

FUNDELA

Boletín Científico 53

El boletín de FUNDELA publica resúmenes y artículos científicos referentes a los últimos avances de la investigación, tratamientos sintomáticos y cuidados al paciente con ELA.

Se envía periódicamente a más de 400 suscriptores, entre los que se encuentran profesionales de la salud, pacientes y familiares de España y Latinoamérica.

Todos los boletines pueden descargarse en nuestra web www.fundela.es

FUNDELA no asume responsabilidades por la información que contiene este boletín.

Necesitamos ayuda económica para continuar en los proyectos que indicamos a continuación

● **PROYECTO EUROPEO MinE:**

www.projectmine.com

● **PROYECTOS PILOTO DE DETERMINACION DE DIFERENTES POSIBLES BIOMARCADORES EN PLASMA Y CELULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFERICA EN PACIENTES CON ELA**

● **PROYECTO DE EVALUACION, ASESORAMIENTO Y APLICACIÓN DE AYUDAS TECNICAS DE APOYO PARA PACIENTES CON ELA: LOGOPEDIA, PRODUCTOS ORTÉSICOS Y SISTEMAS ALTERNATIVOS DE COMUNICACIÓN.**

● **BOLETIN CIENTIFICO**

Actualmente contamos con subvenciones de La Caixa y aportaciones particulares de pacientes y familiares que sufren la ELA.

Su donativo le dará derecho a practicar una deducción en la cuota del impuesto sobre la renta. La deducción será del 25% como persona física y del 35% como empresa.

Para realizar donaciones económicas pedimos suscribirse en nuestra página web:

<http://www.fundela.es/colabora/donar/>

COMIDA ANIVERSARIO 2015

Sábado 26 de Septiembre de 2015

Para conmemorar nuestro 13 aniversario, celebraremos una comida en Madrid. Los fondos recaudados serán utilizados para llevar a cabo los objetivos de la fundación.

Precio: 45 Euros

Hora: 14:00 horas

Lugar: Restaurante SANTA CRUZ:

www.restaurantesantacruz.com

Parque de los castillos, s/n

Alcorcón, Madrid

Teléfono: 916 108 759

Esperamos contar con tu asistencia!

**Existe la mesa "0", para aquellos que no puedan asistir y quieran colaborar, vuestra donación es fundamental para que la investigación en la ELA, no quede en el olvido.

Más información: fundela@fundela.es



Colaboradores voluntarios de este número:

Dr. Alberto García Redondo (Bioquímico, Unidad de ELA – Hospital Universitario 12 de octubre)

Dra. Elena Rodríguez García (Bioquímica – Voluntaria FUNDELA)

D. David Matallanas (Systems Biology Ireland, Conway Institute. U. College Dublin – Voluntario FUNDELA)

Dña. Gabriela Atencia Cibreiro (estudiante predoctoral laboratorio – Hospital Universitario 12 de octubre)

Dña. Alexandra Juárez Rufián (técnico de laboratorio - Hospital

Universitario 12 de octubre)

Dra. Esther Tapia Corrales (Medical writer freelance – Voluntaria FUNDELA)

Dra. María Teresa Solas (Bióloga, Universidad Complutense de Madrid)

Dra. Teresa Salas (Psicóloga, Unidad de ELA - Hospital Carlos III/Hospital Universitario La Paz)

Dr. Jesús S. Mora Pardina (Neurólogo, Unidad de ELA - Hospital Carlos III/Hospital Universitario la Paz)

RESÚMENES DE ARTICULOS CIENTÍFICOS



11 CUIDADO CON EL PAN! ¿SENSIBILIDAD AL GLUTEN EN PERSONAS CON ELA?

20 PROGRESOS ACTUALES EN TERAPIA GÉNICA PARA LA ELA

31 AGREGADOS DE PROTEÍNAS MAL PLEGADAS EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

39 CAMBIOS EN EL SISTEMA DE SENALIZACIÓN ENDOCANNABINOIDE EN LAS ESTRUCTURAS DEL SNC DE RATONES TRANSGÉNICOS TDP-43: RELEVANCIA PARA UNA TERAPIA NEUROPROTECTORA EN ENFERMEDADES RELACIONADAS CON TDP-43

04 LOS INVESTIGADORES DE LA UMMS AVANZAN EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ELA, GRACIAS AL DESAFÍO DEL CUBO HELADO

12 PRUEBAS DE FUNCIONALIDAD COGNITIVA MEDIANTE SEGUIMIENTO OCULAR EN PACIENTES CON ELA: UN ESTUDIO CONTROLADO

23 SE DESCUBREN OCHO REGULADORES MAESTROS DE LA NEURODEGENERACIÓN EN MODELOS ANIMALES DE ELA

32 NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE LOS MECANISMOS MOLECULARES QUE SUBYACEN A LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS - HSN II Y ELA

40 UNA VACUNA DESPIERTA EL SISTEMA INMUNOLÓGICO PARA LUCHAR CONTRA LA ENFERMEDAD DE MOTONEURONA EN RATONES

04 MITSUBISHI TANABE PHARMA CORPORATION CONSIGUE LA APROBACIÓN DE RADICUT PARA LA ELA EN JAPÓN

13 ACUPUNTURA EN LA ELA

24 LA TRANSTIRRETINA SE MUESTRA COMO UN PROMETEDOR BIOMARCADOR PARA LA ELA Y LA DFT RELACIONADA CON C9ORF72

33 UNA RUTA CELULAR CLAVE OFRECE UNA NUEVA DIANA TERAPÉUTICA PARA LA ELA

41 SEGUNDO ESTUDIO MUESTRA A LA QUINASA 1 DE UNIÓN A TANK COMO UN GEN ELA

05 EN EL PRÓXIMO SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE ELA/ENM SE PRESENTARÁN LOS RESULTADOS DE UN ENSAYO CLÍNICO CON IBUDILAST

14 TRATAMIENTO PSICODINÁMICO BASADO EN HIPNOSIS EN LA ELA: UN ESTUDIO LONGITUDINAL EN PACIENTES Y CUIDADORES

25 LAS ALTERACIONES EN LA UNIÓN NEUROMUSCULAR SE DETECTAN EN FASE TEMPRANA EN LOS PACIENTES CON ELA

34 CARACTERÍSTICAS DE LA ELA A NIVEL MOLECULAR: NUEVAS PRUEBAS REVELAN DIFERENTES CEPAS DE SOD1

42 PAPEL DE TREM2 R74H COMO FACTOR DE RIESGO PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, LA DEGENERACIÓN DEL LÓBULO FRONTOTEMPORAL, LA ELA Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.

05 CÉLULAS MADRE COMO MODELO Y TERAPIA PARA LA ELA: MITO O REALIDAD

16 EL SISTEMA INMUNE JUEGA UN PAPEL CLAVE EN EL DESARROLLO DE LA ELA

26 ¿QUÉ NOS DICE EL TRANSCRIPTOMA DEL ELA ESPORÁDICA Y DE LOS CASOS DE ELA CON MUTACIONES EN C9ORF72?

35 LA ALS ASSOCIATION REVELA NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE UNA PROTEÍNA VINCULADA A LA ELA

43 IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES RARAS EN EL GEN DE LA PROTEÍNA DISULFURO ISOMERASA EN PACIENTES CON ELA.

07 CÉLULAS SATÉLITES DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN LA ELA

16 NUEVO BIOMARCADOR POTENCIAL Y OBJETIVO TERAPÉUTICO PARA PACIENTES CON ELA

26 LOS GRUPOS "METILO" FRENAN LA PROGRESIÓN DE LA DFT

36 LA EXPANSIÓN DE LA REPETICIÓN EN C9ORF72 EN RATONES CAUSA ACÚMULO DE TDP-43, PÉRDIDA NEURONAL Y DEFICIENCIAS COMPORTAMENTALES

45 **NOVEDADES**

07 LA BIBLIOTECA DE CÉLULAS MADRE DERIVADAS DE PACIENTES CON ELA SE HACE PÚBLICA PARA LA COMUNIDAD DE INVESTIGADORES

17 PERFILES PLASMÁTICOS REVELAN TRES PROTEÍNAS, QUE PODRÍAN SER BIOMARCADORES POTENCIALES EN LA ELA

28 LA PEPTIDILPROLIL ISOMERASA A REGULA LA FUNCIÓN DE TARDBP Y SU ENSAMBLAJE EN COMPLEJOS HETEROGÉNEOS DE RIBONUCLEOPROTEÍNAS NUCLEARES

37 LA DEPLECIÓN DE FUS/TLS INDUCE SÍNTOMAS DIFERENTES A LOS QUE APARECEN EN LA ELA

08 ASOCIACIÓN ENTRE LA DIABETES TIPO 2 Y UN MENOR RIESGO A PADECER ELA

18 LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL CAPAZ DE DIFERENCIAR ENTRE LA ELA Y ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES SEMEJANTES QUE NO SON ELA

29 NEURODEGENERACIÓN: LA REPRESIÓN POR TDP-43 DE EXONES CRÍPTICOS NO CONSERVADOS SE ENCUENTRA COMPROMETIDA EN LA ELA/DFT

37 LA MELATONINA ES NEUROPROTECTORA EN RATONES ELA

09 DECEPCIÓN TRAS EL ESTUDIO DE LA ESTIMULACIÓN DEL DIAFRAGMA EN LA ELA

19 EL SISTEMA MITOS PREDICE LA SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO EN LA ELA

30 ¿LAS INFECCIONES VIRALES PODRÍAN INDUCIR LA ELA JUVENIL?

38 OXR1, UN ANTIOXIDANTE ESPECÍFICO NEURONAL, AUMENTA LA SUPERVIVENCIA EN UN MODELO EN RATÓN DE ELA

ELA: RETO DEL CUBO DE AGUA HELADA

Julio de 2014, el ex jugador de béisbol Pete Frates, sube a Facebook un video de 52 segundos, en el que mueve la cabeza al ritmo de "Ice ice Baby". Pete tiene ELA y mientras permanece seco para proteger su salud, anima junto a sus compañeros, a otras personas, a que arrojen agua helada sobre sus cabezas para crear conciencia y recaudar fondos, para la investigación en ELA. El resultado es una cantidad sin precedentes de dinero que empieza a fluir, para apoyar la investigación de una enfermedad de la que muchos hasta esa fecha no habían oído hablar. Más de 17 millones de personas subieron videos en Facebook, incluyendo muchos famosos y fueron vistos por más de 440 millones de personas en todo el mundo.

El reto del cubo de agua helada, está de vuelta este verano, pretendiendo conseguir donaciones, pero ¿cómo se ha invertido el dinero recaudado el año anterior?

En EEUU la Asociación ALSA -que representa a pacientes con ELA y todas las enfermedades de moto neurona- recaudo 220 millones de dólares en donaciones durante los meses de agosto y septiembre del 2014, de los que ha destinado 77 a la investigación, 23 para servicios a los pacientes, tomando en cuenta que en EEUU la asistencia es privada, 10 para educación pública y profesional, 5 para gastos de recaudación de fondos y procesamiento de la donación. Esto es un gran cambio porque esta asociación tiene un presupuesto anual de 25 millones.

El objetivo de esta campaña es la inversión en investigación en ELA. Algunos investigadores pretenden reducir la distancia existente entre los científicos académicos y las compañías farmacéuticas. A menudo, los investigadores tienen buenas ideas pero los datos preclínicos no son suficientes para que la industria llegue a tener interés. Por ejemplo, el ALS Therapy Development Institute (ALS TDI) pretende realizar inmunoterapia con dos anticuerpos. Uno de ellos es el de SOD1, cuyos agregados aparecen en las neuronas de pacientes con ELA, que en estudios preclínicos han alargado la vida en el caso del modelo de ratón. El otro, es el CD40L, ligando de receptores de células T, que ha funcionado en el modelo de ratón y parece seguro en primates. El ALS TDI pretende usar parte de lo recaudado con el cubo helado para producir estos anticuerpos y usarlos en ensayos clínicos.

Muchos trabajos ya están en marcha pero las organizaciones piensan en el futuro. Ya han empezado a realizarse dos proyectos de secuenciación, el proyecto MinE que es internacional y un programa del Centro de Genómica de Nueva York, que combinados pretenden secuenciar un número sin precedentes de genomas humanos. El primero trataría de secuenciar el ADN de 15.000 pacientes con ELA esporádica y 7.500 controles.

El proyecto MinE se inició en 2013 por científicos y pacientes de los Países Bajos, invitando al resto de países a unirse al proyecto. ¿El reto? Los científicos de cada país deben conseguir su financiación. Se estima que el análisis del genoma de una sola muestra, cuesta unos 1850 euros, por lo que el reto es bastante caro. La inversión y el volumen de muestras hacen de este proyecto una diferencia real en la investigación. **NECESITAMOS TU APOYO Y EL DE TODOS TUS CONOCIDOS. EN ESPAÑA LA RECAUDACIÓN DE DONACIONES PARA PROJECT MINE ESTÁ LIDERADA POR FUNDELA.**

Cada vez más las organizaciones invierten dinero en proyectos de biomarcadores, como la relación de la cadena pesada de los neurofilamentos para complementar C3, en líquido cefalorraquídeo; la investigación con células madre; glóbulos criopreservados que pueden ser convertidos en células madre pluripotentes inducidas (iPSC) y de allí a las neuronas o glía (de interés en la ELA); analizar las secuencias de ARN para correlacionar los perfiles de expresión y los datos clínicos.

En el laboratorio del Instituto de Investigación "i+12" de Madrid mantenemos dos líneas de investigación en ELA. La Primera, es nuestra colaboración, junto a los centros del Hospital Carlos III y Hospital Bellvitge, reclutando muestras de sangre de pacientes españoles para el proyecto MinE (coordinado por el Dr. Mora desde la Unidad de ELA del Hospital Carlos III de Madrid) y la segunda, desarrollamos un proyecto de biomarcadores, además de continuar con el diagnóstico genético de pacientes con ELA y sus familiares de forma continuada.

La opinión general es que con el reto del cubo de agua helada, la investigación de esta enfermedad, ha pasado de tener muy pocas oportunidades de trabajo a ser un tema candente. Desde FUNDELA y en nombre de todos los investigadores españoles, AGRADECEMOS el apoyo de la población española que se ha volcado para mantener viva la investigación.

Para mantener este impulso, los instigadores del "reto del cubo de agua helada" animan a seguir con las duchas congeladas este verano.

Este año Pete Frates lanza la frase: "Cada Agosto hasta que se encuentre la cura".

Alexandra Juárez Rufián
Técnico de laboratorio - Unidad de ELA "i+12"
Trabajo financiado gracias al apoyo de FUNDELA

LOS INVESTIGADORES DE LA UMMS AVANZAN EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ELA, GRACIAS AL DESAFÍO DEL CUBO HELADO

Ha pasado un año desde que el ALS Ice Bucket Challenge (El desafío del Cubo hELAdo) arrasase Internet, provocando que incontables hogares en todo el mundo, celebridades y figuras públicas, mostrasen su apoyo a los esfuerzos puestos en marcha para encontrar una cura para la ELA. A raíz de esta campaña viral, un equipo de científicos de la Escuela de Medicina de la Universidad de Massachusetts (UMMS) ha logrado avances significativos en el laboratorio... ¡Las campañas de apoyo ayudan a progresar!

