

# MALALTIA DE HUNTINGTON



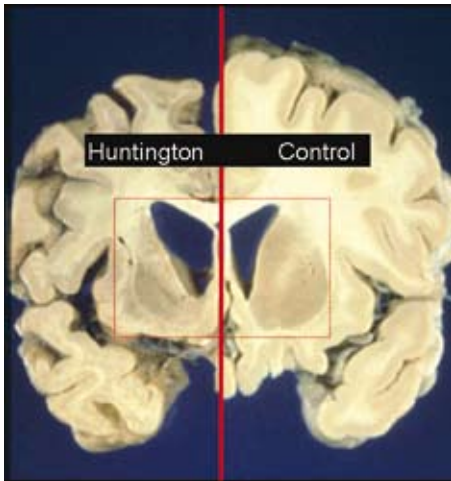
Escrit per:

**Noelia Urbán**

IDIBAPS-Universitat de Barcelona

La corea de Huntington, coneguda popularment com el “Ball de Sant Vito”, és una malaltia neurodegenerativa hereditària que afecta entre 5 i 10 persones de cada 100.000 arreu del món. La mutació que la causa, monogènica autosòmica dominant, va ser identificada el 1.993 com una expansió inestable de triplets CAG a l'exó 1 del gen de la huntingtina. Això es tradueix en una excessiva quantitat de glutamines a l'extrem N-terminal d'aquesta proteïna. A la huntingtina normal, el nombre de repeticions varia entre 6 i 35. Amb més de 40 repeticions es desenvolupa la malaltia, mentre que si n'hi ha entre 36 i 39 es manifesta d'una forma molt més lleu, depenent d'altres factors genètics i ambientals.

Imatge de Sant Vito a Heiligenstadt (Franconia) relitzada per I. Giel i modificada per J. Planagumà.



**Figura 1.** Comparació d'un cervell sa (dreta) i un d'un malalt de Huntington (esquerra). Dins el requadre es pot observar l'increment de volum del ventricle degut a la degeneració dels nuclis caudat i putamen. L'escorça es troba també afectada però de forma menys evident.

Imatge modificada de la pàgina: <http://pathology.mc.duke.edu/website/pathmain.aspx>, que pertany al Department of Pathology del Duke University Medical Center

Com més gran sigui el número de glutamines més severes són els símptomes i abans comença a manifestar-se la malaltia, que en la majoria dels casos apareix entre els 35 i els 55 anys i evoluciona durant 15 a 20 anys provocant finalment la mort del pacient. La corea de Huntington, com indica el seu nom, produeix moviments coreics involuntaris i a més dificulta els moviments voluntaris. Una altra característica de la malaltia és l'aparició de déficits cognitius i alteracions psiquiàtriques com agressivitat i depressió.

Els símptomes són de tipus neuropatològic per una pèrdua selectiva de les neurones de projecció de l'estriat (nuclis caudat i putamen en humans), que són un 95% del total de cèl·lules d'aquest nucli (Figura 1). Les dues subpoblacions de neurones de projecció no es troben igualment afectades; les que es projecten al globus pàl·lid extern són les que primer degeneren, i posteriorment ho fan les que es projecten al globus pàl·lid intern i a la substància negra pars reticulata. En estadis avançats de la malaltia es veu també una disminució de les neurones piramidals de les capes II-III, V i VI del còrtex motor i d'associació. La degeneració estriatal seria la causant de la descoordinació motora mentre que la mort de les neurones corticals s'ha relacionat més amb els símptomes cognitius i psiquiàtrics. Un tret desta-

cable a nivell histopatològic és la presència d'agregats de huntingtina tant intracitoplasmàtics com intranuclears.

La funció normal de la huntingtina encara no és del tot coneguda. Es troba a totes les cèl·lules del cos, té un paper fonamental durant el desenvolupament i és capaç d'interaccionar amb un ampli espectre d'altres proteïnes al citosol. S'ha demostrat que té influència sobre processos cel·lulars com el transport vesicular, l'ancoratge de proteïnes al citoesquelet, l'endocitosi mitjançada per clatrina, el transport neuronal o la senyalització postsinàptica. A més la huntingtina pot trobar-se al nucli, on pot influir sobre l'expressió de determinats gens. Per últim, té un paper important en la supervivència cel·lular i la inhibició d'algunes vies que condueixen a l'apoptosi.

