

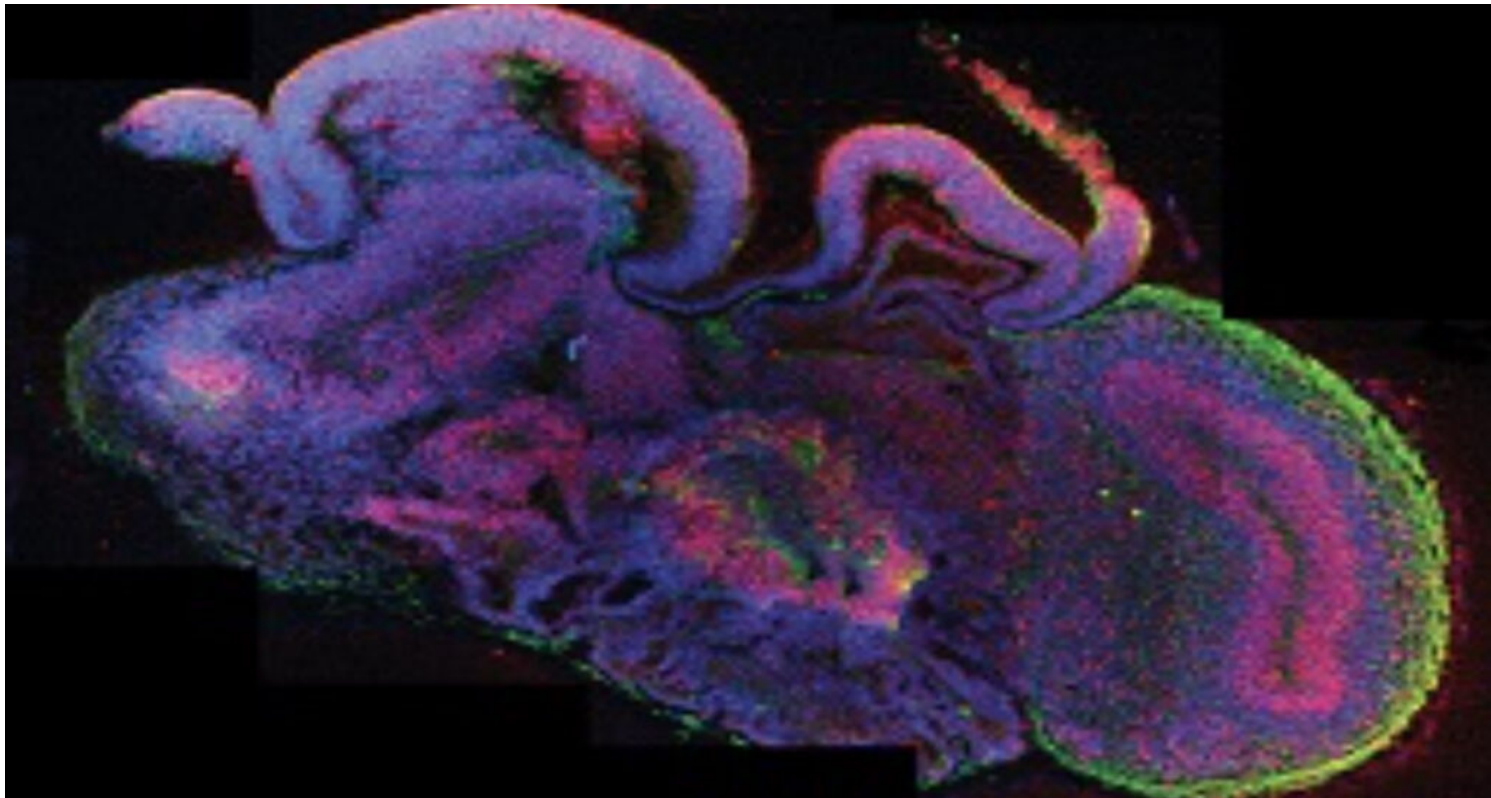
Organoides cerebrales: un modelo de estudio de las enfermedades neurológicas

Dr Javier Sierra Isturiz. Profesor de genética médica. Facultad de Medicina, UFV (Madrid)

Resumen: Los avances en los protocolos de cultivo celular han permitido desarrollar estructuras neuronales tridimensionales, derivadas de células madre pluripotentes inducidas, conocidas como 'organoides cerebrales'. Los organoides cerebrales humanos constituyen un sistema experimental alternativo a los modelos animales, accesible, éticamente justificado y que replica el contexto humano. En el artículo analizamos esta tecnología de vanguardia como un modelo biológico para estudiar enfermedades neurológicas.