La investigación todavía está muy lejos de encontrar una cura definitiva, porque a pesar de que los investigadores en UMMS y otras instituciones ya han determinado una serie de genes conocidos que desencadenan la forma hereditaria de la enfermedad, casi la mitad de estos casos tienen todavía un origen genético desconocido. Actualmente el Dr. Brown profesor de neurología de la UMMS y su equipo de investigadores están trabajando en la forma de inactivar estos genes problemáticos.

En relación al desarrollo de una terapia, se ha producido un progreso real y hay motivos, muy legítimos, de esperanza y aliento. Combinando sus fuerzas con el increíble personal de la unidad de terapia génica de la UMMS, ha sido posible demostrar que se puedan poner elementos de silenciamiento génico en el sistema nervioso mediante la administración de virus y al hacerlo, apagar algunos de los genes tóxicos que provocan la enfermedad. Hasta ahora, el uso de este enfoque en modelos animales ha dado lugar a un aumento de la supervivencia. La pregunta es ¿podemos aprovechar estos hallazgos con la suficiente rapidez para conseguirlo en seres humanos? y la respuesta es: sí, el Dr. Brown director y profesor de neurología de la UMMS cree que se puede.

El año pasado un monumental empujón para aumentar los fondos de investigación en la ELA, conocido como El reto del Cubo hELAdo, recaudó más de 250 millones de dólares a nivel mundial para la investigación y la atención al paciente en la ELA. El vídeo del desafío en los medios de comunicación social ha regresado también este año.

El co-fundador Pat Quinn expresó en la con-

vocatoria para estos años el siguiente desafío. El año pasado les dio la esperanza a la comunidad ELA por primera vez en mucho tiempo, pero todavía se necesita la ayuda del público para mantener el impulso. Este desafío se inició el 31 de julio con el slogan de "cada mes de agosto hasta que se encuentre una cura".

REF: Tan A. "UMMS Researchers Make Progress in ALS Research". *ALS News Today*. 4 de Agosto de 2015. <http://alsnewstoday.com/2015/08/04/umms-researchers-make-progress-in-als-research/>

MITSUBISHI TANABE PHARMA CORPORATION CONSIGUE LA APROBACIÓN DE RADICUT PARA LA ELA EN JAPÓN

El Presidente y Director Representante, CEO de Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Masayuki Mitsuka anunció el 26 de junio de 2015 que la compañía ha recibido en Japón la aprobación de la Agencia Reguladora Japonesa de Productos Farmacéuticos y Dispositivos Médicos (PMDA), para comercializar Radicut en el tratamiento de la ELA. Radicut, también conocido como edavarona o MCI-186 fue descubierto por MTPC y se comercializa para el tratamiento de la fase aguda del infarto cerebral, un tipo de accidente cerebrovascular isquémico.

Se cree que el daño causado por el estrés oxidativo provocado por radicales libres podría ser una causa del inicio de la ELA, Radicut elimina radicales libres. En 2001, MTPC comenzó los ensayos clínicos en pacientes con ELA en Japón. Una serie de ensayos demostraron que los pacientes que recibieron Radicut mostraban una reducción en la pérdida funcional en comparación con los pacientes que recibieron placebo. Como consecuencia de los resultados de los ensayos clínicos, en 2014 la compañía presentó una solicitud para la ELA al Ministerio de Sanidad, Trabajo y del Bienestar. La compañía no ha solicitado aún la aprobación de fármaco en EE.UU, aunque en 2015 ha recibido la designación de fármaco huérfano por la Administración de Alimentos y Fármacos Americana (FDA). Curiosamente, a principios de este año Treeway, otra empresa biotecnológica, consiguió también la designación de fármaco huérfano en EE.UU. para su versión reformulada de Radicut, llamada TW001.

REF: "Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation Gains Approval of Radicut for ALS in Japan". *The ALS Forum*. 26 de Junio de 2015. http://www.researchals.org/page/news/drug_news/14786?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+131+v2+&utm_campaign=Newsletter+Vol+129&utm_medium=email

EN EL PRÓXIMO SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE ELA/ENM SE PRESENTARÁN LOS RESULTADOS DE UN ENSAYO CLÍNICO CON IBUDILAST

MediciNova, Inc., una compañía biofarmacéutica establecida en San Diego, California, EE.UU., anunció recientemente en un comunicado de prensa que se ha aceptado un resumen, centrado en el ensayo clínico en curso que evalúa el producto de la empresa MN-166 (ibudilast) para la ELA.

MN-166 (ibudilast) se utiliza en Corea y Japón para las complicaciones en asma bronquial y después de un accidente cerebrovascular. MediciNova ha obtenido la licencia para su aplicación potencial en esclerosis múltiple en fase de recaída-remisión (EMRR), una enfermedad neurodegenerativa progresiva que también conduce al deterioro de la función motora y a una discapacidad neurológica irreversible. MN-166 (ibudilast) es una pequeña molécula biodisponible por vía oral que tiene propiedades anti-neuroinflamatorias y neuroprotectoras, teniendo por tanto posibles efectos terapéuticos en enfermedades neurodegenerativas como la ELA. Debido a sus propiedades, MN-166 también está siendo considerada como una terapia para el abuso/adicción de sustancias y el dolor neuropático crónico.

El ensayo clínico en curso de MediciNova (registro del ensayo NCT02238626) corresponde a un ensayo monocéntrico, aleatorizado a doble ciego controlado con placebo que incluye un período de tratamiento de seis meses, seguidos de seis meses de extensión abierta. El objetivo del ensayo es evaluar la seguridad y eficacia de MN-166 (60 mg/día) en pacientes con ELA en términos de fuerza muscular, actividad funcional y función respiratoria.

Los datos sobre la seguridad y los resultados clínicos del tratamiento con MN-166 serán presentados en el simposio sobre ELA/ENM el 13 de diciembre (8:50 AM) de 2015 por

el Dr. Benjamin Rix Brooks, investigador principal del estudio y director del Carolinas HealthCare System's Neuromuscular/ALS MDA Center, donde se está llevado a cabo el ensayo.

REF: Silva P. "Results on Ibudilast Clinical Trial To Be Presented At 2015 International Symposium on ALS/MND". *ALS News Today*. 30 de Julio de 2015. <http://alsnewstoday.com/2015/07/30/results-ibudilast-clinical-trial-presented-2015-international-symposium-alsmnd/>

CÉLULAS MADRE COMO MODELO Y TERAPIA PARA LA ELA: MITO O REALIDAD

Con el objetivo de elucidar los mecanismos que conducen a la ELA, en estos últimos años ha aumentado considerablemente el uso de modelos experimentales basados en el empleo de células madre. En este escenario, gran parte del conocimiento se ha generado a partir del estudio de las neuronas motoras derivadas de células madre embrionarias y células madre pluripotenciales inducidas. Los estudios preclínicos parecen mostrar resultados muy prometedores. Las células madre han comenzado a ser empleadas también en estudios clínicos con pacientes con ELA. Sin embargo, a pesar de los avances recientes, la aplicación de células madre como tratamiento para los pacientes con ELA aún se encuentra sometida a debate. En este artículo se muestran brevemente los últimos estudios puestos en marcha, así como los aspectos más polémicos sobre su uso terapéutico, tales como el modo de administración, tipo de célula empleada, etc.

Los tipos de células madre más viables empleados en estudios clínicos parecen ser las neuronales (NSC, por sus siglas en inglés) y las mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés). Hay un gran número de estudios que han analizado el potencial terapéutico de las NSCs en modelos murinos de ELA. Su trasplante parece ralentizar tanto el inicio como la progresión de la enfermedad así como prolongar la supervivencia, lo cual es debido a una variedad de procesos entre los que se incluyen su capacidad para producir factores tróficos, preservar la función neuromuscular y reducir la astrogliosis, así como la inflamación.

La compañía NeuralStem llevó a cabo recientemente un estudio clínico fase I (NCT01348451)

con un tipo de NSCs denominadas NSI-566RSC HSSC que constituyen una línea celular procedente de la médula ósea de un feto abortado de 8 semanas de gestación. Los 12 pacientes reclutados recibieron 5 inyecciones unilaterales o bilaterales a nivel lumbar con 10.000 células/inyección. Las células fueron trasplantadas mediante un dispositivo quirúrgico patentado por NeuralStem, que permite su liberación dentro de la médula espinal a una velocidad lenta y constante mediante micropunciones, reduciendo así al mínimo el trauma en la médula espinal ocasionado por la aguja. Todos los pacientes toleraron el tratamiento sin ninguna complicación relacionada con el mismo a largo plazo. Durante los 18 meses de seguimiento tras el trasplante los pacientes no mostraron ninguna evidencia de aceleración de la progresión de la enfermedad debido a la intervención. Un paciente mostró mejoría en su estatus clínico, aunque ese dato debe ser interpretado con cautela ya que este ensayo no fue diseñado para medir la eficacia del tratamiento. En 2013 concluyó un segundo estudio fase I que confirmó la seguridad del sistema de inyecciones en la médula espinal a nivel cervical y toracolumbar. A finales de 2014 finalizó el estudio fase II (NCT01730716) con el objetivo principal de determinar la máxima dosis tolerada y cuyos resultados se esperan durante 2015.

El otro tipo celular empleado, las MSCs, pueden obtenerse de diferentes tejidos del propio paciente (principalmente de médula ósea) lo cual evitaría el posible rechazo tras el trasplante así como todo tipo de problemas éticos derivados del empleo de células embrionarias. El potencial regenerativo de estas células troncales adultas en órganos como hígado, músculo y corazón ha sido ampliamente estudiado y ha demostrado ser factible y seguro. En 2010 Mazzini et al, publicaron los resultados de un estudio fase I con 10 pacientes con ELA, en el que se confirmó que el trasplante de MSCs en la médula espinal era seguro. Dichos autores sugirieron el empleo de técnicas quirúrgicas como la empleada por NeuralStem para reducir eventuales efectos adversos debidos a la cirugía y la realización del trasplante en los segmentos cervicales de la médula ósea para mejorar el potencial beneficio terapéutico de las MSCs.

En ese mismo año Karussis et al. presentaron un estudio fase I/II llevado a cabo en 34 pacientes (15 con esclerosis múltiple intratable y 19 con ELA) los cuales recibieron por vía intratecal e intravenosa un total de 60-100x10⁶ MSCs provenientes de la médula ósea. Los efectos ad-

versos fueron de carácter leve (dolor de cabeza y fiebre principalmente), únicamente un paciente sufrió meningitis aséptica atribuida a los efectos de restos de dimetilsulfóxido en el medio de cultivo. La media en la puntuación en la escala ALSFRS (escala que evalúa el estatus funcional de los pacientes con ELA) permaneció estable durante los primeros seis meses. Además se evaluó el efecto inmunoregulator de las MSCs trasplantadas, observándose cambios mayores que los inducidos tras el tratamiento con medicación convencional inmunomoduladora.

La compañía BrainStorm ha puesto en marcha recientemente una serie de estudios con un tipo de MSC al que denominan NurOwn™ (www.brainstorm-cell.com). Se trata de MSCs autólogas modificadas para que secreten factores neurotróficos. Han concluido recientemente dos estudios aunque todavía no han sido publicados. Un estudio fase I/II (NCT01051882) cuyos datos se terminaron de recoger en marzo de 2013 y un estudio fase II (NCT01777646) con escalado de dosis (94 106/141 106/188 106 células) administradas mediante una única inyección intratecal y múltiples inyecciones intramusculares, con fecha estimada de fin de recogida de datos en octubre de 2014. Además actualmente hay en activo otro estudio fase II (NCT02017912) multicéntrico, randomizado, doble ciego, con placebo como control, llevado a cabo en 48 pacientes con ELA, con los objetivos de evaluar seguridad y eficacia del trasplante de las células NurOwn y que se estima finalizará en marzo de 2016.

En resumen, aunque queda mucho trabajo por hacer, los resultados esperanzadores procedentes de estudios preclínicos y clínicos puestos en marcha permiten sentar las bases para seguir avanzando. Queda sin embargo por determinar en el futuro muchos aspectos, entre los que se incluirían el tipo celular más apropiado o el protocolo de administración de la terapia celular (lugar, modo y número de células) más seguro y eficaz que permita obtener los mejores resultados en el tratamiento de la ELA.

REF: Coatti et al. *Stem cells for amyotrophic lateral sclerosis modeling and therapy: myth or fact? Cytometry A.* 2015 Mar;87(3):197-211
Karussis et al. *Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. Arch Neurol.* 2010 October ; 67(10): 1187-1194.
Glass et al. *Lumbar intraspinal injection of neural stem cells in patients with amyotrophic lateral sclerosis: results of a phase I trial in 12 patients. Stem Cells.* 2012 Jun;30(6):1144-51.

CÉLULAS SATÉLITES DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN LA ELA

Actualmente, en el estudio de la patogénesis de la ELA se está considerando la ELA como una enfermedad "multisistémica" en la que las alteraciones estructurales, fisiológicas, y los parámetros metabólicos en diferentes tipos celulares pueden actuar de forma sinérgica agravando la enfermedad.

Recientemente se ha visto que las células musculares conjuntamente con otros tipos celulares podrían desempeñar un papel importante en la patogénesis de la ELA. Sin embargo, la potencial alteración en la regulación miogénica todavía no está clara, por esta razón en el artículo publicado en julio de 2014 en la revista *Ultrastructural Pathology* se investiga el papel de las células satélite (SCs) en la atrofia muscular que tiene lugar en la ELA. Scaramozza de la Universidad de Bolonia, en Italia y sus colaboradores aislaron células satélite de biopsias musculares de pacientes con ELA y analizaron su capacidad de crecimiento y expansión *in vitro*. Analizaron las características ultraestructurales e inmunofenotípicas y se realizaron análisis de PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) y Western Blot para evaluar la expresión de factores de regulación miogénica (MRF) y de las cadenas pesadas de miosina (MyH). Las células satélites ELA mostraron un alto potencial proliferativo, pero su capacidad para continuar el programa miogénico y formar miotubos parece estar alterada cuando se comparan con los controles. Los autores han observado que en la diferenciación de las células SC ELA se muestran algunas características específicas, mostraron una morfología alterada, con un gran número de vacuolas. Los datos obtenidos muestran que las células satélite ELA tienen un alto potencial proliferativo *in vitro*, aunque presentan una morfología alterada, una deficiente diferenciación conduce a la formación de miotubos delgados, caracterizados en algunos casos por aspectos degenerativos, como núcleos picnóticos y vacuolización derivado del daño mitocondrial y/o del estrés asociado con el retículo endoplásmico cuando se comparan con los controles sanos. Mediante RT-qPCR y WB mostraron una menor cantidad de Myf-4 y MyH1 que los controles. Los autores en este estudio sugieren que la capacidad de las SC ELA para continuar el programa miogénico parece estar alterada: las SC parecen perder su capacidad de regeneración y restauración de miofibras madu-

ras. La causa de esta disfunción se desconoce, por lo que será útil realizar experimentos que determinen si los defectos de las células satélites en la regeneración muscular pueden ser considerados como una parte del proceso celular no autónomo.