Tenint en compte totes aquestes funcions resulta complicat explicar per què la seva mutació afecta gairebé exclusivament les neurones de projecció estriatal. Hi ha diverses teories que intenten explicar aquest fet, però el més probable és que es tracti d'una complexa interacció entre diferents factors. Entre els més importants es troben la formació d'agregats de huntingtina, l'increment de sensibilitat vers l'excitotoxicitat, la disfunció mitocondrial i la manca de suport tròfic (Figura 2).

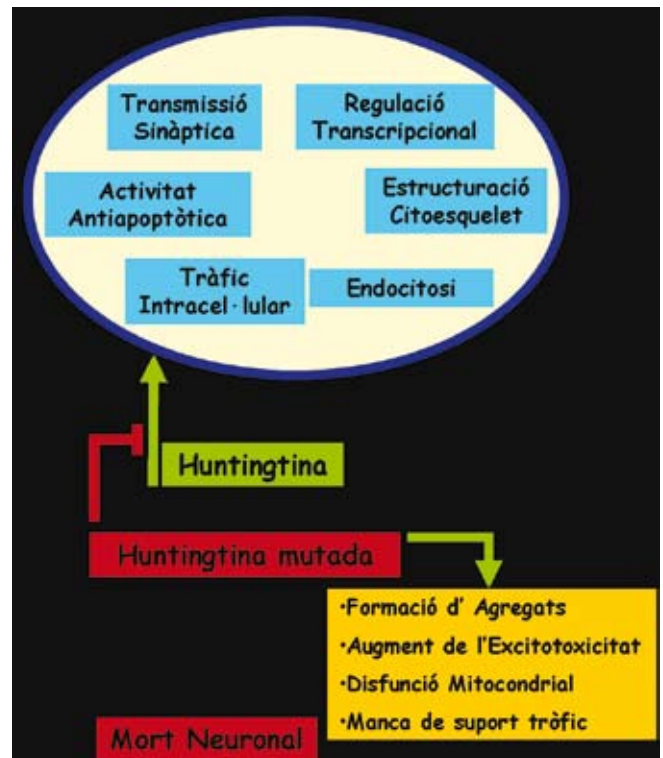
#### AGREGACIÓ DE LA HUNTINGTINA

En condicions normals la huntingtina és ubiquitinitzada i s'elimina per la via proteasomal. La part N-terminal de la huntingtina mutada té tendència a formar agregats, que en ser ubiquitinitzats bloquegen els proteasomes per la seva mida excessivament gran. Això comporta una disminució de l'eliminació d'altres proteïnes perjudicials per la cèl·lula. Tot i que la presència d'agregats

(intracitoplasmàtics o intranuclears) és un clar símptoma que la cèl·lula es troba en un estat d'elevat estrès, encara no està clara la seva funció. Per una banda hi ha experiments que apunten que els agregats podrien ser la causa de la degeneració de la cèl·lula, però per contra, altres demostren que podria tractar-se d'un intent de la mateixa de protegir-se de l'acció altament perjudicial de la huntingtina lliure o d'una conseqüència de l'estat ja deteriorat d'aquesta. En contra d'aquesta hipòtesi hi ha el fet que els agregats es troben distribuïts per tot el cervell i, de fet, dins l'estriat les cèl·lules que els presenten en major quantitat són les inter-neurons colinèrgiques, que pràcticament no pateixen degeneració.

#### EXCITOTOXICITAT

La teoria excitotòxica de la malaltia de Huntington té el seu origen en el fet que lesions estriatals amb agonistes de receptors de glutamat provoquen uns símptomes molt semblants a la malaltia de Huntington en animals d'experimentació. Hi ha dife-



