

EL MAL PROCESSAMENT DEL RNA: EN EL COR DE L'ESCLEROSI LATERAL AMIOTRÒFICA^Ψ

Elisa Ramon Gurrea^Ψ, Art de Biotecnologia, UAB

INTRODUCCIÓ: L'Esclerosi Lateral Amiotròfica (ELA) és una malaltia neurodegenerativa que ataca la motoneurona, provocant la mort en 3-5 anys. Les neurones oculomotores són de les poques en presentar resistència. La prevalença de la malaltia és 3-8:100.000 persones i el risc augmenta amb l'edat. El seu rerefons genètic és complex, havent-s'hi trobat uns 100 gens associats, que poden aparèixer mutats tant a la forma familiar (10% del total) com a l'esporàdica (90%). Aquests gens poden agrupar-se (entre d'altres) en les categories: **citoesquelet, tràfic intracel·lular i de membrana, degradació de proteïnes, i processament del RNA**. En aquest darrer cas:

1. L'ELA acostuma a venir acompanyada de Demència Frontotemporal (DFT).
2. Les mutacions afecten RBP (Proteïnes d'Unió al RNA); o bé fabriquen focus de RNA "trampa" capaços de segrestar RBP i altres factors.
3. En qualsevol dels dos casos, les mutacions generen agregats proteics i *splicing* aberrant que afecta selectivament les motoneurons.

L'excitotoxicitat per glutamat, que es característica de l'ELA, també pot provocar indirectament errors en el processament del RNA.

Taula 1. Gens tractats en el present treball

MUTACIONS HABITUALS	GEN	PROTEÏNA	REPERCUSSIONS
Canvi de sentit	TARDBP	TDP-43	Afecta preferentment el C-terminal
	FUS	FUS	Afecta preferentment el C-terminal
Sense sentit	SOD1	SOD-1	Li confereix propietats de RBP?
Insercions	ATXN2	Ataxina	Regió poliQ
Expansió CAG en el CDS			
Expansió GGGGCC a intró	C9orf72	C9orf72	mRNA tòxic

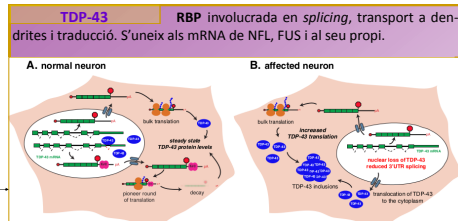


Figura A. Retroinhibició de TDP-43 en neurones normals i afectades

TDP-43 mutant es troba hiperfosforilada, ubiquitinada i amb llur C-terminal truncat formant agregats en el citoplasma. El truncament podria ser, en ocasions, degut a calpaina o a caspasa 3.

ATXN2 RBP, també està relacionada amb l'atàxia espinocerebel·lar 2 (SCA2).

ATXN2 (mRNA): Expansió 27-33 CAG interrompuda per CAA -> el mRNA no és patològic.

TRADUCCIÓ

Ataxina (proteïna mut): Apareix una seqüència poliQ → interacció amb TDP-43, el que 1) la desplaça al citoplasma, 2) n'indueix el tall en el C-terminal i la hiperfosforilació per activació de la caspasa 3.

SOD-1 Enzím que elimina O²⁻

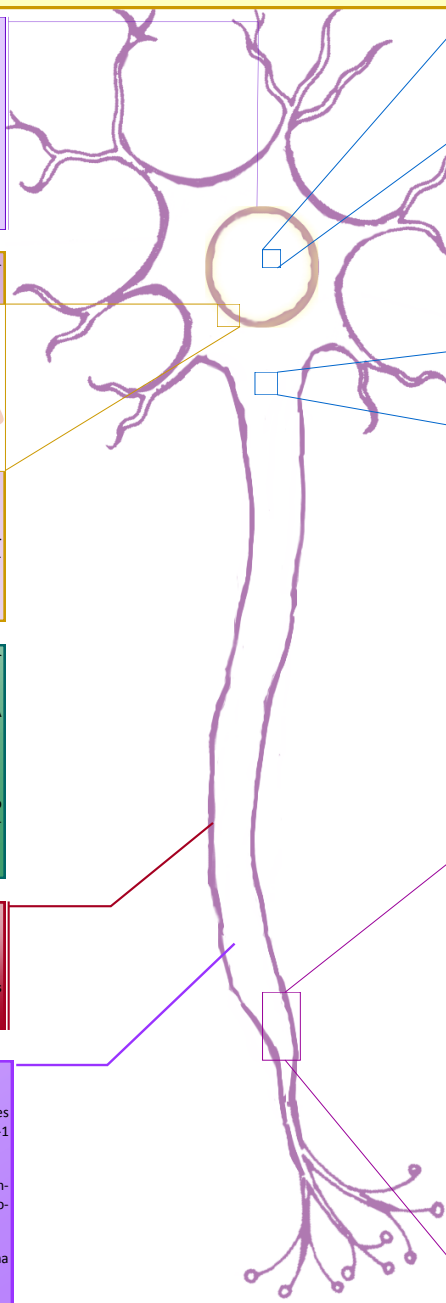
Té relació amb el metabolisme oxidatiu. No és una proteïna de processament del RNA. Algunes mutacions segresten mRNA de NFL i VEGF, dos gens relacionats amb l'ELA.