Además, será interesante estudiar e identificar factores de crecimiento o citoquinas que afecten al crecimiento y la capacidad de diferenciación de los mioblastos de pacientes con ELA. Todos estos estudios, junto con los modelos animales y el aumento del número de pacientes estudiados aclararán estos resultados.

REF: Scaramozza A, et al. "Skeletal muscle satellite cells in amyotrophic lateral sclerosis". *Ultrastruct Pathol.* 2014 Oct;38(5):295-302.

LA BIBLIOTECA DE CÉLULAS MADRE DERIVADAS DE PACIENTES CON ELA SE HACE PÚBLICA PARA LA COMUNIDAD DE INVESTIGADORES

Más de 4.000 personas están diagnosticadas con ELA en España. Los hombres parecen estar ligeramente más afectados que las mujeres y una de cada 500 muertes en hombres se debe a la ELA, por lo que casi todo el mundo va a conocer a un vecino, amigo o miembro de la familia que finalmente sucumba a esta terrible enfermedad. Sin embargo, no se conoce ninguna cura para la ELA y sólo existe un medicamento aprobado por la FDA (Administración del Alimento y Medicamento Americana), el riluzol, que únicamente incrementa de tres a cinco meses la supervivencia de los pacientes, según los estudios clínicos y estadísticos. Desde la década de 1990, los investigadores han estudiado la enfermedad y sus posibles tratamientos en ratones. El modelo de ratón se parece mucho a lo que ocurre en las personas y ha sido una herramienta valiosa para desentrañar los mecanismos de la enfermedad, pero después de 25 años, hasta el momento los resultados positivos en estos modelos no se han traducido en terapias eficaces en seres humanos. Una serie de fármacos han sido eficaces en ratones y han pasado la fase II de ensayos clínicos, que establecen las dosis seguras de un medicamento para el ser humano, pero todos los ensayos fracasaron en fase III, fase que confirma la eficacia del medicamento en personas. Tampoco existe una manera ética o sencillamente

lla para obtener tejido cerebral de pacientes con ELA vivos, por lo que tiene que haber un cambio radical en la forma en que la que uno se aproxima al estudio de la ELA. Los métodos desarrollados recientemente para obtener células madre de pacientes con ELA están proporcionando un nuevo y prometedor camino para entender las vías moleculares en la ELA, así como para el diseño de fármacos eficaces en la modulación de dichas vías. Usando una técnica de ingeniería genética se han conseguido que células de la piel de adultos se transformen en células "pluripotentes", también conocidas como células madre pluripotentes inducidas (iPSC), y que pueden adoptar las características de muchos y diferentes tipos celulares. Estas iPSC pueden diferenciarse en astrogliá, que desempeñan un papel crítico en los mecanismos celulares que median la progresión de la enfermedad de la ELA.

El grupo de investigación del Dr. Jeffrey Rothstein, de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore, han creado el mayor repositorio público de células madre pluripotentes inducidas de pacientes con ELA familiar (ELAf), que se describió en detalle en la revista PLoS ONE el 11 de marzo. La biblioteca incluye líneas celulares derivadas de 22 pacientes con ELAf (portadores de mutaciones en los genes más comunes relacionados con la ELA, incluidos SOD1, C9orf72 y FUS).

La ELAf representa alrededor del 10 por ciento de los casos de ELA por lo que también han generado iPSC con la forma no hereditaria de la enfermedad, la ELA esporádica (ELAE), que representa del 90 al 95 por ciento de los casos de ELA. Además, a partir de un paciente, los investigadores recopilaron una variante genética que se encuentra en las dos formas de la enfermedad, hereditaria y esporádica, agregando la variante a la biblioteca. Estos valiosos recursos para la investigación y el descubrimiento de fármacos están disponibles a través del Instituto Coriell, tanto para los investigadores dentro de los círculos académicos, como para las entidades privadas.

Muchos científicos de todo el mundo han utilizado ya la biblioteca, y Rothstein espera que crecerá, con investigadores que hagan depósitos de líneas celulares de sus propios pacientes. Con el tiempo, las células madre pluripotentes inducidas pueden ser utilizadas para modelar enfermedades distintas de la ELA y probar potenciales tratamientos de fármacos. De esta forma, ahora se dispondrá de un modelo real de lo que ocurre con los pacientes.

REF: Ying Li, et al. "A Comprehensive Library of Familial Human Amyotrophic Lateral Sclerosis Induced Pluripotent Stem Cells". *PLOS ONE*, 2015; 10 (3): e0118266.

"Resource: Library of ALS Patients-Derived Stem Cells Now Open to Researchers". *The ALS Forum*. 30 de Abril de 2015.

http://www.researchals.org/page/4832/14530/?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+126&utm_campaign=Newsletter+Vol+126&utm_medium=email

"New tool for understanding ALS: Patients' brain cells". *ScienceDaily*. 14 de Abril de 2015.

<http://www.sciencedaily.com/releases/2015/04/150414093548.htm>

ASOCIACIÓN ENTRE LA DIABETES TIPO 2 Y UN MENOR RIESGO A PADECER ELA

Según un estudio reciente publicado en la revista JAMA Neurology por Marianthi-Anna Kioumourtzoglou y su grupo, la diabetes tipo 2 está asociada con un menor riesgo de ELA. El estudio reveló que el riesgo se asocia directamente con la edad, el momento del diagnóstico de la diabetes y la edad en el momento del diagnóstico de la ELA.

La asociación observada entre diabetes y ELA proporciona información adicional a la comprensión sobre la enfermedad. Por supuesto, los resultados deben reproducirse pero Kioumourtzoglou de la Facultad de Salud Pública T.H. Chan de Harvard y sus colaboradores creen que el trabajo podría ser el comienzo de un debate que centre más la atención en el papel del metabolismo energético en la patogénesis de la ELA.

El estudio de casos y controles incluido se basó en una población total de 3.650 adultos residentes daneses que recibieron un diagnóstico de ELA entre 1982 y 2009. Los datos se recuperaron del Registro Nacional Danés de Pacientes y los investigadores examinaron la relación entre el ingreso hospitalario para el diagnóstico de la ELA y la diabetes. El equipo de investigación también examinó la información de edad y sexo en 365.000 controles pareados sanos.

De este modo, se identificaron un total de 9.294 pacientes con diabetes en los 3 años anteriores a la fecha índice, 55 recibieron un diagnóstico de ELA. Los resultados mostraron que la edad promedio de un diagnóstico de diabetes fue 59,7 años, mientras que el

promedio entre el diagnóstico de la diabetes y la ELA entre los pacientes que sufrían ambas enfermedades fue de 9,8 años. Los datos también revelaron que la diabetes, pero no la obesidad, se asoció con un menor riesgo de desarrollo de ELA, el odds ratio de desarrollar ELA fue de 0,61 para la diabetes y 0,81 para la obesidad. La asociación protectora era más fuerte con una edad mayor en el diagnóstico de la ELA. Los resultados proporcionan apoyo adicional a la idea de que el metabolismo energético juega un papel importante en la patogénesis de la ELA. Los mecanismos subyacentes específicos para la asociación observada entre la diabetes y la ELA actualmente se desconocen, por lo tanto, las implicaciones clínicas inmediatas no están claras.

Según Kioumourtzoglou se debería examinar más a fondo esta asociación en otros estudios toxicológicos y epidemiológicos. Los próximos pasos podrían incluir la identificación de todo lo relativo a la diabetes con una asociación protectora. Por ejemplo, los hallazgos sugieren que es probable que la diabetes tipo 2 sea un factor protector, mientras que la de tipo 1, podría ser incluso un factor de riesgo. Una vez que se entienda el mecanismo subyacente, entonces se espera que se pueda conducir a la prevención y, tal vez, incluso en algún momento en el futuro, al tratamiento (si se encuentra que la diabetes impacta también en la supervivencia).

REF: *Kioumourtzoglou MA, et al. "Diabetes Mellitus, Obesity, and Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Population-Based Study". JAMA Neurol. 2015 Jun 1.*

DECEPCIÓN TRAS EL ESTUDIO DE LA ESTIMULACIÓN DEL DIAFRAGMA EN LA ELA

Los resultados del ensayo clínico del Reino Unido sobre la estimulación del diafragma en ELA, conocido como DiPALS fueron publicados el 31 de Julio en la revista online Lancet Neurology. DiPALS ha sido el primer ensayo clínico aleatorizado sobre estimulación del diafragma en la EMN dirigido a averiguar si el marcapasos diafragmático es beneficioso cuando se añade al tratamiento estándar actual de ventilación mecánica no invasiva (VMNI), en comparación con el tratamiento de VMNI en solitario.

Algunas personas que viven con ELA experimentarán problemas respiratorios. Esto se

debe a que la ELA puede debilitar los músculos implicados en la respiración lo que provoca dificultad respiratoria, trastornos del sueño y dolores de cabeza. En 2010 el Instituto Nacional para la Salud y la Excelencia Clínica (NICE) recomendó el uso de la ventilación no invasiva (VNI) en la ELA después de que se considerara que había pruebas suficientes de que la VNI extendía la supervivencia y aumentaba la calidad de vida en la EMN. Sin embargo, la VNI puede no ser adecuada para todo el mundo (por ejemplo, existen personas que no toleran la máscara utilizada) y después de cierto tiempo se vuelve ineficaz. Por tanto, era necesaria la investigación de técnicas complementarias y alternativas para ayudar a la respiración.

El marcapasos diafragmático funciona de una manera similar a un marcapasos cardíaco. Sin embargo, como su nombre indica, el estimulador diafragmático envía un impulso eléctrico que provoca que el diafragma (el músculo principal implicado en la respiración) se contraiga más que el músculo del corazón. Durante una operación con anestesia general se conectan pequeños cables eléctricos al músculo del diafragma. Estos cables también están conectados a un dispositivo externo que puede enviar un impulso eléctrico regular al músculo, provocando que se contraiga. Esta técnica, al estimular el músculo del diafragma, estaría dirigida a mejorar la función respiratoria complementando la VNI o como una alternativa a la VNI en ELA.

Los ensayos clínicos son el estándar de oro para probar nuevos fármacos y tratamientos potenciales. Asegura que un tratamiento es seguro y beneficioso antes de ser ofrecido a los pacientes. En los ensayos, los tratamientos potenciales se suelen comparar con un grupo "control", a veces conocido como placebo. Este grupo de control es imprescindible para que los investigadores averigüen si un tratamiento realmente es beneficioso o no. En DiPALS, el grupo control recibió el actual tratamiento recomendado de VNI.

El estudio DiPALS se llevó a cabo porque las dificultades respiratorias son un problema importante en la ELA, especialmente durante las últimas etapas de la enfermedad. Las guías actuales recomiendan VNI si aparecen dificultades para respirar, sin embargo se sabe que los beneficios de la VNI son limitados y que la VNI no es apta para todos los pacientes.

Los investigadores eran conscientes del trabajo realizado en Estados Unidos sobre el

marcapasos diafragmático en la ELA y querían saber si sería beneficioso para sus pacientes. Por esta razón, decidieron diseñar un ensayo clínico controlado aleatorizado con el marcapasos diafragmático en la ELA. Los organismos de financiación ingleses necesitan evidencias de beneficio antes de que un tratamiento pueda estar disponible en el Reino Unido. También, debido a que es un tratamiento que requiere una intervención quirúrgica importante, era necesario asegurarse, más allá de toda duda razonable, que la estimulación del diafragma merecía la pena para los pacientes, añadiendo beneficios suficientes como puede ser vivir más tiempo y una mejora en la calidad de vida.

Solicitaron financiación del Instituto Nacional de Investigación en Salud (NIHR) y al colaborar con distintos centros de atención y de investigación de ELA en el Reino Unido fueron capaces de llevar a cabo un ensayo clínico bien diseñado para determinar si esta intervención era beneficiosa para las personas que viven con ELA.

Un total de 74 personas de todo el Reino Unido participaron en el estudio DiPALS, a 37 se le asignó únicamente VNI, y a 37 se le asignó VNI más un marcapasos diafragmático. Los investigadores analizaron la calidad de vida y las tasas de supervivencia de los pacientes que se sometieron a la prueba.

Los resultados de los ensayos desafortunadamente mostraron que la estimulación del diafragma no es beneficioso cuando se usa conjuntamente con la VNI, y fue de hecho perjudicial, los pacientes que usaron el marcapasos diafragmático vivieron, en promedio, 11 meses menos que los pacientes con solo VNI. Aunque los resultados son decepcionantes, era un importante estudio para llevar a cabo, ya que la evidencia muestra que para la mayoría de las personas no existe ningún beneficio al tener el marcapasos diafragmático y que la cirugía mayor que se necesita es algo que a las personas que viven con ELA no se les debería someter.

El tiempo y el esfuerzo de los individuos que participaron en el ensayo DiPALS han contribuido enormemente a entender los efectos de la estimulación del diafragma en pacientes con ELA y a asegurar que se ponga de ahora en adelante la atención y recursos en el desarrollo de otros tratamientos que puedan ayudar.

¿Por qué son diferentes los resultados a los de Estados Unidos? DiPALS fue el primer ensayo clínico controlado aleatorio con el mar-

capasos diafragmático en el que se miran los beneficios en comparación con el tratamiento recomendado actual de VNI. Los estudios anteriores no habían utilizado este enfoque. También puede haber algo diferente entre los pacientes seleccionados y los pacientes de estudios previos, aunque la población de pacientes en DiPALS fuese representativa de la población de ELA en el Reino Unido. Además, no se puede descartar que en una proporción de pacientes puedan existir beneficios en la estimulación del diafragma o que la estimulación del diafragma pueda iniciarse en un momento diferente, por ejemplo, mucho antes de que comiencen los problemas respiratorios, pudiendo entonces observar un beneficio. Existen estudios en marcha en otras partes del mundo que pueden responder a estas preguntas, sin embargo, los resultados de DiPALS sugieren que para la mayoría de los pacientes el marcapasos diafragmático no debe ser utilizado en el momento en el que comienzan a tener problemas respiratorios. Los ensayos clínicos se ponen en marcha para proteger a los pacientes de tratamientos potencialmente dañinos, así como de los no eficaces. A medida de que aumentan los esfuerzos para encontrar un tratamiento efectivo para la ELA, es cada vez más importante que los ensayos permitan a los investigadores reunir pruebas de alta calidad para garantizar que un tratamiento realmente es beneficioso. El estudio DiPALS recuerda por qué se realizan ensayos clínicos, y lo importante que es reunir pruebas robustas y fiables antes de buscar un tratamiento potencial en la clínica. La ELA es una enfermedad terrible y los individuos afectados, sus seres queridos y los profesionales de la salud involucrados en su atención, comprensiblemente están siempre dispuestos a considerar nuevos tratamientos. Es importante que los nuevos tratamientos sean evaluados en ensayos rigurosos para demostrar su beneficio y es importante garantizar que no sean perjudiciales. El resultado de DiPALS demuestra que el aumento del enfoque de "no hay nada que perder" es inadecuado y que no se deben relajar las normas para iniciar tratamientos sin que existan pruebas claras de su efecto beneficioso.