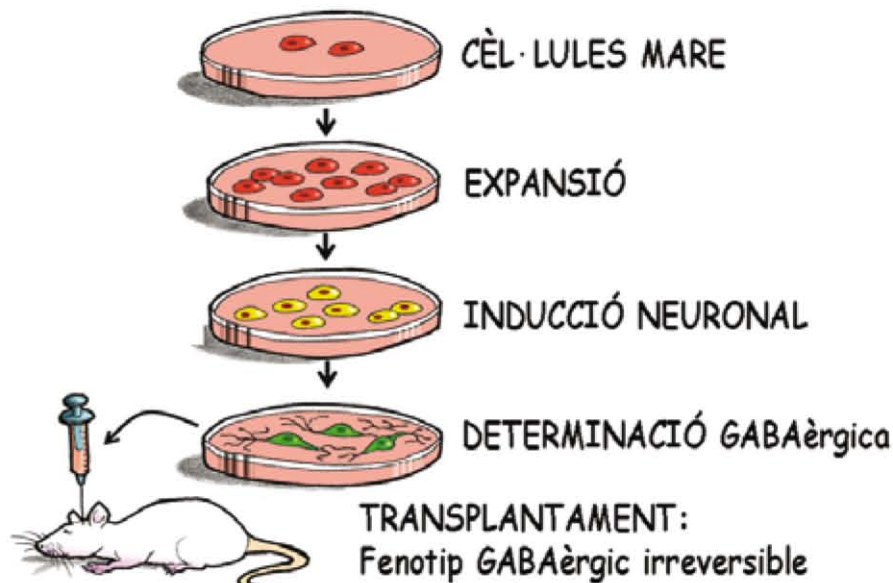
**Figura 2.** Esquema dels canvis que la huntingtina mutada provoca a la neurona i de les diferents funcions de la huntingtina normal que es veuen perjudicades per la mateixa. Aquest conjunt de manca de funcions i alteració de diversos processos provoca finalment la mort de la cèl·lula.

Modificat de Pérez-Navarro et al, *Histol Histopathol* (2006) 21: 1217-1232

rents tipus de receptors de glutamat, que es poden classificar en ionotòpics i metabotòpics. Els ionotòpics, associats a canals iònics, poden ser de tipus NMDA, AMPA o kainat, segons l'agonista que els activa. Tots els tipus de receptors es troben a totes les cèl·lules estriatals, però la distribució de subunitats que els componen és diferent a cada tipus cel·lular. Els de tipus NMDA són els que semblen tenir un paper més rellevant a la malaltia de Huntington. Les neurones de projecció tenen majoritàriament el receptor NMDA NR2B, mentre que les interneurons estan enriquides en NR2D, que té una afinitat pel glutamat molt menor. Això vol dir que les interneurons no es veuen tan afectades per l'excitotoxicitat deguda al glutamat i podria explicar per què no degeneren a la malaltia de Huntington. En aquest mateix sentit, en mostres humanes s'ha observat que les neurones que contenen NR2B són les que es troben més afectades, cosa que suggereix que són les primeres a degenerar. A més, un antagonista del receptor NR2B aconsegueix inhibir la mort per NMDA en animals experimentals. La huntingtina interacciona amb la proteïna PSD-95, que s'encarrega de la distribució de proteïnes, entre elles els receptors de NMDA, a la densitat postsinàptica. La huntingtina mutada interfereix en aquesta unió tot provocant la hipersensibilitat del canal i, per tant, un increment en l'entrada de calci a la cèl·lula i un augment de l'excitotoxicitat.

#### DISFUNCIÓ MITOCONDRIAL

En els darrers anys està cobrant força la idea d'una disfunció mitocondrial com a causa primària de les alteracions provocades per la huntingtina mutada. Hi ha diverses proves que fan possible aquesta teoria. En primer lloc, s'ha observat que la huntingtina mutada però no la normal, en ser expressada a línies cel·lulars, provoca alteracions del metabolisme energètic i la homeòstasi del calci. A més, aquesta disfunció mitocondrial està present també als malalts de Huntington i s'ha observat a diferents models de la malaltia basats en la sobreexpressió de la huntingtina mutada, ja sigui sencera o només l'exó 1, donant força així a la idea que l'expansió de poliglutamines i no la pèrdua de funcionalitat de la proteïna és la causant de la malaltia. A més, l'administració sistèmica d'àcid nitropropionic, una toxina mitocondrial, causa uns símptomes



**Figura 3.** Esquema del protocol d'obtenció de cèl·lules per fer trasplantaments a partir de cèl·lules mare. La seva capacitat de créixer en cultiu sense perdre les seves propietats les fan interessants com a font il·limitada de cèl·lules. El protocol s'ha d'optimitzar per tal d'eliminar la possibilitat de que formin tumors un cop trasplantades.