Brain organoids: a model to study neurological diseases.

Abstract: Advances in cell culture protocols have allowed the development of induced pluripotent stem cell-derived, three-dimensional neural structures known as brain organoids. Human brain organoids constitute alternative experimental systems to animal models that are accessible, ethically justified, and replicate human context. In the article we discuss this ultimate technology as biological models to study neurological diseases.



Inmunofluorescencia de una sección sagital de un organoide cerebral humano (ref.: (1))

Introducción

Comprender la etiología de las enfermedades neurológicas humanas es todo un reto. Las características propias del desarrollo del cerebro humano limitan los aspectos de la enfermedad que pueden investigarse utilizando organismos modelo. Por tanto, para estudiar los fenotipos asociados al desarrollo, la función y la enfermedad del cerebro humano, es necesario utilizar sistemas experimentales alternativos que sean accesibles, estén justificados éticamente y reproduzcan el contexto humano. En los últimos años, los organoides cerebrales derivados de células madre pluripotentes humanas (hiPSC) ofrecen un sistema que reproduce las

características del desarrollo del sistema nervioso humano temprano in vitro, permitiendo desentrañar algunos de los mecanismos asociados a enfermedades. En este artículo, comentaremos en primer lugar la generación y las características de los organoides, consideraremos sus aplicaciones y, por último, abordaremos las implicaciones bioéticas de su uso.

Justificación y concepto

Las enfermedades neurológicas son la principal causa de discapacidad y la segunda de muerte en todo el mundo. Las estrategias preventivas están mejorando los resultados de las afecciones neurológicas, pero los avances en el tratamiento requieren una comprensión precisa de la etiología y la progresión de la enfermedad, ya que cada vez resulta más evidente que muchos trastornos neurológicos tienen su origen durante el desarrollo embrionario (2). Este conocimiento puede adquirirse estudiando la enfermedad en pacientes -por ejemplo, mediante biopsias líquidas, cirugía o recogida de tejido post mortem-, pero en la mayoría de los casos proporciona instantáneas del desarrollo de la enfermedad, mientras que su inicio rara vez se capta en dichos estudios. Los métodos no invasivos, como la neuroimagen, permiten examinar prospectivamente los rasgos y la progresión de la enfermedad, pero tampoco pueden rastrear los primeros procesos patológicos a nivel celular.

Por otro lado, los experimentos en modelos animales permiten identificar los mecanismos de la enfermedad, pero la traslación de la investigación depende de la conservación de los procesos patológicos entre roedores y humanos. Dada la distancia evolutiva entre ambas especies y la complejidad del cerebro de los primates, son muchas las características del desarrollo y las enfermedades del cerebro humano que no pueden recapitularse en roedores.

La tecnología de la reprogramación celular rompió el dogma de la unidireccionalidad de la diferenciación, permitiendo la generación de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) a partir de células somáticas humanas (3) (Figura 1). Las iPSCs tienen el potencial de generar cualquier tipo de célula o tejido, incluyendo neuronas y glía, lo que permitió estudiar células nerviosas procedentes de pacientes con enfermedades neurológicas. Sin embargo, la falta de arquitectura tisular limita los fenotipos de la enfermedad que pueden estudiarse utilizando estos sistemas de cultivo celular.

Los avances en los protocolos de cultivo celular han permitido el desarrollo de estructuras neuronales tridimensionales derivadas de iPSCs humanas, denominadas 'organoides cerebrales'. Los organoides cerebrales se definen como agregados tridimensionales autoensamblados, generados a partir de células madre pluripotentes humanas, con tipos celulares y estructuras que se asemejan al cerebro humano embrionario (4). A diferencia de los cultivos celulares bidimensionales (2D) convencionales, los organoides cerebrales reflejan el cerebro humano no sólo a nivel celular, sino también en términos de estructura tisular y de desarrollo embrionario. Por ello, se considera que este modelo tiene el potencial de salvar la distancia entre los modelos animales convencionales y los humanos.