REF: *DiPALS Writing Committee y DiPALS Study Group Collaborators. "Safety and efficacy of diaphragm pacing in patients with respiratory insufficiency due to amyotrophic lateral sclerosis (DiPALS): a multicentre, open-label, randomised controlled trial". Lancet Neurol. 2015 Jul 30.*

¡CUIDADO CON EL PAN! ¿SENSIBILIDAD AL GLUTEN EN PERSONAS CON ELA?

¿Podría el tratamiento para la enfermedad intratable, es decir, la enfermedad de la neurona motora, ser tan simple como, "evitar el pan"? Vivian Drory y sus colaboradores del Centro Médico Sourasky en Tel Aviv, Israel, sugieren que la sensibilidad al gluten se podría ocultar en un subgrupo raro de casos de ELA. El 13 de abril publicaron en *Archives of Neurology*, que algunas personas diagnosticadas con ELA generan anticuerpos contra una enzima que procesa el gluten, una proteína que se encuentra en el trigo, la cebada y el centeno. Estos autoanticuerpos pueden ser un signo de sensibilidad neurológico al gluten, que no es la misma que la enfermedad celíaca clásica en la que una respuesta inmune inapropiada al gluten inflama el intestino. Aunque los datos observacionales presentados son preliminares, han encontrado que una pequeña proporción de las personas diagnosticadas con ELA podría en cambio tener un problema con el gluten. Sería importante destacar que estos casos sí serían tratables. Otros científicos, sin embargo, se muestran escépticos acerca del vínculo entre el gluten y la enfermedad de motoneurona. Un estudio reciente publicado muestra que no existe evidencias de aumento de incidencia de ELA en casi 30.000 personas con enfermedad celíaca. El interés de Drory en el gluten se despertó por un paciente con ELA que fue diagnosticado con la enfermedad celíaca. Adentrándose en la literatura científica para encontrar cualquier vínculo entre las dos enfermedades, halló dos informes de algo que parecía tener una clínica ELA, pero que resultó ser la enfermedad celíaca. En los dos casos, el cambio a una dieta libre de gluten detuvo la progresión y mejoró los síntomas aunque no pudo revertir completamente los problemas de movimiento, puesto que ya se había producido el daño axonal. Estos casos no son más que una prueba de que la sensibilidad al gluten puede dañar el sistema nervioso central, si bien no apoya ningún tipo de relación entre la intolerancia al gluten y la ELA.

Drory se preguntó si otros pacientes con ELA en su centro médico podrían tener sensibilidad al gluten. Las posibilidades eran escasas, pero si sólo uno de cada 100 casos resultaba que tenían la enfermedad celíaca, tal vez se podría salvar. Los autores probaron mues-

tras de suero de 150 personas con ELA y 115 voluntarios sanos para la enfermedad celíaca, utilizando ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para anticuerpos contra péptidos del gluten y contra la enzima transglutaminasa 2 (TG2). Cuando las transglutaminasas procesan el gluten lo hacen más inmunogénico, los pacientes celíacos generan anticuerpos contra el gluten y la TG2. Sólo una persona, un control, tenía anticuerpos contra TG2. Sospecharon que esta persona tenía una enfermedad celíaca no diagnosticada. Otra persona en el grupo de la ELA tenía anticuerpos contra el gluten, pero no contra TG2. Debido a que no toda la sensibilidad al gluten se manifiesta como enfermedad celíaca, los investigadores ampliaron su estudio para incluir una nueva entidad llamada sensibilidad al gluten no celíaca (NCGS). La NCGS se ha convertido en una especie de cajón de sastre para describir a aquellas personas que tienen problemas con el gluten, pero que no tienen los anticuerpos asociados a la celiaquía o a la alergia al trigo. Los investigadores han relacionado la NCGS con una variedad de manifestaciones neurológicas, incluyendo ataxia, autismo, y esquizofrenia. Sin embargo, el concepto de NCGS sigue siendo especulativo y nadie ha estudiado cómo el gluten puede conducir a una patología neurológica. Drory está de acuerdo con que no se ha confirmado que estos síndromes neurológicos sean el resultado directo de la sensibilidad al gluten, en lugar de la ocurrencia probabilística de la enfermedad neurológica y la sensibilidad al gluten en una persona.

Para buscar evidencias de la NCGS, la autora principal del artículo Beatrice Nefussy centra su investigación en una versión diferente de la transglutaminasa, la TG6. Sospechaba que podría estar relacionado con la NCGS porque se expresa principalmente en el cerebro, en lugar del intestino. Anteriormente, otros investigadores encontraron anticuerpos anti-TG6 en lo que ha sido descrito como ataxia por gluten. El título de anticuerpos contra TG6 progresaba en paralelo a la cantidad de gluten que el paciente comía, indicando que el gluten inducía la reacción autoinmune. Las mutaciones en TG6 también se han relacionado con la ataxia espinocerebelosa en China. Sin embargo, la relación entre los síntomas neurológicos y la sensibilidad al gluten ha sido cuestionada, los anticuerpos contra TG6 no ayudan a identificar a las personas con síntomas neurológicos.

En el estudio de Drory, los ELISAs indicaron que 23 personas con ELA tenían anticuerpos contra TG6, incluida una persona que no tenía anticuerpos anti-gluten. Clínicamente, no hubo diferencias entre estas personas y los controles del estudio. Se podría estar diagnosticando como ELA una enfermedad semejante a la ELA que esté mediada por autoinmunidad. Es decir, la respuesta autoinmune a TG6 podría dañar las neuronas motoras de la misma manera que la respuesta anti-TG2 ataca el revestimiento delgado.

Probablemente, las neuronas dañadas por la ELA eliminan transglutaminasa que esté estimulando una respuesta inmune. Otros investigadores han sugerido a la transglutaminasa que pasa de la médula espinal hacia el torrente sanguíneo como un marcador potencial de daño tisular en la ELA.

El grupo de Drory encontró que cinco participantes del grupo control también tenían anticuerpos contra TG6. Los autores no estaban seguros de cómo interpretar este hallazgo, pero conjeturaron que podrían desarrollar síntomas neurológicos en el futuro.

Los científicos no han evaluado los anticuerpos contra la transglutaminasa en otras enfermedades neurodegenerativas, a pesar de que han estudiado estas enzimas. La transglutaminasa se encuentra aumentada en el hipocampo de personas que murieron de Alzheimer y algunos investigadores han sugerido que la enzima podría reticular proteínas como A β , tau, la huntingtina, y α -sinucleína, contribuyendo a su agregación.

Nefussy y sus colaboradores pensaron que si alguien con anticuerpos contra TG6 tenía NCGS, evitar el gluten debería ayudarle. Ofrecieron a los pacientes asistencia para llevar una dieta sin gluten. Desafortunadamente, en el momento en que tuvieron los resultados de los ELISA, la mayoría de esas personas habían muerto o habían progresado a una etapa avanzada de la enfermedad. Nefussy no cree que la dieta hubiese ayudado porque el daño neuronal ya estaba hecho. En un nuevo estudio prospectivo, se pretende inscribir a las personas en las primeras etapas de la ELA que dan positivo para anticuerpos TG6, y empezar con ellos una dieta libre de gluten. El tratamiento incluirá una supervisión estricta por un nutricionista, ya que las personas con ELA suelen tener poco apetito y dificultad para masticar y tragar, así que conseguir suficientes calorías ya es un desafío.

En los últimos años, el tema de la sensibilidad

al gluten y la enfermedad celíaca ha generado un cierto debate en distintos foros. Pacientes con ELA que fueron sensibles al gluten o enfermedad celíaca han comentado que llevar una dieta libre de gluten no afectaba a sus síntomas de ELA. Algunos han señalado que su estado general de salud había mejorado, incluso otros han experimentado una pérdida de peso no deseado. Sin embargo, curiosamente, Stephen Hawking, quien a los 73 es un ejemplo de la supervivencia a largo plazo con una forma inusual de la ELA, sigue una dieta libre de gluten.

REF: Gadoth A, et al. "Transglutaminase 6 Antibodies in the Serum of Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis". *JAMA Neurol.* 2015 Apr 13.

PRUEBAS DE FUNCIONALIDAD COGNITIVA MEDIANTE SEGUIMIENTO OCULAR EN PACIENTES CON ELA: UN ESTUDIO CONTROLADO

La ELA es una enfermedad neurodegenerativa multisistémica caracterizada por un progresivo declive de la movilidad y función respiratoria, que puede conducir a la pérdida de las capacidades de comunicación verbal y escrita en algunos pacientes. Además, alrededor de un 30% de pacientes con ELA muestran deterioro cognitivo, por lo que la relevancia de estos síntomas en la práctica clínica respecto a las intervenciones médicas, la supervivencia y la carga de los cuidadores ponen de manifiesto la importancia de análisis neuropsicológicos seguros. El progresivo deterioro motor es el principal obstáculo en la valoración neuropsicológica de los pacientes en estados avanzados de la enfermedad. Aunque algunos aspectos del control oculomotor podrían estar dañados en pacientes con ELA, el seguimiento ocular se muestra todavía en una fase prometedora para estudiar la función ejecutiva en la ELA.

El objetivo del estudio publicado en *Journal Neurology* por Keller y colaboradores del departamento de Neurología de la Universidad de Ulm en Alemania en junio, fue el de establecer un método por el cual las funciones cognitivas de los pacientes con ELA severamente deteriorados físicamente pudieran ser determinadas con fiabilidad en una prueba basada únicamente en los movimientos oculares.

Cuarenta y ocho pacientes con ELA y treinta

y dos controles sanos emparejados por edad, sexo y nivel educativo realizaron una versión libre motora de la mano y el habla del test de matrices progresivas coloreadas de Raven (CPM) y el test D2 que fue adaptado especialmente para el control del seguimiento ocular. El CPM es un test no verbal de la fluidez de la inteligencia, del razonamiento visoespacial y la función ejecutiva cuya versión papel-lápiz se muestra que es efectiva entre los pacientes con ELA que muestran déficits cognitivos. El test D2 es un test no verbal para evaluar la disfunción ejecutiva en el ámbito de la atención constante y selectiva y de la velocidad de procesamiento visual.

Los datos se compararon con la versión clásica en papel-lápiz motor dependiente. Se estudiaron la asociación de parámetros mediante seguimiento ocular y en la versión en papel-lápiz de las pruebas y las diferencias entre y dentro de los grupos. Los sujetos presentaron resultados similares en el seguimiento ocular y en las correspondientes versiones de papel-lápiz del CMF y del test D2: se observó una correlación entre la precisión en la ejecución del CMF para los pacientes de ELA ($p < 0,001$) y controles ($p < 0,001$) y en el test D2 para los controles ($p = 0,048$), mientras que esta correlación no alcanzó significación estadística para los pacientes con ELA ($p = 0,096$). Los pacientes con ELA realizaron peor el CPM que los controles en el seguimiento ocular ($p = 0,053$) y en la versión en papel-lápiz ($p = 0,042$). Lo más importante, de las versiones de seguimiento ocular del CPM ($p < 0,001$) y el test D2 ($p = 0,024$) es que distingue con fiabilidad entre los pacientes con más y menos deterioro cognitivo. Como la detección de síntomas neuropsicológicos desempeñan un papel importante en las decisiones clínicas y en el alivio de la carga para el cuidador, las pruebas neuropsicológicas basadas en el seguimiento ocular constituyen un enfoque prometedor en la evaluación del déficit cognitivo en pacientes con importantes discapacidades físicas que no pueden hablar o escribir, como los pacientes con ELA severa, empleando un método fiable, rápido, fácil de aplicar y muy sencillo para el usuario.

REF: Keller J, et al. "Eye-tracking controlled cognitive function tests in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a controlled proof-of-principle study". *J Neurol.* 2015 Jun 5.

ACUPUNTURA EN LA ELA

ALS Untangled evalúa terapias alternativas en representación de los pacientes con ELA. En la revista "Amyotrophic lateral sclerosis & frontotemporal degeneration" de junio de 2015 presentan una revisión del uso de la acupuntura para la ELA.

La acupuntura es una técnica de la antigua China en la que se insertan agujas delgadas a través de la piel en localizaciones específicas para producir efectos terapéuticos. Se ha publicado que la acupuntura mejora el dolor, la espasticidad, los calambres y la ansiedad en pacientes con ELA y enlentece, detiene, y a veces incluso revierte la debilidad muscular. En Shanghai, China, más del 50% de los pacientes con ELA emplean acupuntura para tratar su enfermedad. Esta revisión no aborda beneficios sintomáticos, sino que únicamente se centra en los efectos en la progresión de la enfermedad.

Se han propuesto al menos dos mecanismos por los que la acupuntura puede ejercer sus efectos terapéuticos. La medicina tradicional china sostiene que las funciones corporales se regulan mediante una energía denominada 'qi'. La interrupción o el bloqueo en el flujo de esa energía se piensa que es responsable de la enfermedad y la inserción de las agujas en localizaciones específicas restaura el flujo de energía y mejora la enfermedad. Las ideas más modernas comienzan con la inserción de las agujas que activan los péptidos opioides endógenos encefalina, betaendorfina, y dinorfina. Esto a su vez tiene efectos sobre las áreas cerebrales implicadas en la percepción del dolor. Los opioides también pueden modular el sistema inmune, al hacerlo, podrían teóricamente alterar la progresión de enfermedades donde el sistema inmune desempeña un papel patogénico, incluida la ELA.

Sin embargo, existen algunos problemas con estas modernas teorías, no explican determinadas cuestiones; en algunos estudios, se emplean agujas telescópicas que no quiebran la piel y funciona como una acupuntura 'real', por lo que existe la posibilidad de que la acupuntura funcione mediante un efecto placebo. Los datos no son consistentes entre los investigadores, y muchos de los estudios "positivos" sobre los mecanismos se originan en China pudiendo existir algún sesgo. Dos artículos del mismo grupo han examinado los efectos de la acupuntura en modelos de

ratones con ELA mutantes en SOD1. Ambos artículos muestran que la acupuntura se asocia con la reducción de marcadores inflamatorios al compararlos con ratones que no reciben acupuntura. Otro artículo muestra que la acupuntura está asociada con el aumento de la supervivencia de la neurona motora.

Existe un pequeño ensayo piloto de acupuntura en pacientes con ELA, en el que se trataron 18 pacientes dos veces por día durante 5 días, con medidas antes y después de la saturación de oxígeno, la concentración final de dióxido de carbono, la tasa respiratoria, la frecuencia de pulso y la ALSFRS-r. Sólo se observaron mejoras significativas en la saturación de oxígeno y la frecuencia del pulso después de la acupuntura.

Además, dos grupos han publicado una serie de casos que describen los efectos de la acupuntura en pacientes con ELA. En uno de los estudios, además de la acupuntura, el tratamiento incluye hierbas chinas y ejercicio y en otro se trataron a los pacientes cinco días por semana durante cuatro semanas con un régimen de detoxificación suplementario. Las críticas del primer trabajo incluyen la falta de detalle en relación al diagnóstico de ELA, la ausencia de un grupo control y la falta de mediciones de resultados válidas en ELA. En el segundo estudio, las medidas también fueron subjetivas.