Modificat de la tesis doctoral de Miquel Bosch, Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica, Universitat de Barcelona.

molt semblants als de la malaltia de Huntington, amb mort selectiva de les neurones de projecció de l'estriat i clares alteracions motores. Tanmateix, aquesta hipòtesi no explica el per què de la mort específica de les neurones estriatals. S'ha proposat que la incapacitat dels mitocondris per dur a terme la seva funció pot produir un increment de la sensibilitat a l'excitotoxicitat, ja que els increments de calci intracel·lular que provoca no serien degudament compensats. Així, s'activaria la via d'apoptosi mitocondrial, cosa que incrementaria l'activació de calpaïnes que encara agreujarien més la situació tallant la huntingtina en trossos més petits, més tòxics que l'original i sense la seva funció d'afavorir la supervivència.

#### ALTERACIONS DEL SUPORT TRÒFIC

Les neurotrofines són una família de factors de creixement que promouen la supervivència de les neurones. Segons la teoria neurotròfica, les neurones han de competir per aquests factors secretats pel teixit diària; les que aconsegueixen la concentració adequada viuran, mentre que les que no ho aconsegueixen entraran en el procés de mort cel·lular programada. Els membres

d'aquesta família són, per ordre de descobriment, el *Nerve Growth Factor* (NGF), el *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), i les neurotrofines 3 i 4 (NT3 i NT4). Les neurones de projecció estriatals són especialment sensibles a la manca de suport tròfic, especialment a la de BDNF, que els arriba majoritàriament per mitjà dels axons de les cèl·lules corticals que hi fan sinapsi. Treballs recents han demostrat que la huntingtina està implicada en incrementar el transport de vesícules per microtúbuls dins la cèl·lula. Concretament, el transport de BDNF es veu afavorit per la huntingtina, mentre que en presència de la huntingtina mutada el transport d'aquest factor està disminuït. La importància del transport de BDNF en la malaltia és encara més evident des del descobriment d'un polimorfisme en el seu extrem N-terminal que podria explicar part de la variabilitat en l'aparició dels símptomes. Un canvi de valina (val) a metionina (met) en el domini pro del BDNF podria fer que el seu transport es trobés lleugerament alterat a la forma amb metionina, fent que es produeixi una petita manca de BDNF. Així, en presència de la huntingtina mutada, que afecta el transport vesicular en general, les cèl·lules amb la forma met

estarien ja adaptades a tenir nivells disminuïts de BDNF i s'ha comprovat que en els pacients de Huntington, aquests desenvolupen la malaltia més tard que els que tenen la forma no canviada (val), que acusen més l'acció de la huntingtina mutada sobre el BDNF.

Per altra banda, s'ha observat que la huntingtina incrementa la transcripció de BDNF a cèl·lules corticals i s'ha trobat una disminució dels nivells corticals i estriatals d'aquest factor a pacients amb malaltia de Huntington. A més, en un ratolí model de la malaltia de Huntington heterozigot per BDNF s'ha observat que els símptomes cognitius i motors apareixen abans que en el mateix model amb nivells normals de la neurotrofina.

Totes aquestes proves porten a pensar que la manca de BDNF a l'estriat podria estar involucrada en la degeneració selectiva de les neurones de projecció estriatals.

#### MODELS EXPERIMENTALS

Com s'ha esmentat abans, les lesions estriatals amb agonistes de receptors glutamatèrgics causen uns símptomes molt semblants als del Huntington i això va donar lloc a la teoria excitotòxica de la malaltia. Els agonistes més utilitzats i els que millor imiten la malaltia de Huntington són l'àcid quínic i el kaínic. En el cas de la teoria mitocondrial, la toxina utilitzada és l'àcid nitropropioníic que afecta la funció mitocondrial i produeix una sèrie d'alteracions bioquímiques que porten a la degeneració de les neurones de projecció estriatals, donant així uns símptomes que també s'apropen als de la malaltia de Huntington. Utilitzant aquestes models químics s'han fet multitud de treballs per conèixer els mecanismes de mort cel·lular a l'estriat.