ALTRES ELEMENTS AFECTATS A L'ELA

NEUROFILAMENT: Consta de cadena pesant, mitjana i lleugera. Algunes mutacions afecten NFH (cadena pesant). Curiosament, TDP-43 i SOD-1 (mutant) poden unir-se al mRNA de NFL (cadena lleugera).

TRÀFIC INTRACEL·LULAR I DE MEMBRANA: Proteïnes amb aquestes funcions (alsina, VAPB, dinactina) s'han trobat mutades a l'ELA. C9orf72 podria pertànyer a aquest grup.

DEGRADACIÓ DE PROTEÏNES: S'han trobat mutacions a ubiquitina (associada al proteasoma), p62 i optineurina (autofàgia).



C9orf72 Funció no demostrada, és la mutació més prevalent.

C9orf72 (DNA): Expansió (GGGGCC), >25 cops. Es genera una estructura no canònica del DNA (*hairpin* o G-quadruplex) que disminueix l'expressió

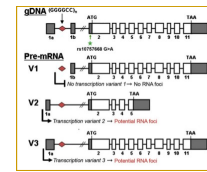


Figura B. Un gen i tres variants de *splicing*

C9orf72 (mRNA): Expansió que captura RBP o factors d'*splicing*

G-quadruplex -> captura RBP que transporten mRNA a les neurites?

2 hipòtesis

Hairpins

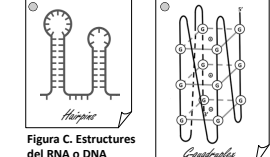


Figura C. Estructures del RNA o DNA

TRADUCCIÓ

Traducció RAN (sense ATG) -> dipèptids G-A, G-R o G-P d'alt Mw; G-A i G-P són potencialment agregatius.

Diminució de la proteïna correcta (família: DENN Rab-GEF), potser amb funcions de tràfic de membrana

FUS Semblant a TDP-43 en funció i alteracions, però careix de hiperfosforilació, ubiquitinació i truncament quan agrega.

ADAR2 Edició A → I del pre-mRNA de GluA2 (subunitat del receptor AMPA). S'han trobat nivells disminuïts en pacients amb ELA esporàdica (sense mutacions aparents).

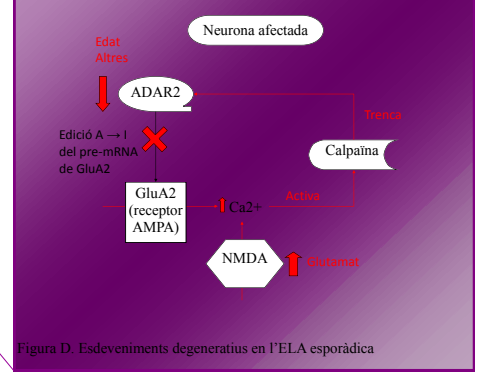


Figura D. Esdeveniments degeneratius en l'ELA esporàdica

CONCLUSIONS:

1. Gran heterogeneïtat genètica, que contrasta amb mecanismes comuns a altres malalties neurodegeneratives o conformacionals (RNA tòxic, agregats de proteïna).
2. Gran solapament genètic amb la DFT, el que ha portat a considerar-les dos extrems d'un mateix continuu ELA-DFT.
3. TDP-43, FUS i C9orf72 causen ELA-DFT però SOD-1 només ELA. És possible que el mecanisme patològic de SOD-1 (com el segrest del mRNA de NFL) es trobi *downstream* de TDP-43, FUS i/o C9orf72.
4. El moviment dels ulls es conserva perquè les neurones oculomotores: 1) tenen menys entrada de Ca²⁺ via AMPA, més transmissió GABAèrgica (protegeix de l'excitotoxicitat per glutamat) i són resistents a la desaparició d'ADAR2. A més, expressen de forma diferencial uns 2000 gens de proteòlisi, regulació transcripcional i transmissió sinàptica, entre d'altres.