Dentro de la comunidad de PatientsLikeMe, 72 miembros publicaron pruebas de acupuntura para la ELA, 19 de las cuales se evaluaron completamente. En términos de efectividad, 3 fueron 'moderados', 7 'leve', 6 'ninguno' y 3 'se desconoce'.

Series más amplias sugieren que la acupuntura es por lo general segura pero no está completamente exenta de riesgo. Se observaron efectos adversos leves como dolor o sangrado en 7-11% de los pacientes, efectos adversos serios como taponamiento cardiaco ocasional, pneumotorax, y transmisión de infecciones. Basándose en esta información la ALSUntangled asignó un grado de riesgo "D" TOE. El coste de la acupuntura varía dependiendo del tipo y frecuencia, pacientes de ELA de PatientsLikeMe comunicaron un rango de 25\$ a más de 200\$ mensuales.

Como conclusión, esta revisión afirma que la acupuntura es razonablemente segura y que tiene mecanismos de acción potenciales. Los estudios pre-clínicos y los informes de casos sugieren que podría ser útil en el tratamiento de la ELA. Sin embargo, antes de que pueda

aprobarse incluso como candidato de ensayos fase II, los estudios muestran la necesidad de que se reproduzcan de manera independiente empleando diagnósticos claramente mejor verificados y diseños más rigurosos, incluyendo controles apropiados y mediciones de resultados validadas de ELA.

REF: ALSUntangled Group. "ALSUntangled No. 28: Acupuncture". *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2015 Jun;16(3-4):286-9.

TRATAMIENTO PSICODINÁMICO BASADO EN HIPNOSIS EN LA ELA: UN ESTUDIO LONGITUDINAL EN PACIENTES Y CUIDADORES

La ELA deteriora la autonomía personal del paciente y su propia libertad en muchas dimensiones de su existencia. Entre la amplia gama de reacciones que un ser humano puede tener al diagnóstico de la ELA y sus devastadoras consecuencias, se encuentran la apatía, negación, estoicismo, resentimiento, odio, esperanza o pensamientos suicidas, ansiedad y depresión. Aunque la prevalencia real todavía se desconoce, la mayoría de los estudios publican valores cercanos al 30% para la ansiedad y 40% para la depresión con algunos estudios que informan de un 70% para ambas. La calidad de vida (QoL) es uno de los más importantes y relevantes temas clínicos en la ELA que podría estar razonablemente asociada directamente con el declive físico. Sin embargo varios estudios sugieren, en cambio, que la calidad de vida en los pacientes con ELA es independiente del deterioro físico, un fenómeno conocido como "paradoja de la discapacidad". Aunque esta relación no está todavía clara, la disfunción motora y las consecuencias físicas es probable que desempeñen un papel crucial en la determinación de QoL.

Es fácil imaginar cómo puede tener un impacto psicológico estar afectado por la ELA no sólo en los pacientes sino también en los familiares, y principalmente en los principales cuidadores, los cuales están en riesgo de desarrollar reacciones depresivas y de ansiedad. Por ello, se necesitan evidencias de la eficacia del tratamiento psicológico en la ELA, en particular sobre los efectos a largo plazo.

El objetivo del trabajo publicado por Kleinbub y colaboradores de la Universidad de Padua

en Italia fue el de extender sus estudios previos de tratamientos basados en la hipnosis a un grupo de ELA más extenso, investigando los efectos longitudinales a largo plazo del tratamiento en pacientes y cuidadores teniendo en cuenta el impacto en la progresión de la enfermedad así como la influencia en aspectos individuales. Los resultados de la investigación se publicaron en la revista *Frontiers in Psychology* en Junio de 2015.

Quince pacientes participaron en un tratamiento de hipnosis y en un protocolo de entrenamiento de auto-hipnosis después de una profunda evaluación psicológica y neurológica. Se consideraron en el estudio cuidadores principales de los pacientes y 15 pacientes controles emparejados uno a uno. Las medidas de ansiedad, depresión y calidad de vida (QoL) se recogieron en la línea de referencia, post-tratamiento, y después de 3 y 6 meses del tratamiento. Para evaluar el impacto del tratamiento y los mecanismos de defensa sobre la ansiedad, depresión, calidad de vida y el deterioro funcional (Escala de Calificación Funcional de la ELA Revisada, ALSFRS-r) de los pacientes, así como sobre la ansiedad y depresión de cuidadores, se utilizaron modelos lineales mixtos bayesianos.

Se reclutaron 15 pacientes con ELA esporádica (11 con inicio espinal y 4 bulbar) con edades comprendidas entre los 43-73 años, con un tiempo de evolución de la enfermedad entre 2-37 meses; 4 pacientes recibían tratamiento para la depresión. El grupo control era de similares características.

El tratamiento consistió en una sesión semanal de hipnosis durante 4 semanas. Se evaluaron los niveles de depresión (escala HADS-D, punto de corte revisado para pacientes con enfermedad de la neurona motora ≥ 5 ; punto de corte original ≥ 8), ansiedad (HADS-A; punto de corte revisado para pacientes con enfermedad de la neurona motora ≥ 7 ; punto de corte original ≥ 8), calidad de vida (ALSSQOL-r; rango de 0= la peor situación posible a 10=la mejor situación deseable) y daño funcional (ALSFRS-r; puntuado de 0= discapacidad total a 48= normal) antes del tratamiento, tras la última sesión y a los 3 y 6 meses.

Antes de ser tratados los pacientes presentaban un daño funcional no muy avanzado [media (DS) de puntuación en la escala ALSFRS-r 33.1 (9.8)], ausencia de depresión [puntuación escala HADS-D 3.27 (1.9)], estado de ansiedad en el límite de la normalidad

[puntuación en la escala HADS-A 7.6 (3.9)]; y una calidad de vida moderada [puntuación en ALSSQOL-r 6.8 (1.1)].

En los pacientes, tras el tratamiento se describió una disminución de los niveles ansiedad que se mantuvo a lo largo de los 6 meses.

Respecto a los niveles de depresión (inicialmente inexistentes), aunque estos parecieron disminuir tras la intervención, volvieron de nuevo a los niveles iniciales a lo largo de los meses. El efecto del tratamiento sobre la calidad de vida fue escaso. Respecto al efecto de la terapia sobre la progresión de la enfermedad, los autores indicaron un deterioro físico más lento en el grupo que recibió la terapia de hipnosis comparado con el grupo control. En cuanto al efecto indirecto sobre los cuidadores, la puntuación media en la escala HADS-A pasó de 9.1 (3.7) inicial a 5.0 (3.6) a los 6 meses. La puntuación media en la escala HADS-D mostró en todo momento ausencia de ansiedad (4.6 (3.8) basal y 2.5 (3.0) a los 6 meses. No se indicó la significación estadística de los cambios en la puntuación.

El breve tratamiento psicodinámico basado en hipnosis mostró una eficacia tanto a nivel psicológico y físico en los pacientes con ELA, y se asoció indirectamente con beneficios duraderos en los cuidadores. Se están analizando las implicaciones de factores psicodinámicos peculiares y técnicas mente-cuerpo.

Desde la perspectiva de la práctica clínica, los pacientes y cuidadores deberían ser conscientes de que los tratamientos junto con el entrenamiento en la auto-hipnosis son relativamente fáciles y baratos de conseguir y que tiene multitudes de "efectos secundarios" beneficiosos. Las estrategias futuras deben orientarse hacia una convergencia de estos resultados y otras intervenciones psicológicas, con el fin de construir las mejores prácticas clínicas para controlar las reacciones psíquicas en los pacientes con ELA y sus familias.

REF: Kleinbub JR, et al. "Hypnosis-based psychodynamic treatment in ALS: a longitudinal study on patients and their caregivers". *Front Psychol.* 2015 Jun 16;6:822.

EL SISTEMA INMUNE JUEGA UN PAPEL CLAVE EN EL DESARROLLO DE LA ELA

En un laboratorio del Centro de Investigación CHUM y la Universidad de Montreal en Canadá se ha descubierto una relación anteriormente desconocida entre la ELA y el sistema inmune. El estudio fue publicado recientemente en la revista Nature Communications por Vérièpe J y colaboradores.

Los investigadores descubrieron una relación entre la muerte de las neuronas motoras en la ELA y el sistema inmune. Se han publicado varios genes relacionados con la ELA, en los que si se produce una mutación, el individuo desarrolla la enfermedad. Empleando el nemátodo *Caenorhabditis elegans* como modelo, los investigadores introdujeron un gen humano mutado que promueve el desarrollo de ELA. El equipo encontró que los animales se paralizaron en 10 días. Su objetivo fue entonces detener o revertir este fenotipo y evitar la muerte del gusano.

Tuvieron la idea de modificar otro gen, *tir-1*, conocido por su papel en el sistema inmune. Sorprendentemente, el equipo encontró que los gusanos con un déficit inmunológico resultante de la mutación del gen *tir-1* estaban mejor de salud y sufrieron mucho menos la parálisis, lo que sugiere que la disfunción *tir-1* suprime la degeneración de las neuronas motoras en este modelo de ELA.

Los hallazgos condujeron al equipo a sugerir que el sistema inmune desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la ELA. Un desequilibrio del sistema inmune puede contribuir a la destrucción de las neuronas motoras y desencadenar la enfermedad, el gusano siente que tiene una infección viral o bacteriana y lanza una respuesta inmune. Pero la reacción es tóxica y destruye las neuronas motoras del animal.

Los investigadores sugieren que el sistema inmune reacciona a la presencia de proteínas mutantes a través de una respuesta de resistencia al patógeno que es en última instancia perjudicial para el cuerpo, conduciendo a una progresiva neurodegeneración. El equipo cree que estos hallazgos pueden aplicarse también a los seres humanos. SARM1 es el equivalente humano de *tir-1* y se ha demostrado clave para la integridad del sistema nervioso.

El equipo de investigación concluyó que la proteína TIR-1/SARM1 es un prometedor objetivo terapéutico para tratar o al menos

ralentizar la progresión de la ELA y que esta vía es la que probablemente desencadene todos los genes mutados relacionados con la ELA. Actualmente están probando fármacos capaces de bloquear esta vía y que han sido aprobados por la Administración de Alimentos y Fármacos Americana (FDA) para el tratamiento de otros trastornos como la artritis reumatoide.

Los autores, sin embargo, se muestran prudentes cuando se refieren al hallazgo de una estrategia eficaz para el tratamiento de la ELA. En estos estudios con gusanos, se sabe que el animal está enfermo, porque se ha provocado la enfermedad y esto permite una administración precoz del tratamiento en la vida del nemátodo. Pero la ELA es una enfermedad relacionada con el envejecimiento, que suele aparecer en los seres humanos alrededor de la edad de 55. No saben si un medicamento potencial resultará eficaz si se da sólo después de la aparición de los síntomas, pero han demostrado claramente que el bloqueo de esta proteína clave [TIR-1/SARM1] frena el progreso de la enfermedad en este gusano.

REF: Vérièpe J, et al. "Neurodegeneration in *C. elegans* models of ALS requires TIR-1/Sarm1 immune pathway activation in neurons". *Nat Commun*. 2015 Jun 10;6:7319.

NUEVO BIOMARCADOR POTENCIAL Y OBJETIVO TERAPÉUTICO PARA PACIENTES CON ELA

Durante la 67ª Reunión Anual de la Academia Americana de Neurología en abril de 2015 se presentaron nuevos datos que revelan una asociación entre la proteína relacionada con el receptor de LDL tipo 4 (LRP4) y la ELA. El estudio fue presentado por el grupo del Dr. John Tzartos del Instituto Pasteur Helénico, de Grecia, con el título de "LRP4 antibodies are frequent in serum and CSF from amyotrophic lateral sclerosis patients" y publicado en la revista *Annals of clinical & translational neurology* en febrero de 2015.

LRP4 es una proteína importante para la función neuromuscular. Está implicada en el desarrollo y el correcto funcionamiento de las neuronas motoras y las uniones neuromusculares en el cerebro y la médula espinal. Ya se habían observado anteriormente autoanticuerpos contra LRP4 en alrededor del 3% de

los pacientes con miastenia gravis, una enfermedad causada por una alteración en la unión neuromuscular y caracterizada por debilidad muscular fluctuante y fatiga.

En este trabajo, los investigadores evaluaron la posible presencia de anticuerpos LRP4 en pacientes con ELA, dado el importante papel de LRP4 en el funcionamiento de las neuronas motoras. El equipo desarrolló un ensayo basado en células sensibles para detectar anticuerpos LRP4. En total, se analizaron 191 pacientes con ELA de tres países diferentes, Grecia, Italia e Israel.

Los investigadores encontraron autoanticuerpos LRP4 en el suero de un 19,4% de los pacientes con ELA analizados, un porcentaje superior a lo publicado anteriormente en pacientes con miastenia gravis. Además, se encontraron una mayor proporción de pacientes con ELA griegos (12 de 51) e italianos (12 de 53) que eran positivos para anticuerpos LRP4 en comparación con la cohorte de israelí (13 de 87). Los anticuerpos LRP4 fueron capaces de persistir en el cuerpo durante más de 10 meses. Sin embargo, no existen diferencias en relación al patrón clínico encontrado entre los pacientes con ELA con o sin anticuerpos LRP4.

El equipo de investigación concluyó que aproximadamente uno de cada cinco pacientes con ELA en las cohortes analizadas tenían anticuerpos contra LRP4. El equipo cree que los autoanticuerpos LRP4 contribuyen a la patogenia y a las manifestaciones neurológicas asociadas con la ELA, tal vez mediante la participación en el proceso de denervación. Los autores proponen que los anticuerpos LRP4 podrían considerarse un biomarcador útil y una potencial diana terapéutica para la enfermedad.

La ELA es una enfermedad heterogénea en términos de fenotipo clínico y patogenicidad. Como consecuencia, la identificación de biomarcadores específicos podría permitir establecer subgrupos de pacientes con ELA, permitiendo una precoz y específica intervención, antes de que ocurra un daño permanente. Las terapias inmunosupresoras han fracasado en la ELA, sin embargo, si se concentran los esfuerzos en un subgrupo de pacientes, como estos y se empieza desde las primeras fases de la enfermedad, sería posible mostrar un efecto inmunosupresor en este subgrupo. Futuros estudios deberían confirmar si los anticuerpos LRP4 podrían ser considerados como un biomarcador fiable para la ELA. No

se sabe si está relacionado con la enfermedad o no, que los pacientes de ELA tengan valores de anticuerpos LRP4 diferentes que los controles sanos no proporciona información sobre si los anticuerpos son útiles como biomarcadores. Es demasiado pronto para saber lo que esto significa, claramente hay una alteración del sistema inmune, incluyendo una variedad de autoanticuerpos, al menos en algunos pacientes con ELA, pero la pregunta es si esto es la causa de, o una respuesta a la enfermedad.