El descobriment del gen de la huntingtina ha permès desenvolupar models de la malaltia basats en la sobreexpressió de la proteïna mutada "in vivo". Poc després de descobrir-se el gen, es va desenvolupar el ratolí knock-out pel mateix. La sorpresa va arribar en veure que els ratolins homozigots morien abans d'arribar al dia 8 de gestació degut al fet que no són capaços de començar l'organogènesi. Així es va descobrir el paper fonamental de la huntingtina en etapes embrionàries. Sigui quina sigui la funció que desenvolupa en aquest context, l'addició de huntingtina mutada als knock-

outs fa que es reverteixi l'efecte. Per tant, l'expansió de glutamines no afecta la funció embrionària de la huntingtina

Així doncs es van començar a desenvolupar diferents tipus de ratolins transgènics, que es diferencien entre si pel nombre de repeticions CAG o per expressar la proteïna sencera (YAC, knock-in) o només el primer exó de la mateixa, on es troba l'expansió (R6, NIH-Q82, Tet/HD94). Els ratolins knock-in, en què la huntingtina mutada substitueix la normal, permeten estudiar la malaltia en un context més semblant al que es dona en humans, ja que el control de l'expressió de la proteïna està sota el seu propi promotor. En general tots aquests tipus de models han permès aprofundir en el coneixement de la malaltia i distingir, per exemple entre els efectes produïts per l'expansió de glutamines (exó 1) i els de la proteïna sencera.

Un model molt interessant és el ratolí condicional (Tet/HD94), en què l'expressió de la huntingtina mutada pot aturar-se en un moment determinat mitjançant el control farmacològic del promotor. Aquesta aproximació ha permès estudiar l'efecte de la desaparició de la huntingtina mutada un cop s'han presentat els símptomes de la malaltia. En aquest sentit els resultats són esperançadors, ja que molts dels símptomes, tant a nivell locomotor com cel·lular, reverteixen un cop s'apaga l'expressió del gen mutat.

#### APROXIMACIONS TERAPÈUTIQUES

Tot i ser una malaltia monogènica i disposar de diverses teories de la seva causa, no hi ha cap tractament que sigui efectiu ni per aturar el curs de la malaltia ni per millorar-ne els símptomes o la qualitat de vida dels pacients.

S'han provat diverses teràpies basades en l'administració d'antagonistes dels receptors NMDA sense èxit als assaigs clínics tret d'alguns resultats prometedors del riluzol, un fàrmac que bloqueja l'alliberació de glutamat. També s'ha intentat millorar la funció mitocondrial administrant coenzim Q10, un component de la cadena respiratòria, sense obtenir millors resultats. Les teràpies combinades de coenzim Q10 i antagonistes NMDA aconsegueixen millorar lleugerament la corea, però no aturen el desenvolupament de la malaltia.

Per altra banda, mitjançant tècniques d'enginyeria genètica s'està intentant deseno-

lupar un RNA d'interferència específic per bloquejar la transcripció del gen mutat de la huntingtina sense alterar la del gen normal. Com s'ha esmentat abans, els estudis fets al ratolí mutant condicional fan que aquesta via sigui d'especial importància, ja que han demostrat que la malaltia pot revertir en gran mesura quan desapareix la huntingtina mutada de la cèl·lula.

Els factors tròfics són una altra teràpia molt prometedora, ja que administrant-los en etapes inicials de la malaltia, es podrien protegir les neurones que encara no han degenerat. El principal problema que es planteja és la via d'administració dels factors. Aquests no travessen la barrera hematoencefàlica, per la qual cosa s'haurien de lliurar directament al sistema nerviós. Per això s'estan desenvolupant diverses estratègies com la col·locació de minibombes o la implantació de cèl·lules productores.

El trasplantament de cèl·lules fetals és la teràpia que ha donat millors resultats tot arribant a revertir lleument alguns dels símptomes de la malaltia com la corea o els déficits cognitius. Tot i això els assaigs clínics de trasplantaments es troben aturats actualment per diverses raons. En primer lloc, la pròpia utilització d'aquestes cèl·lules procedents de fetus humans comporta controvèrsia i genera un fort debat ètic. A més, les cèl·lules fetals són difícils d'aconseguir en prou quantitat com per a obtenir bons resultats als pacients i la seva qualitat és molt variable. En tercer lloc, tot i la lleugera millora, el trasplantament no cura la malaltia i de fet hi ha símptomes que no es veuen afectats, com la distonia muscular, que sembla no veure afectada la seva aparició i finalment acaba amb la vida del pacient per fallada respiratòria.