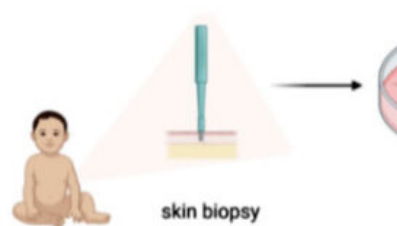
Generación y características

Los organoides cerebrales se pueden generar mediante dos metodologías distintas: métodos no guiados y métodos guiados (5) (Figura 1).

Los métodos no guiados aprovechan la capacidad intrínseca de señalización y autoorganización de las hiPSC para diferenciarse espontáneamente en tejidos, imitando el cerebro en desarrollo. Técnicamente, los agregados de hiPSC se embeben en una matriz extracelular y posteriormente se cultivan en biorreactores rotatorios para promover la expansión tisular y la diferenciación neural. Los organoides cerebrales resultantes suelen contener tejidos heterogéneos que se asemejan a diversas regiones del cerebro ? romboencéfalo, mesencéfalo y prosencéfalo -, la retina o el plexo coroideo. Sin embargo, la gran variabilidad y heterogeneidad tisular resultante plantean importantes retos para los estudios sistemáticos y cuantitativos.

Los métodos guiados requieren un aporte de fármacos y factores de crecimiento, que mimeticen la señalización durante la neurogénesis, para inducir a las hiPSC a diferenciarse hacia los linajes deseados y formar estructuras cerebrales específicas como la corteza o el hipocampo.

Figura 1: Reprogramación y generación de organoides cerebrales (modificado de ref. (5)).