REF: Tzartos JS, et al. "LRP4 antibodies in serum and CSF from amyotrophic lateral sclerosis patients". *Ann Clin Transl Neurol.* 2014 Feb;1(2):80-7.

PERFILES PLASMÁTICOS REVELAN TRES PROTEÍNAS, QUE PODRÍAN SER BIOMARCADORES POTENCIALES EN LA ELA

De dónde surge y cómo progresa la ELA son misterios que continúan preocupando a la ciencia médica. Investigadores en colaboración del Instituto Real de Tecnología (KTH) en Estocolmo, Suecia y la Universidad Médica de Varsovia, en Polonia, han identificado tres proteínas que son potenciales biomarcadores de la ELA y que podrían arrojar alguna luz sobre los mecanismos que subyacen en esta enfermedad mortal. En uno de los estudios más extensos, en cuanto al número de pacientes incluidos hasta la fecha de perfiles plasmáticos en ELA, se analizaron muestras con anticuerpos dirigidos a 278 proteínas del Atlas de proteínas humanas de 367 pacientes polacos con ELA y 101 controles. Tres proteínas se expresaron en niveles más altos en muestras de pacientes con ELA: el polipéptido medio de neurofilamentos (NEFM), la familia 25 portadora de solutos (SLC25A20) y el regulador 18 de la proteína G de señalización (RGS18). En la búsqueda de tratamientos y diagnósticos tempranos de la ELA, los científicos se centran en biomarcadores o características biológicas que reflejan un cambio fisiológico en el cuerpo durante o después de una enfermedad. Un ejemplo típico de biomarcador es la troponina, que se secreta a la sangre cuando el músculo cardíaco se daña después de un ataque al corazón. Las tres proteínas que han encontrado parecen representar los diferentes aspectos de la patogenia de esta enfermedad. NEFM, es un

componente estructural de las neuronas en el sistema nervioso central y periférico. Si se encuentra en el plasma sanguíneo, podría indicar la muerte de las fibras nerviosas como resultado de la ELA. SLC25A20, es una proteína mitocondrial (estructura celular donde se genera la energía y que ya se ha demostrado que se relaciona con la ELA). La tercera proteína, RGS18, es una proteína de señalización celular y su aumento puede reflejar su pérdida en los músculos deteriorados de estos pacientes. En conjunto, estas proteínas podrían proporcionar una fotografía instantánea integrada de la fisiopatología de la enfermedad, con marcadores de la estructura neuronal y, respectivamente, de la función/integridad mitocondrial. Los resultados de este estudio fueron publicados el 01 de agosto en *Annals of Clinical and Translational Neurology* del año pasado, los investigadores han estado ampliando el conjunto de datos incluyendo muestras procedentes de Suecia, Polonia y Alemania, así como de líquido cefalorraquídeo de pacientes con ELA. El estudio incluirá el examen de "especificidad de la enfermedad" de los marcadores, es decir, si los hallazgos en la ELA también son relevantes para otras enfermedades degenerativas neurológicas, como la esclerosis múltiple. Actualmente no hay marcadores fiables para la ELA. Si se validan en estudios futuros su papel dentro de la ELA, estos biomarcadores candidatos podrían ayudar al diagnóstico temprano de la enfermedad, así como al desarrollo de novedosos medicamentos para los pacientes.

REF: Callahan, D. *Potential for ALS Treatment Found in Three Proteins* Drug Discovery & Development. 3 de Marzo de 2015. <http://www.ddmag.com/news/2015/03/potential-als-treatment-found-three-proteins>. "Plasma Profiling Reveals Three Potential Biomarker Proteins in ALS". *The ALS Forum*. 16 de Abril de 2015. http://www.researchals.org/page/4746/14486/?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+125&utm_campaign=Newsletter+Vol+125&utm_medium=email.

LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL CAPAZ DE DIFERENCIAR ENTRE LA ELA Y ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES SEMEJANTES QUE NO SON ELA

El largo intervalo entre los primeros síntomas y un diagnóstico confirmado de ELA, que puede extenderse hasta 18 meses, impide a muchos pacientes participar en ensayos clínicos en las fases iniciales de la enfermedad cuando los tratamientos podrían tener un efecto terapéutico mayor. Los médicos utilizan actualmente criterios que se limitan a los hallazgos en la neurona motora superior, que dependen de un examen clínico, por lo que existe un retraso significativo en el diagnóstico. Una nueva herramienta neurofisiológica llamada estimulación magnética transcranial (EMT) puede distinguir la ELA de trastornos neuromusculares semejantes no ELA en etapas tempranas de la enfermedad, de acuerdo con el trabajo presentado en 2015 en la reunión anual de la Academia Americana de Neurología. Nimeshan Geevasinga y sus colaboradores de la Universidad de Sydney, Australia, que trata de un estudio con pacientes que el método EMT distingue la ELA de otras enfermedades semejantes.

En total, 333 pacientes (61,9% hombres, con una edad media de 57,6 años) fueron reclutados entre el 1 de enero 2010 y el 03 de enero 2014 e incluyeron en el estudio pacientes con ELA definitiva, probable o posible según la definición de los criterios de Awaji (n = 209), o trastornos neuromusculares semejantes a la ELA (n = 69). Geevasinga estableció el principal objetivo como la utilidad diagnóstica de la EMT en la distinción de la ELA de enfermedades neuromusculares semejantes no ELA. Según los datos, la técnica EMT de seguimiento umbral diferencia de forma fiable entre enfermedades neuromusculares ELA y no-ELA, con un área bajo la curva de 0,80 (95% CI, 0,75 a 0,85), una sensibilidad del 73,08% (IC del 95%, 66,51-78,98) y una especificidad de 82,35% (IC 95%, 71,20-90,53).

El tiempo medio de evaluación de la EMT y la progresión hacia un diagnóstico ELA definitivo/probable - definido según Awaji - fue de 15,8 meses. El número necesario de pruebas con el fin de diagnosticar un caso de ELA fue de 1,8 (IC 95%, 1.4 a 2.7). Alrededor del 70% de los pacientes con ELA clasificados como Awaji posible ("no cumple con los criterios") presentaban anomalías en la EMT.

Potencialmente, si se hubiese empleado esta tecnología en una etapa anterior, se podría haber actualizado alrededor del 34% de los pacientes con un diagnóstico posible, conforme al cual no serían elegibles para los ensayos, a un criterio probable o definitivo.

De cara al futuro, dado el interés en los ensayos con ELA que tratan de encontrar una mejor terapia para los pacientes, existe la posibilidad de utilizar esta técnica no sólo con fines diagnósticos, sino también como biomarcador para evaluar la eficacia de fármacos. De hecho, la EMT se está incorporando como una herramienta de evaluación en el ensayo clínico de la retigabina en la ELA. Y también como herramienta para dilucidar dónde está el problema subyacente en el comienzo de la ELA, si en el sistema nervioso central o en el periférico. El hecho de que se pueda ver estos cambios tan temprano es prometedor y justifica nuevas investigaciones para ver si se puede usar a escala global.

REF: Geevasinga N, et al. Abstract I8-5C. Presentado en: American Academy of Neurology Annual Meeting 2015; April 18-25, 2015: Washington, D.C. Grossmann S. "Novel Technique Distinguishes Between ALS, Mimic Disorders". *NeurologyAdvisor*. 22 de Abril de 2015. <http://www.neurologyadvisor.com/aan-2015-coverage/tms-technique-differentiates-als-mimic-disorders/article/409786/>

EL SISTEMA MITOS PREDICE LA SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO EN LA ELA

La Escala de Calificación Funcional Revisada de la ELA (ALSFRS-r) se ha empleado para medir el curso de la enfermedad y para valorar la eficacia de tratamientos candidatos en ensayos clínicos. Sin embargo, su idoneidad para obtener resultados fiables se ha discutido debido a las siguientes limitaciones: no linealidad, multidimensionalidad y un efecto suelo por lo que no es demasiado adecuada para reflejar cambios en los estadios clínicos tardíos. Por esta razón la elección de un sistema para valorar los resultados en ensayos clínicos placebo-control aleatorizados en la supervivencia a largo plazo se ha convertido en un tema fundamental de investigación. Recientemente, el sistema de estratificación Mirano-Torino de la ELA se ha propuesto como una herramienta novedosa para valorar la progresión de la ELA y de este modo superar

las limitaciones de la ALSFRS-r. El estudio publicado en abril en la revista *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* por Tramacere del Instituto Neurológico "Carlo Besta", Milan, Italia y sus colaboradores, tuvo como objetivo confirmar la robustez del sistema ALS-MITOS y validar su capacidad para representar la supervivencia a los 6 meses y el seguimiento hasta 18 meses de 200 pacientes con ELA.

El análisis se realizó sobre los datos de un ensayo clínico placebo-control aleatorizado (RCT) con eritropoyetina recombinante humana que fracasó en demostrar diferencias entre los grupos en sus objetivos principales y secundarios. El sistema ALS-MITOS se compone de cuatro áreas claves incluidas en la escala ALSFRS-r (paseo/cuidado personal, deglución, comunicación y respiración), cada una con un umbral que refleja la pérdida de función en las subpuntuaciones específicas de la ALSFRS-r. La sensibilidad, especificidad y el área debajo de las curvas características de las fases del sistema ALS-MITOS y ALSFRS-R declinan a los 6 meses y se calcularon y compararon con los resultados principales (supervivencia, traqueotomía, o ventilación no invasiva) a los 12 y 18 meses. Las probabilidades predichas por el sistema ALS-MITOS a los 6 meses se calcularon para cualquier evento a los 12 y 18 meses mediante modelos de regresión logística.

La progresión de la enfermedad desde los 6 meses definidos por el sistema ALS-MITOS predicen la muerte, traqueotomía, o la ventilación no invasiva superior a 23h a los 12 meses con una sensibilidad del 82% (95% CI 71% al 93%, n=37/45) y una especificidad del 63% (95% CI 55% al 71%, n=92/146), y a los 18 meses con una sensibilidad del 71% (95% CI 61% al 82%, n=50/70) y una especificidad del 68% (95% CI 60% al 77%, n=76/111). El análisis de la progresión de ALS-MITOS y ALSFRS-R a los 6 meses de seguimiento reveló que el mejor corte para predecir la supervivencia a los 12 y 18 meses fue de 1 para la ALS-MITOS (por ejemplo, pérdida de al menos una función) y un rango de disminución de 6-9 puntos para la ALSFRS-R. Lo que se espera de un ensayo clínico de ELA es demostrar su utilidad para los pacientes en un corto plazo de tiempo, y que el tratamiento candidato puede ralentizar la progresión de la enfermedad. Mientras sea discutible considerar eficaz que un fármaco sólo prolongue la supervivencia en unos pocos meses, una

diferencia en la disminución de la ALSFRS-r de dos puntos a los 6 meses puede ser considerada clínicamente significativa. Sin embargo, la ALSFRS-r no es inequívocamente unidireccional, generalmente muestra fluctuaciones en el tiempo que pueden deberse a que los tratamientos mejoran algunos síntomas. En cambio, una diferencia en términos de la pérdida o mantenimiento de la función puede reflejar mejor el efecto real del tratamiento de la ELA.

Los hallazgos del estudio demuestran que el sistema ALS-MITOS puede predecir de forma fiable el curso de la ELA en un período de hasta 18 meses y que se puede considerar una medida novedosa y válida según los criterios actuales de los RCTs. Además, se ha demostrado la eficacia y la facilidad de uso en un gran número de centros de ELA.

REF: *Tramacere I, et al. "The MITOS system predicts long-term survival in amyotrophic lateral sclerosis". J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015 Apr 17.*

PROGRESOS ACTUALES EN TERAPIA GÉNICA PARA LA ELA

La ELA en la mayoría de los casos es esporádica, sólo el 10% de los pacientes presenta un componente hereditario identificable. La aplicación en humanos de la terapia génica, técnica que permiten liberar ADN o ARN en el interior de las células diana con el fin de corregir la ausencia o defecto del gen causante de la enfermedad, se encuentra todavía en fase muy inicial.

En este artículo se resumen los últimos avances en terapia génica para la ELA, examinando las principales técnicas que se emplean poniendo atención en su potencial para futuras aplicaciones.

Genética y fisiopatología de la ELA

Desde que en 1993 se descubriera la implicación en la enfermedad del gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1), la etiología genética de la ELA ha aumentado enormemente incluyendo actualmente a más de 20 genes.

Uno de los principales problemas para lograr un tratamiento para la ELA es su compleja fisiopatología. El origen de aproximadamente el 60% de los casos de ELA familiar y el 11% de los considerados clásicamente como ELA esporádica, pueden ser explicados por mutacio-

nes en varios genes. El principal es C9orf72 seguido de SOD1, TARDBP y FUS, junto con otros minoritarios cuyas mutaciones también han sido asociadas a la ELA (VCP, OPTN, UBQLN2, SQSTM1 y PFN1). Entre los diferentes mecanismos que se pueden encontrar afectados se incluyen el estrés mitocondrial y el del retículo endoplásmico, la excitotoxicidad, los defectos en el transporte axonal, el estrés oxidativo, y la agregación y el plegamiento erróneo de proteínas.

C9orf72

En 2011 se identificó la repetición masiva de una secuencia (GGGGCC) en un gen pobremente caracterizado, el C9orf72, como la causa genética más frecuente de la ELA familiar (40%), esporádica (7%) y la demencia lobar frontotemporal (DLFT) (25%). En individuos sanos esta secuencia se repite hasta unas 25 veces frente a las 800 - 4.400 veces en dichos enfermos. Aunque no se sabe bien cuál es su función, el gen C9orf72 codifica una proteína homóloga a las DENN, por lo cual es probable que regule el tráfico de membranas en colaboración con Rab/GTPasa.

En el cerebro de pacientes portadores del gen C9orf72 con expansión anormal del hexanucleótido GGGGCC, se localizan focos de acumulación de ARN aberrante debido a una ineficaz transcripción ocasionada por dichas repeticiones. Las acumulaciones de estos transcritos anormales contienen tetrámeros estables de guanina que pueden secuestrar proteínas unidas a ARN desencadenando un stress nucleolar y otros efectos en cascada. Además se producen agregados de 5 diferentes dipéptidos repetidos (DPR), neurotóxicos, que son generados a partir del ARN de la secuencia de hexanucleótidos mediante un tipo de traducción no-convencional, el cual funciona en ambos sentidos (5'-3' y 3'-5').

Superóxido dismutasa 1 (SOD1)

Es una proteína citosólica que protege a la célula de la acción de los radicales libres superóxido (O₂⁻) al catalizar su dismutación en O₂ y H₂O₂.

Se han identificado más de 150 mutaciones en el gen SOD1 asociadas a la ELA, las cuales explicarían la patogénesis de la enfermedad en el 20% de los casos de ELA familiar y el 1-2% de ELA esporádica.