Per tot això, actualment pren molta força l'estudi de les cèl·lules mare com a font de cèl·lules per a fer trasplantaments que aportin suport tròfic a l'estriat (figura 3), ja que les teràpies de substitució estan encara molt lluny de ser una possibilitat real. El cultiu de cèl·lules mare suposa aconseguir una font gairebé il·limitada de cèl·lules per fer trasplantaments, i permet la seva modificació in vitro per expressar qualsevol tipus de factor que promogui la supervivència de les cèl·lules. A més es poden modificar les condicions de diferenciació per obtenir cèl·lules amb les característiques idònies per a integrar-se a una zona determinada del cervell. En el cas de la malaltia de Huntington les neurones GABAèrgiques de projecció, les

majoritàries de l'estriat. L'estudi de com es desenvolupen aquestes cèl·lules ens pot donar moltes claus de la malaltia i ajudar-nos a entendre el per què de la seva degeneració selectiva. Però encara queden moltes coses a fer, com homogeneïtzar les condicions de cultiu per a obtenir resultats reproduïbles, establir un protocol de diferenciació que no permeti l'aparició d'altres tipus cel·lulars i, sobretot, assegurar la seva total integració i evitar la formació de tumors.

#### CONCLUSIÓ

Catorze anys després del descobriment del gen de la huntingtina encara no hi ha una teràpia efectiva per aturar el desenvolupament de la malaltia de Huntington. Això és degut al fet que tot i ser una malaltia monogènica, hi ha multitud d'aspectes que intervenen en la seva aparició i ens demostra que un sol gen pot alterar molts processos cel·lulars. Tot i això, els diferents models animals ens han permès aprofundir en el coneixement de diferents aspectes de les funcions de la huntingtina i l'efecte perjudicial de la seva forma mutada. Una de les conseqüències més positives del descobriment de la mutació és que és possible evitar que la mutació sigui transmesa a la descendència dels malalts mitjançant el diagnòstic preimplantacional. Quant a les aproximacions terapèutiques, la investigació en el camp de les cèl·lules mare i la teràpia gènica fa que hi hagi esperances a mitjà termini d'obtenir un tractament que pugui arribar a aturar la malaltia o fins i tot revertir-ne part dels símptomes. Per tal que els futurs tractaments tinguin la màxima eficàcia, s'ha d'estudiar la combinació de diferents teràpies que finalment actuïn sinèrgicament en benefici del pacient.

#### REFERÈNCIES

- Alberch J, Perez-Navarro E, Canals JM. *Neurotrophic factors in Huntington's disease*. *Prog Brain Res*. 2004;146:195-229. Review.
- Canals JM, Pineda JR, Torres-Peraza JF, Bosch M, Martin-Ibanez R, Munoz MT, Mengod G, Ernfors P, Alberch J. *Brain-derived neurotrophic factor regulates the onset and severity of motor dysfunction associated with encephalergic neuronal degeneration in Huntington's disease*. *Journal of Neurosci*. 2004; 24 (35):7727-7739.
- Del Toro D, Canals JM, Gines S, Kojima M, Egea G, Alberch J. *Mutant huntingtin impairs the post-Golgi trafficking of brain-derived neurotrophic factor but not its Val66Met polymorphism*. *J Neurosci*. 2006 Dec 6;26(49):12748-57.
- Li S, Li XJ. *Multiple pathways contribute to the pathogenesis of Huntington disease*. *Mol Neurodegener*. 2006 Dec 16;1:19.
- McMurray CT. *Huntington's disease: new hope for therapeutics*. *Trends Neurosci*. 2001 Nov;24(11 Suppl):S32-8. Review.
- Menalled LB, Chesselet MF. *Mouse models of Huntington's disease*. *Trends Pharmacol Sci*. 2002 Jan;23(1):32-9. Review.
- Perez-Navarro E, Canals JM, Gines S, Alberch J. *Cellular and molecular mechanisms involved in the selective vulnerability of striatal projection neurons in Huntington's disease*. *Histol Histopathol*. 2006 Nov;21(11):1217-32.
- Sugars KL, Rubinsztein DC. *Transcriptional abnormalities in Huntington disease*. *Trends Genet*. 2003 May;19(5):233-8. Review.



**Noelia Urbán** (Barcelona, 1982)

es va llicenciar en biologia l'any 2004 a la Universitat Autònoma de Barcelona. Des de llavors realitza la tesi doctoral al grup del doctor Jordi Alberch del Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica de la Universitat de Barcelona, sota la direcció del doctor Josep Maria Canals. El seu camp de treball és la diferenciació de cèl·lules mare cap a un fenotip neuronal amb l'objectiu de realitzar trasplantaments a models de la malaltia de Huntington. Concretament estudia els diferents factors relacionats amb l'expressió gènica que determinen el desenvolupament de les neurones estriatals de projecció.