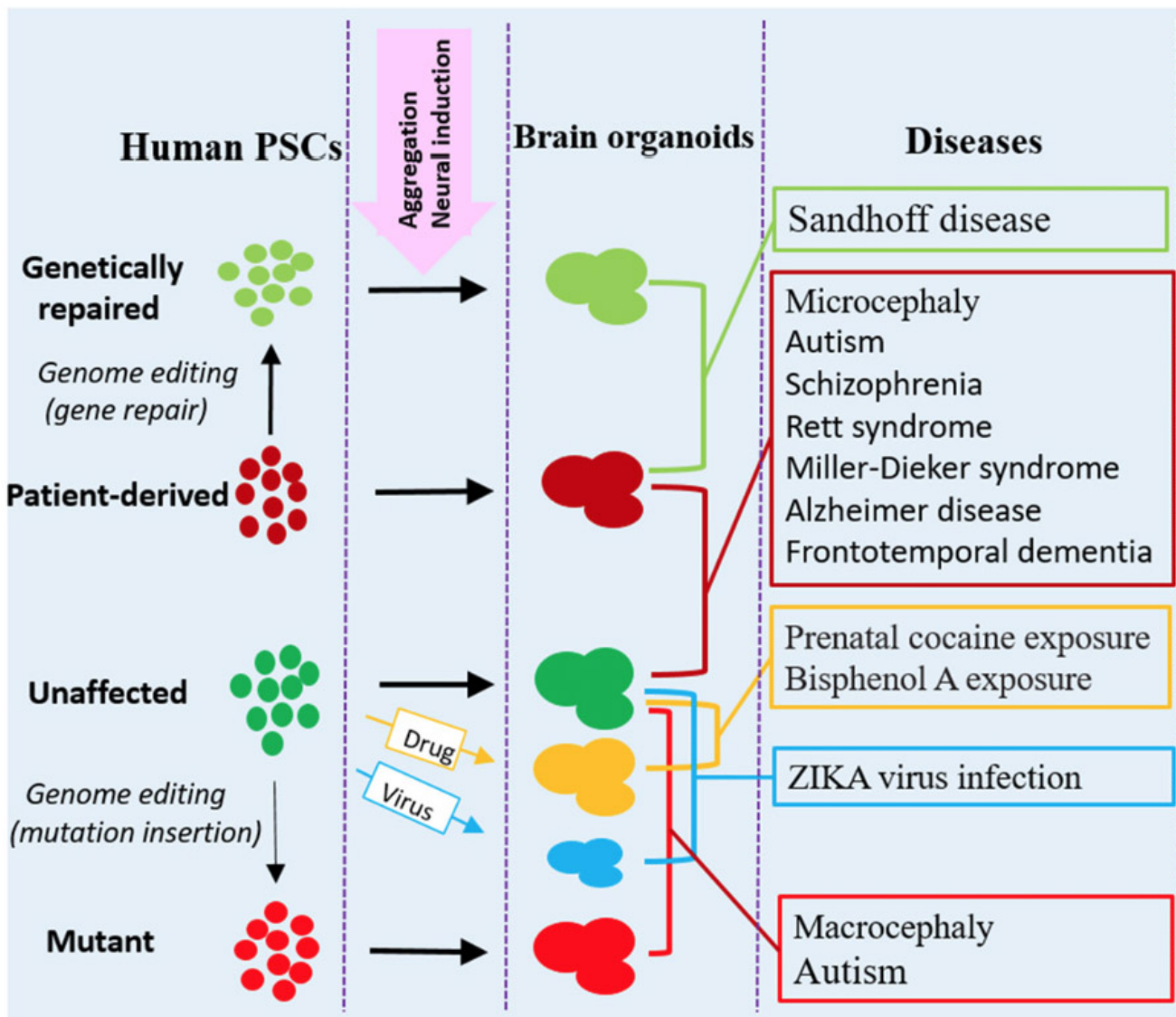


Actualmente, los organoides de corteza cerebral son los más utilizados y mejor caracterizados (6). Se asemejan notablemente a la corteza cerebral humana en desarrollo y reproducen su diversidad celular con interneuronas, astrocitos y precursores de oligodendrocitos. Sin embargo, no se observan células vasculares e inmunitarias y carecen de pliegues corticales. Además, debido a la falta de vascularización y circulación, se forma un núcleo necrótico en el interior lo que limita el tamaño del organoide (7).

Modelo de enfermedades

Para el estudio de enfermedades neurológicas, los organoides cerebrales pueden generarse a partir de iPSCs de pacientes (8). Son especialmente relevantes para reproducir enfermedades con malformaciones estructurales evidentes en fases embrionarias tempranas. Estos trastornos se atribuyen a la alteración de las células progenitoras, incluida la diferenciación prematura, la proliferación reducida y la alteración del ciclo celular. Ejemplos de la utilización de organoides cerebrales humanos para la investigación de enfermedades neurológicas serían los siguientes (9) (Figura 2):