La ELA asociada a SOD1 presenta una amplia heterogeneidad fenotípica. Es necesario que el gen SOD1 mutado se exprese en otros tipos celulares (no sólo en neuronas motoras) para poder generar el efecto tóxico que des-

encadene la enfermedad. La actual creencia es que múltiples mecanismos fisiopatológicos contribuyen al daño de la neurona motora en presencia de mutantes de SOD1, entre los que se encontrarían la pérdida de actividad dismutasa que contribuiría a aumentar el estrés oxidativo. Además, se han observado acúmulos de agregados de proteínas SOD1 mal plegadas, cuyo papel en la contribución de la enfermedad puede ser discutible. Mientras algunos estudios muestran que gran cantidad de agregados aparecen sólo cuando el ratón transgénico empieza a mostrar signos de disfunción motora, otros indican que dichos acúmulos proteicos pueden ser detectados en la médula espinal en un estado previo al inicio de la enfermedad.

Otro de los mecanismos que podría estar implicado es el de la excitotoxicidad. Se ha observado la presencia de elevados niveles de glutamato en el LCR de pacientes con ELA. El glutamato es el principal neurotransmisor del SNC, su acumulación en el espacio intersináptico resulta en una sobre excitación de los receptores, que permiten el paso de manera incontrolada de Ca²⁺ al interior de la neurona desencadenando una serie de procesos destructivos. Las mutaciones en el gen SOD1 parecen conllevar una inhibición de la función de recaptación de glutamato del transportador de aminoácidos excitadores -2. Además, basándonos en el modelo murino SOD1-G93A, se observó también un aumento de la liberación de glutamato al espacio intersináptico. Por otro lado cabe resaltar la acumulación aberrante de neurofilamentos (lugar de anclaje de numerosas moléculas de señalización e interacción con orgánulos como mitocondrias aparato de Golgi y lisosomas) en el soma y axones de las neuronas motoras de la ELA tanto familiar como esporádica.

TAR DNA-binding protein (TDP-43) y Fused in sarcoma (FUS)

La proteína nuclear TDP-43 de 43 kDa codificada por el gen TARDBP pertenece a la familia de las ribonucleoproteínas implicadas en los procesos de transcripción, splicing y transporte del ARN. Los defectos en su expresión se pueden relacionar con la reducción en los niveles de ADAR2, una enzima implicada en los procesos de editado de pre-ARNm involucrados en los procesos de entrada de Ca²⁺. La forma nativa de la proteína TDP-43 ubiquitinada y deslocalizada es el principal componente de los agregados proteicos citoplasmáticos presentes en el 95% de los casos de

ELA (tanto familiar como esporádicos) y en el 45% de DFT.

Las más de 35 mutaciones identificadas en el gen TARDBP asociadas a la ELA, explicarían la patogénesis de la enfermedad en el 5% de los casos de ELA familiar y el 1-2% de las ELAs esporádicas.

Mutaciones en el gen codificante para FUS son las responsables del 4% de la de ELA familiar y el 1% de las ELAs esporádicas. Es una proteína predominantemente nuclear, sin embargo se encuentra formando parte de los agregados citoplasmáticos en algunos de estos pacientes.

Terapia basada en ARN

Tiene como finalidad regular la expresión de los genes causantes de la enfermedad empleando moléculas de ARN que reconocen y promueven la degradación de los ARNm producto de la transcripción de esos genes. Actualmente la terapia basada en ARN se centra en el ARN de interferencia (ARNi) y en oligonucleótidos antisentido (ASO).

La interferencia por ARN es un mecanismo endógeno de regulación génica post-transcripcional. El proceso de transcripción puede generar ARN de doble cadena (dcARN), los cuales son escindidos en fragmentos de aproximadamente 21 nucleótidos [small interfering RNA (ARNsi), miARN] mediante una enzima denominada Dicer. Los ARNsi son reclutados para formar parte de un complejo proteico denominado RISC (RNA-induced silencing complex), que utiliza una de las hebras del ARNsi (la hebra pasajera es degradada) como guía para identificar el ARN mensajero complementario. El complejo RISC cataliza el corte del ARNm complementario en dos mitades, que son degradadas por la maquinaria celular, bloqueando así la expresión del gen.

Basándose en este mecanismo endógeno, la terapia consistiría en introducir pequeños ARNs (short hairpin ARN (ARNsh), ARNsi, miARN) exógenos diseñados para reconocer los ARNm del gen diana, con la finalidad de reducir significativamente su expresión.

Los ASOs son oligonucleótidos de cadena sencilla diseñados para interactuar de manera complementaria a transcritos de ARN. La unión de los oligonucleótidos a pre-ARNms regula la expresión génica a través de diferentes mecanismos que incluyen la degradación de cadenas ADN-ARN mediante enzimas endógenas como ARNseH, inhibición de un

correcto splicing o traducción de los ARNm. La FDA ha aprobado su uso para tratar la retinitis por citomegalovirus o la hipercolesterolemia familiar homocigótica.

ARNi aplicado en ELA familiar asociada a SOD1. La reducción de los niveles tanto de la proteína SOD1 nativa como de la mutada mediante la liberación de ARNsh contra SOD1 por medio de un vector lentiviral (LV), ha demostrado retrasar la progresión de la enfermedad y aumentar la supervivencia de ratones SOD1-G93A. Estos resultados se han confirmado mediante el empleo de vectores recombinantes de virus adenoasociados serotipo 9 (AAV9). Sin embargo, este tipo de terapia debe desarrollarse mucho más antes de ser probada en humanos.

ASOs aplicados en ELA familiar asociada a SOD1. En julio de 2012 se finalizó un estudio clínico fase I (NCT01041222) con un oligonucleótido (ISIS333611) liberado por vía intratecal. En este estudio se demostró que el empleo de dicha vía de administración era segura, aunque el tratamiento no proporcionó una acusada disminución en los niveles de proteína SOD1 en LCR. Esta falta de eficacia se pudo deber, según los autores, al empleo de dosis bajas del oligonucleótido.

ASOs asociados a otras dianas en ELA.

Aunque el empleo de ASOs pudiera ser una opción terapéutica en el futuro, se requiere un conocimiento más profundo de la patogénesis de la ELA que permita dirigir los ASOs contra la principal causa de la enfermedad. Los estudios *in vitro* han demostrado que el empleo de ASO contra diferentes regiones de ARNm C9orf72 es capaz de disminuir la toxicidad así como la reducción de los focos de ARN-GGGGCC en neuronas procedentes de la diferenciación de iPSC. Otras potenciales dianas de la terapia con ASO son la enzima acetilcolinesterasa y el miRNA-155, el cual se encuentra sobreexpresado en el tejido de la médula espinal de pacientes y ratones SOD1G93A. El empleo de ASOs dirigidos contra estas dianas en modelos murinos ha mostrado mejoras en la supervivencia.

Liberación de factores neurotróficos

Los factores neurotróficos son un grupo de proteínas responsables de la supervivencia y del crecimiento neuronal.

Liberación mediada por vectores virales

Varios estudios emplearon los vectores AVV o LV liberados por vía intramuscular en modelos murinos, para la producción del Glial cell-de-

rived neurotrophic factor (GDNF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) o Vascular endothelial growth factor (VEGF), observándose una mejora en la función motora y la supervivencia. En otros estudios posteriores se liberaban los vectores recombinantes directamente en el SNC con el fin de mejorar su eficacia y evitar efectos adversos en tejidos periféricos. Vectores AVV conteniendo IGF-1, VEGF o Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) fueron inyectados intracerebroventricular o intraespinal observándose una mayor supervivencia y una reversión parcial del fenotipo.

Liberación de factores neurotróficos usando células madre mesenquimales (MSCs)

Las células madre mesenquimales (MSCs) son células troncales adultas multipotentes que pueden aislarse de médula ósea o tejido adiposo principalmente.

En 2007 se publicó un estudio en el que se trasplantaron a ratones SOD1G93A por vía intramuscular, MSCs procedentes de médula ósea a las que se les había transfectado el gen del GDNF mediante un LV. Los resultados mostraron una disminución de degeneración en las neuronas motoras y denervación de las uniones neuromusculares.

Liberación de factores neurotróficos mediante plásmidos

En 2010 se concluyó un estudio fase II (NCT00748501) basado en la transfección vía muscular de un plásmido que contenía el factor de transcripción ZFP-TF, el cual actúa aumentando los niveles de VEGF. El perfil de seguridad mostrado fue aceptable y se observó retraso en el deterioro de la musculatura del tobillo y lengua en el 40% de los pacientes tratados. A pesar de estos resultados, debido a prioridades de la compañía responsable del estudio, no se ha continuado con dicha línea de investigación.

Actualmente hay un estudio fase I/II

(NCT02039401) en periodo de reclutamiento para probar la seguridad de un plásmido (VM2029) que expresa varias isoformas de HGF.

Opinión de experto

La introducción de moléculas terapéuticas en las neuronas motoras y células de glía sigue siendo un reto. La elevada variedad de genes implicados en la ELA dificulta considerablemente el enfoque terapéutico. La falta de eficacia de las terapias neuroprotectoras en ELA pueden atribuirse a una combinación de factores entre los que destacan el escaso conocimiento de la patogénesis molecular de la

ELA, falta de eficacia en los métodos empleados para liberar las moléculas terapéuticas, la barrera hematoencefálica, ineficaces dianas terapéuticas, ineficaces modelos animales y la rápida progresión de la enfermedad.

A lo largo de los últimos años se han empleado varias proteínas, incluyendo factores neurotróficos, como posibles opciones terapéuticas en estudios clínicos en pacientes con ELA, pero todos ellos han resultado fallidos en parte debido a los métodos empleados para liberar dichas moléculas terapéuticas. Diferentes estudios en modelos animales empleando vectores virales han mostrado una mejora de la enfermedad, lo cual induce al optimismo en cuanto a su empleo en el futuro para la liberación de agentes terapéuticos en los pacientes de ELA. Se han redefinido los vectores virales para poder proporcionar los más altos niveles de seguridad y eficacia. Sin embargo trasladar este tipo de estrategias a la práctica clínica sigue siendo un reto debido sobre todo a la falta de especificidad por el SNC y adicionalmente por el excesivo coste que supondría generar este tipo de vectores a gran escala. Los resultados en cuanto a seguridad procedentes de los estudios en los que se emplearon ASOs aumentan la confianza en la seguridad de esta técnica pudiendo ser beneficioso su uso en otros estudios clínicos. Finalmente, será interesante ver si los resultados que se desprendan del estudio todavía en fase de reclutamiento, en el que se emplea un plásmido como vector para liberar HGF, son mejores que los anteriores basados también en la liberación de factores neurotróficos.

SE DESCUBREN OCHO REGULADORES MAESTROS DE LA NEURODEGENERACIÓN EN MODELOS ANIMALES DE ELA

Un grupo de investigación en la Universidad de Columbia en Nueva York, EE.UU., publicaron recientemente en la revista *Cell Reports* el descubrimiento de ocho reguladores diferentes claves implicados en la neurodegeneración en la ELA en modelos de ratón. El estudio dirigido por el Dr. Serge Przedborski fue publicado en julio de 2015.

La ELA es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por la progresiva degeneración y atrofia de las neuronas motoras del cerebro y la médula espinal. Se cree que la

degeneración de las neuronas en la ELA está causada por las secreciones tóxicas de los astrocitos, células que proporcionan el soporte físico a las neuronas y son las responsables de la provisión de nutrientes al tejido nervioso y de los mecanismos de reparación.

No se conoce la identidad de las toxinas que producen los astrocitos y que inducen la degeneración de las neuronas y la muerte celular. En el estudio, los investigadores cultivaron neuronas motoras de la médula de embriones de ratones y las expusieron a medios condicionados de astrocitos mutantes para SOD1. Las mutaciones en el gen SOD1 (superóxido dismutasa-1), gen que codifica una proteína clave para la detoxificación de las neuronas motoras, representa aproximadamente el 12% de las formas de ELA hereditaria. Después de tres días de cultivo, encontraron que las neuronas no pudieron recuperarse y finalmente murieron. Al comparar el transcriptoma (niveles de ARN) de estas neuronas con las neuronas normales sanas, el equipo encontró que 620 genes distintos sufrieron una alteración en su expresión.

El equipo desarrolló una estrategia bioinformática y ensambló un modelo de regulación de todo el genoma del cerebro de ratón ("interactoma"), para identificar los factores que pueden actuar como "reguladores maestros" de los procesos biológicos [Master Regulator Inference algorithm (MARINA)], utilizando los datos de los perfiles de ARNm obtenido con las neuronas cultivadas. En total, se identificaron 23 factores que potencialmente podrían conducir a la neurodegeneración y explicar los perfiles de ARNm observados en las neuronas. De estos, se confirmaron 8 factores que impulsan la muerte neuronal motora debido a que su silenciamiento mejoraba la supervivencia de las neuronas motoras que fueron expuestas al medio condicionado de los astrocitos.

Sorprendentemente, uno de los 8 potenciales reguladores maestros identificados fue NF-κB, que ha sido considerado un factor pro-supervivencia y pro-inflamatorio que se pensaba que protegía a las células. El equipo encontró que cuando las neuronas fueron tratadas con fármacos que bloquean la actividad de NF-κB, las células se protegieron de las toxinas de los astrocitos. Otros experimentos farmacológicos, bioquímicos y moleculares confirmaron que el factor neuronal NF-κB está implicado en la degeneración de las neuronas motoras inducida por astrocitos en modelos de ratón de ELA.

Basándose en sus hallazgos, el equipo concluyó que NF- κ B parece tener un papel diferente en el contexto de la ELA y de la neurona motora. Resultado sorprendente ya que la mayoría de los investigadores que conoce las funciones de NF- κ B, diría que desempeña una función de supervivencia. Aquí, en todo caso, se podría argumentar que podría conducir a la muerte de las neuronas motoras.

El Dr. Bin Zhan, investigador de la Escuela de Medicina de Icahn del Hospital Monte Sinaí en Nueva York, que no participó en el estudio, afirmó que el método del estudio es bastante robusto y fiable. Sin embargo, algunas preguntas permanecen aún sin contestar ya que no se conocen los activadores corriente arriba de estos factores de transcripción, ni los mediadores corriente abajo que conducen a necrosis. Estudios futuros deberán confirmar también si estos posibles reguladores maestros tienen funciones similares en los seres humanos.

El equipo actualmente está probando su método MARINA en otras enfermedades neurológicas como la enfermedad de Alzheimer con el fin de identificar los reguladores maestros que pudieran controlar la progresión de la enfermedad.

REF: Silva, P. "Researchers Discover Eight Master Regulators of Neurodegeneration in ALS Animal Models". *ALS News Today*. 7 de Julio de 2015. <http://alsnewstoday.com/2015/07/07/researchers-discover-eight-master-regulators-neurodegeneration-als-animal-models/>

LA TRANSTIRRETINA SE MUESTRA COMO UN PROMETEDOR BIOMARCADOR PARA LA ELA Y LA DFT RELACIONADA CON C9ORF72

Un nuevo estudio dirigido por Marka van Blitterswijk de la Clínica Mayo en Jacksonville, Florida encontró niveles más elevados de la proteína transtirretina (TTR) en el cerebelo de pacientes con demencia frontotemporal (DFT) o ELA portadores de la expansión de la repetición del hexanucleótido en el gen C9orf72, al compararlos con pacientes de DFT o ELA no portadores de la mutación o pacientes con otras enfermedades neurológicas.

