina

Al igual que en el laboratorio del Dr. He, en el Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas (IQUIFIB, UBA-CONICET, Argentina) la Dra. Patricia Setton-Avruj y su equipo buscan estrategias para promover la remielinización y la regeneración morfológica y funcional en modelos experimentales de degeneración por trauma del SNP.

Las células mononucleares de médula ósea (BMMC por sus siglas en inglés) constituyen una población heterogénea con potencial para promover la regeneración de tejidos. Con elegantes experimentos (Piñero et al. Transgenic Res, 2018), Setton y su equipo demostraron que las BMMC, de forma espontánea o después de ser trasplantadas, migran de modo exclusivo hacia el lado del nervio lesionado y se localizan en la cercanía de los axones y de las células de Schwann, formadoras de mielina en el SNP.

Con esta información se propusieron evaluar el impacto sobre la regeneración, recuperación de la función nerviosa y modulación del dolor de un trasplante sistémico de BMMC en un modelo por compresión del nervio ciático. La lesión de este nervio del SNP, que se origina en la zona inferior de la columna y se extiende hacia las extremidades, puede producir la pérdida total o parcial de la función motora y sensitiva del miembro afectado y causar inflamación y dolor.

El estudio (Usach et al. Transplantation, 2017) se realizó en ratas adultas a las que se les administró, por la arteria caudal, BMMC autólogas aisladas inmediatamente después de la lesión del nervio. A diferentes tiempos de supervivencia, se realizaron análisis histológicos, inmunohistoquímicos, bioquímicos y conductuales que mostraron la eficiencia del trasplante para corregir alteraciones morfológicas y funcionales que resultan de la lesión y evitar la aparición del dolor neuropático. Además, las BMMC fueron excelentes reguladoras de la respuesta inmune, con la ventaja que pueden transdiferenciarse a las células residentes del tejido dañado y reemplazar las que mueren como consecuencia del proceso degenerativo.

El alto potencial de las células para la regeneración se debe a dos factores claves: liberan factores tróficos y modulan la respuesta inmune que se asocia a la inflamación producida por la lesión. Aunque los mecanismos específicos que subyacen a los efectos beneficiosos de las BMMC en el nervio expuesto a la lesión no se conocen aun, este tipo de trasplantes se están utilizando en ensayos clínicos para el tratamiento de cardiopatías, traumas cerebrales o accidentes cerebrovasculares.

Los resultados estimulan a avanzar en la evaluación de terapias regenerativas con células multipotentes adultas que tienen entre sus ventajas su baja inmunogenicidad y la facilidad de acceso para su administración por maniobra no invasiva de células provenientes del mismo paciente, cuyo uso no tiene cuestionamientos éticos.

Mirada a futuro

¿Cómo encuentran los axones en regeneración las rutas correctas para formar sinapsis y así lograr sus objetivos funcionales? ¿En qué medida podría restaurarse la recuperación funcional mediante estos enfoques basados en la regeneración? ¿Podrían otras estrategias, como el entrenamiento para tareas específicas, mejorar la recuperación funcional después de una lesión? ¿Cuál es el alcance de las células madres adultas para restablecer circuitos neuronales dañados en el SNC y con ello eliminar los síntomas de una enfermedad? Estas son algunas de las preguntas cuyas respuestas establecerán importantes principios para que la medicina regenerativa ayude en la protección o regeneración de tejidos u órganos dañados.

Referencias

Yi L, He X, Kawaguchi R, Zhang Y, Wang Q, Monavarfeshani A, Yang Z, Chen B, Shi Z, Meng H, Zhou S, Zhu J, Jacobi A, Swarup V, Popovich PG, Geschwind DH, **Zhigang He**, 2020, Microglia-organized scar-free spinal cord repair in neonatal mice, *Nature* 587, 613-618.

Wang J, He X, Meng H, Li Y, Dmitriev P, Tian F, Page JC, Q. Lu QR, **Zhigang He**, 2020, Robust Myelination of Regenerated Axons Induced by Combined Manipulations of GPR17 and Microglia, *Neuron* 108: 1-11.

Piñero G, Usach V, Soto PA, Monje PV, Setton-Avruj P, 2018, EGFP transgene: a useful tool to track transplanted bone marrow mononuclear cell contribution to peripheral remyelination, *Transgenic Res* 27, 135:153.

Usach V, Malet M, López M, Lavalle L, Piñero G, Saccoliti M, Cueto A, Brumovsky P, Brusco A, Setton-Avruj P, 2017, Systemic Transplantation of Bone Marrow Mononuclear Cells Promotes Axonal Regeneration and Analgesia in a Model of Wallerian Degeneration. *Transplantation* 101(7):1573-1586.