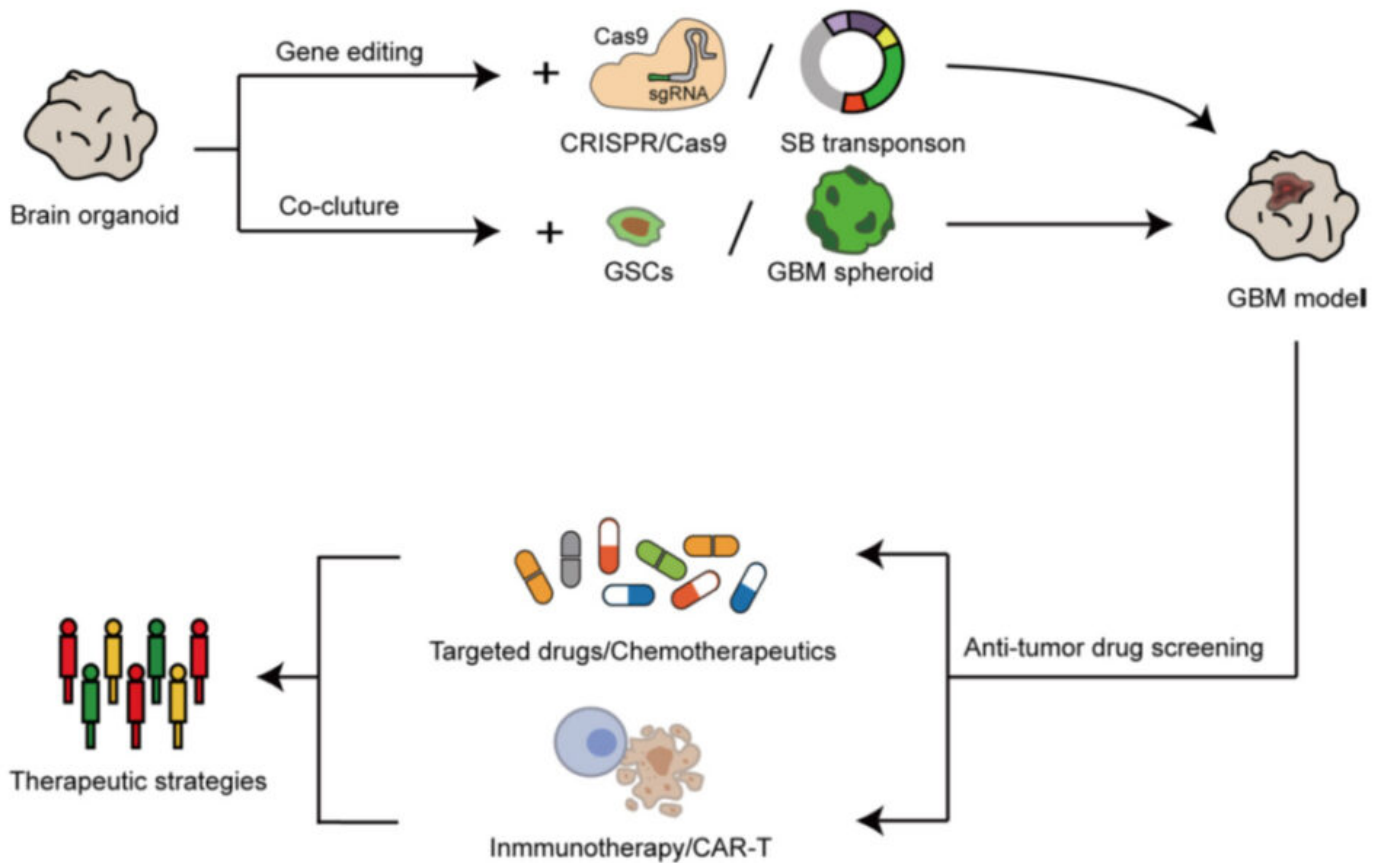
Figura 2.: Modelización de enfermedades neurológicas con organoides cerebrales (ref. (9))



- Los organoides a partir de iPSCs derivadas de pacientes con microcefalia portan mutaciones en genes asociados a la mitosis. Muestran una alteración del plano de división celular, lo que resulta en una disminución del número de precursores neuronales y en organoides más pequeños. - La neuropatología de la enfermedad de Alzheimer (EA) se ha estudiado ampliamente en modelos de ratón, pero este modelo no recoge todos los aspectos de la EA o requiere de mutaciones en varios genes para recapitular el fenotipo completo. Los organoides derivados de iPSCs de personas con EA familiar o esporádica desarrollan placas de amiloide- β (A β), ovillos de tau y se observa un incremento de la apoptosis neuronal. Además, en los organoides se aprecian las interacciones de las neuronas con la microglía y la barrera hematoencefálica (BHE), lo que podría aportar más información sobre los mecanismos de la enfermedad. - Los organoides derivados de células de individuos con trastorno del espectro autista (TEA), que dan lugar a estructuras prosencefálicas, muestran una alteración en las proporciones de neuronas excitadoras y neuronas inhibitoras. A partir de estos modelos, se ha conseguido asociar este fenotipo con la sobreexpresión del factor de transcripción FOXP1. - La exposición de organoides cerebrales al virus del Zika provoca una infección preferente de los precursores neuronales, reduciendo su proliferación y causando un aumento de la muerte celular, lo que en última instancia conduce a una reducción drástica del tamaño del organoide. - Una ventaja de los organoides es la posibilidad de manipular genéticamente las células madre humanas cultivadas (7). Por ejemplo, la generación de diferentes organoides de regiones cerebrales a partir de células madre humanas, que reproducen las alteraciones genéticas asociadas al glioblastoma, ha dado lugar a modelos que se asemejan a subtipos tumorales específicos, permitiendo interpretar los efectos de estas alteraciones genéticas y sirviendo como herramienta para tratamientos más eficaces (Figura 3).

Figura 3:

Modelización del glioblastoma y cribado de fármacos antitumorales (ref.: (10)).



Implicaciones bioéticas

Recientemente se ha mostrado que en los organoides cerebrales, a medida que maduran las neuronas y proyectan neuritas para establecer conexiones sinápticas, la actividad eléctrica espontánea se sincroniza entre las células. Además, esta actividad eléctrica sincronizada genera un patrón ondulatorio semejante al observado en neonatos prematuros (11). Estos resultados llevaron a plantear las siguientes cuestiones éticas relacionadas con la experimentación con organoides:

¿Son conscientes los organoides cerebrales humanos? Para evaluar la consciencia se utilizan herramientas como los correlatos neuronales de la consciencia (CNC), que se definen como el conjunto mínimo de actividades y estructuras neuronales necesarias para una percepción consciente. Los CNC se distribuyen en distintas regiones anatómicas de la corteza e involucran a distintos tipos celulares. Los organoides cerebrales humanos carecen de la complejidad estructural como para generar CNCs y, por tanto, tener consciencia de experiencias subjetivas (12).

¿Cuál es el status moral del organoide? Los organoides podrían alcanzar un status similar al que atribuimos a un animal de laboratorio, lo que requeriría un tratamiento diferente al de un objeto inanimado. En el caso de los animales quimera, a los que se haya trasplantado un organoide cerebral humano, no es esperable que adquieran una complejidad cognitiva dado el escaso número de células humanas trasplantadas. Sin embargo, si sería posible una mejora en sus habilidades, por lo que no sería ético mantener a estos animales en ambientes no estimulantes como jaulas de tamaño reducido (12).

Conclusión

Los organoides cerebrales reflejan características fundamentales del cerebro humano y constituyen una plataforma única para comprender las enfermedades neurológicas. Aun así, los organoides actuales no son una réplica perfecta y queda mucho camino por recorrer para obtener una representación in vitro más fidedigna del cerebro humano. El avance de esta tecnología, que permita acelerar la maduración funcional e incorporar otros tipos de células y tejidos, impulsará el campo hacia modelos más completos, lo que sin duda permitirá un auge del conocimiento sobre el desarrollo del cerebro y las enfermedades neurológicas.

Referencias 1. Lancaster MA, Knoblich JA. Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells. Nat Protoc. 2014 Oct;9(10):2329-40.

2. Sidhaye J, Knoblich JA. Brain organoids: an ensemble of bioassays to investigate human neurodevelopment and disease. Cell Death Differ. 2021 Jan;28(1):52-67.

3. Yamanaka S. Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy? Promise and Challenges. Cell Stem Cell. 2020 Oct;27(4):523-31.

4. Qian X, Song H, Ming GL. Brain organoids: advances, applications and challenges. Development. 2019 Apr 15;146(8):dev166074.

5. Haase FD, Coorey B, Riley L, Cantrill LC, Tam PPL, Gold WA. Pre-clinical Investigation of Rett Syndrome Using Human Stem Cell-Based Disease Models. Front Neurosci. 2021 Aug 25;15:698812.

6. Lancaster MA, Corsini NS, Wolfinger S, Gustafson EH, Phillips AW, Burkard TR, et al. Guided self-organization and cortical plate formation in human brain organoids. Nat Biotechnol. 2017 Jul;35(7):659-66.

7. Chiaradia I, Lancaster MA. Brain organoids for the study of human neurobiology at the interface of in vitro and in vivo. Nat Neurosci. 2020 Dec;23(12):1496-508.

8. Eichmüller OL, Knoblich JA. Human cerebral organoids: a new tool for clinical neurology research. Nat Rev Neurol. 2022 Nov;18(11):661-80.

9. Baldassari S, Musante I, Iacomino M, Zara F, Salpietro V, Scudieri P. Brain Organoids as Model Systems for Genetic Neurodevelopmental Disorders. Front Cell Dev Biol. 2020 Oct 12;8:590119.

10. Sun N, Meng X, Liu Y, Song D, Jiang C, Cai J. Applications of brain organoids in neurodevelopment and neurological diseases. J Biomed Sci. 2021 Apr 22;28(1):30.

11. Trujillo CA, Gao R, Negraes PD, Gu J, Buchanan J, Preissl S, et al. Complex Oscillatory Waves Emerging from Cortical Organoids Model Early Human Brain Network Development. Cell Stem Cell. 2019 Oct;25(4):558-569.e7.

12. Hoppe M, Habib A, Desai R, Edwards L, Kodavali C, Sherry PS, et al. Human brain organoid code of conduct. Front Mol Med. 2023 Mar 23;3:1143298.