En el Congreso Anual de la Academia de Neurología en Washington, D.C., los investigadores publicaron datos elevados de la

expresión de ARN en autopsias de pacientes con ELA C9orf72, así como el aumento de los niveles de proteína en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el plasma recogido de pacientes vivos. El nivel del ARN mensajero de transtirretina se incrementó 5,7 veces en pacientes con ELA y DFT relacionada con C9orf72 (p -valor=5.0E-04) en comparación con los pacientes con ELA y DFT no-C9orf72 y se incrementó 7,4 veces en comparación con los controles sanos (p valor=4.3E-04).

El aumento de TTR fue validado utilizando PCR cuantitativa en tiempo real, que confirmó el aumento en los portadores de la expansión de C9orf72 ($n=44$) en comparación con pacientes ELA no-C9orf72 de enfermedad ($n=30$; p -valor=4.5E-06), con los controles sin enfermedades neurológicas ($n=20$; p -valor=2.1E-05) y también en comparación con pacientes de otras enfermedades, tales como la enfermedad de Alzheimer ($n=20$; p -valor=7.9e-06) y la parálisis supranuclear progresiva ($n=20$; valor de $p=5.2e-04$).

El papel de TTR en la ELA no está claro, pero su presencia en el LCR puede conferir propiedades neuroprotectoras, ya que el cerebelo no degenera en la ELA. La capacidad de detectar TTR en biofluidos sugiere que TTR puede ser un biomarcador prometedor debido a la especificidad de la enfermedad y la relativa facilidad de medición en este subgrupo de pacientes.

Las mutaciones en C9orf72 son la causa genética más común de ELA y DFT. La expansión de la repetición del hexanucleótido en una región no codificante del gen causa la acumulación de agregados de ARN y la producción de proteínas singulares formadas por la repetición del dipéptido. Estas características patogénicas se encuentran en tejidos de todo el sistema nervioso central, incluyendo el cerebelo. Se desconoce si una o ambas contribuyen a la patogénesis de enfermedad. La transtirretina es la principal portadora de la hormona tiroxina en el líquido cefalorraquídeo, además, transporta retinol y otras moléculas. Existen algunas evidencias que sugieren que puede desempeñar un papel neuroprotector. La regulación positiva específica de la proteína en el cerebelo plantea la posibilidad de que pueda estar implicada en una vía de protección, en el cerebelo no se ha visto la neurodegeneración observada en la corteza y la médula espinal en los enfermos y se pensaba que el cerebelo era una región no afectada del cerebro, pero se han visto agregados y proteínas de repetición de dipéptidos.

La regulación positiva de la transtirretina representa un mecanismo de compensación que sigue siendo especulativo, pero es sin duda una de las razones por las que se está interesado en el estudio de esta proteína.

En el mismo estudio, los investigadores encontraron una regulación positiva de una serie de genes homeobox, reguladores maestros del desarrollo y de la neuroregeneración, que también apoyan la idea de que se pueda estar viendo un efecto protector.

Se necesitan biomarcadores específicos para pacientes C9orf72 que ayuden a descubrir nuevas terapias y realizar el seguimiento a los pacientes durante los ensayos clínicos. Se han propuesto las proteínas de repetición del dipéptido pero la transtirretina añadiría un biomarcador que se detecta más fácilmente y se cuantifica en biofluidos. Existen estudios longitudinales en curso que serán cruciales para evaluar si TTR puede servir como un biomarcador de progresión o gravedad de la enfermedad, con utilidad en ensayos clínicos de ELA.

REF: "Transthyretin Shows Promise as Biomarker for C9ORF72 ALS and FTD". *The ALS Forum*. 7 de Mayo de 2015. http://www.researchals.org/page/4832/14596/?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+127&utm_campaign=Newsletter+Vol+127&utm_medium=email

Robinson, R. "Transthyretin Offers Gene-Specific Biomarker". *Neurology Today*. 7 de Mayo de 2015. http://journals.lww.com/neurotodayonline/Fulltext/2015/05070/NEWS_FROM_THE_AAN_ANNUAL_MEETING_.6.aspx

LAS ALTERACIONES EN LA UNIÓN NEURO-MUSCULAR SE DETECTAN EN FASE TEMPRANA EN LOS PACIENTES CON ELA

Un equipo de investigación del Hospital Pitié-Salpêtrière de París detectaron las principales alteraciones estructurales de las uniones neuromusculares (NMJs) en las primeras etapas de la ELA en pacientes. El estudio fue publicado en abril en la revista *Annals of Clinical and Translational Neurology*.

La ELA afecta a las neuronas motoras responsables de la contracción muscular voluntaria. La incidencia es: dos de cada 100.000 personas tienen ELA cada año; y sólo el cinco por ciento sobreviven después de 20 años tras ser diagnosticados. La causa de la enfermedad es des-

conocida, con sólo un 10% de casos familiares, entre los cuales el 20% se debe a una mutación en el gen de la superóxido dismutasa (SOD1). En la unión neuromuscular, los botones terminales de la neurona motora liberan al neurotransmisor acetil colina (ACh) que se une a los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR) en la membrana de la célula muscular. Esta interacción establece una sinapsis neuromuscular que conduce a la contracción muscular. Los modelos de ratón de ELA muestran una pérdida de estas sinapsis neuromusculares antes de que se detecten otros cambios patológicos en las neuronas motoras. En este estudio, los investigadores estudiaron las NMJs de nueve pacientes utilizando microscopía de alta resolución, como la microscopía confocal y electrónica. Analizaron las NMJs obtenidas por biopsia muscular de pacientes con ELA en fase inicial y pacientes que sobreviven a largo plazo y encontraron alteraciones estructurales de las sinapsis en las NMJs de todos los pacientes. Los investigadores observaron una inervación reducida y una distribución anormal de AChR que puede influir en la estabilización de la sinapsis neuromuscular.

La pérdida de la inervación de la NMJ en pacientes con ELA se correlaciona con el aumento de la expresión muscular de la proteína Nogo-A, un inhibidor del crecimiento neuronal que se ha encontrado sobreexpresado en el músculo esquelético de un modelo de ratón de ELA.

En general, el estudio muestra los principales defectos morfológicos presentes en las NMJs de los pacientes, incluso en aquellos que fueron diagnosticados sólo 10 meses antes. La sobreexpresión de Nogo-A en músculo puede contribuir a la patología de la ELA pero el mecanismo específico que causa la denervación de la NMJ todavía se tiene que explicar. Las alteraciones de la NMJ pueden conducir a alteraciones motoras funcionales y la prevención de este proceso neurodegenerativo podría ser terapéutico en la ELA. De acuerdo con este y otros estudios, Nogo-A es un fuerte candidato en el que centrarse y en este sentido existe un estudio de fase II que experimenta con un anticuerpo monoclonal humanizado contra Nogo-A en pacientes con ELA.

REF: Bruneteau G, et al. "Endplate denervation correlates with Nogo-A muscle expression in amyotrophic lateral sclerosis patients". *Ann Clin Transl Neurol*. 2015 Apr;2(4):362-72.

¿QUÉ NOS DICE EL TRANSCRIPTOMA DEL ELA ESPORÁDICA Y DE LOS CASOS DE ELA CON MUTACIONES EN C9ORF72?

En los últimos años, diferentes investigaciones sugieren que un procesamiento anómalo del ARN podría contribuir al desarrollo de la ELA. En particular sería lo que ocurre en los casos en los que la expansión de C9orf72 lleva a la acumulación de focos de ARN y proteínas con secuencias dipeptídicas repetidas, capaces de modificar su metabolismo.

En julio de este año, la revista *Nature Neuroscience* se publicó un excelente trabajo en el que se descubre que la corteza frontal y el cerebelo de los pacientes afectados por ELA con mutaciones en C9orf72, presentan mayor cantidad de ARNs involucrados en la respuesta al mal plegamiento proteico y al tráfico de proteínas. En esta investigación se evaluaron 8 casos con mutación en C9orf72 (ELAc9), 10 casos de ELA esporádica sin mutación conocida (ELAe) y 9 controles sanos. El resultado arrojó diferencias de expresión génica y defectos en el procesamiento y en los sitios de poliadenilación del ARN en el cerebelo y la corteza frontal, tanto en los casos de ELAc9 como en los de ELAe.

A través de estudios bioinformáticos, se identificaron 2 perfiles distintos:

- Defectos genéticos en ELAc9,: sobre-expresión de genes involucrados en la respuesta al plegamiento anómalo de proteínas y el transporte vesicular de las mismas
- Defectos genéticos en ELAe: genes vinculados en la defensa celular y la transmisión sinápticas

Estas diferencias pueden ser importantes a la hora de diseñar tratamientos y ensayos clínicos específicamente en una u otra forma de ELA.

Pero además es importante subrayar que, sorprendentemente, el cerebelo aparece muy afectado en la patología. En trabajos recientes se ha descubierto que se atrofia en la ELA y que expresa más C9orf72 que en la corteza. Esta investigación no hace otra cosa más que apoyar estos hallazgos.

En resumen: el fallo en el procesamiento normal del ARN es parte de la patología molecular en la ELAe y la ELAc9, sus transcriptomas son

distintos y el cerebelo podría estar más involucrado de lo esperado en esta enfermedad.

Diferencias entre ELAc9 y ELAe respecto a la expresión génica y los defectos en el metabolismo del ARN, en cerebelo y corteza frontal

REF: *Prudencio M et al., 2015*
Tan et al, 2014; Irwin et al, 2013

LOS GRUPOS "METILO" FRENAN LA PROGRESIÓN DE LA DFT

En algunas personas portadoras de la expansión de la repetición del hexanucleótido en el gen C9orf72, la metilación del promotor del gen apaga su transcripción. Esto ofrece un mínimo de protección contra la ELA y la demencia frontotemporal (DFT), según un artículo publicado el 20 de marzo online en *Neurology*. Aunque el silenciamiento no evita la enfermedad, parece frenar la atrofia cerebral y la pérdida de memoria en una pequeña cohorte estudiada en la Escuela de Medicina Perelman de la Universidad de Pennsylvania en Filadelfia. Sin embargo, los expertos coinciden en que es necesario seguir trabajando para lograr el consenso definitivo de que la metilación de C9orf72 protege el cerebro. Los neurocientíficos no saben lo que hace C9orf72, se esfuerzan por conciliar los distintos mecanismos propuestos para la enfermedad. Uno es que las repeticiones del hexanucleótido interfieren con la función normal de la proteína, provocando la neurodegeneración por haploinsuficiencia. La alternativa es que las repeticiones se sabe que producen productos anormales de ARN y péptidos, que promueven la enfermedad debido a una ganancia de función tóxica.

El autor principal, Edward Lee sospechaba que ambas teorías podían ser válidas, pero quería saber qué mecanismo podría dominar. Su grupo y el de Ekaterina Rogava de la Universidad de Toronto habían descubierto que los grupos metilo decoraban el promotor de C9orf72 en algunas personas con la expansión. Esto ofreció la oportunidad de responder a su pregunta, porque la metilación típicamente silencia genes. Si la haploinsuficiencia fuese el principal responsable, entonces la metilación debería empeorar la enfermedad. Si la ganancia de función fuese más importante, entonces la metilación debería ayudar a interrumpir la transcripción de ARNs que

codifican péptidos aberrantes e indeseables con la repetición.

En un estudio realizado a principios de este año, Lee y sus colaboradores publicaron que la metilación del promotor de C9orf72 no afectaba si los portadores desarrollaban ELA o DFT o cuándo lo hacía, pero se correlacionó con una progresión más lenta en las personas que habían tenido sólo DFT. Sin embargo, este resultado fue transversal y retrospectivo, basado en las gráficas y las autopsias de pacientes. Lee quería observar los efectos de los grupos metilo en un estudio longitudinal de las personas que viven. Con el primer autor Corey McMillan, que realizaba exploraciones con resonancia magnética y pruebas neuropsicológicas en los portadores de la expansión estudió un grupo mixto de 20 pacientes, la mayoría con la variante conductual de DFT, aunque algunos de ellos con afasia progresiva primaria, otro subtipo de DFT, ELA-DFT o ELA con deterioro cognitivo leve. Todos portaban la expansión de la repetición, aunque los investigadores no cuantificaron su longitud.

Lee evaluó el estado de metilación a través del ADN extraído de muestras de sangre, que tienden a tener el mismo patrón de metilación del ADN que el cerebro. El promotor de C9orf72 contiene 26 diadas CpG de nucleótidos que son sitios potenciales de metilación. Lee comprobó sólo una, la que generalmente se correlaciona con la metilación del resto de la región. Sin embargo, incluso dentro de la misma muestra de sangre, C9orf72 está más metilado en algunas células que en otras, por lo que los autores se centraron en cuantificar qué proporción de células tenían metilado el promotor. Lee encontró que las muestras de ADN contenían de 0 a un 30 por ciento de metilación en cualquier lugar; es decir, hasta el 30 por ciento de las células en una muestra de sangre habían metilado el promotor de C9orf72.

A continuación, los autores examinaron la densidad de materia gris mediante imagen por resonancia magnética de los 20 pacientes. En comparación con los controles sanos, los portadores de la expansión mostraron una reducción generalizada de la densidad de materia gris, incluso en la corteza frontotemporal y en el cerebelo. Cuando los autores consideraron conjuntamente el estado de metilación y la materia

gris, destacaron tres regiones. Cuanta más metilación tenía una persona, más densa era la materia gris de su hipocampo, corteza premotora, y tálamo. Fue posible repetir las exploraciones en 11 de los participantes del estudio, permitiendo a los investigadores evaluar el cambio en el tiempo, las mismas regiones se atrofiaban más lentamente en las personas con promotores C9orf72 fuertemente metilados, lo que sugiere que la metilación era protectora en esos puntos concretos. A partir de estudios anteriores, estas regiones eran conocidas por ser particularmente vulnerables a la DFT relacionada con C9orf72 en comparación con la DFT esporádica.

También probaron el deterioro cognitivo en 10 individuos. La capacidad de recordar una lista de palabras, una tarea que emplea el hipocampo, cayó más bruscamente en voluntarios con C9orf72 relativamente no metilado. Finalmente, el examen de tejido de la autopsia de 35 personas, relacionó mayores niveles de metilación con un mayor número de neuronas en el hipocampo y la corteza frontal que en aquellos con un menor porcentaje de metilación (el tejido del tálamo no se encontraba disponible). Los autores concluyen que la metilación parece tener un efecto protector, aunque admiten que no lo han demostrado. Estos resultados indican que los mecanismos epigenéticos contrarrestan la genética de C9orf72, la metilación del ADN suprime los efectos de la expansión de la repetición. Estos datos pueden significar el principio del fin para la hipótesis de pérdida de función de C9orf72 en la patogénesis de la enfermedad. Lee advirtió, sin embargo, que nadie había encontrado ningún efecto de la metilación en el inicio de la ELA o en la DFT. La haploinsuficiencia de C9orf72 aún podría iniciar la enfermedad, con la producción de ARN y péptidos tóxicos que controlasen el proceso posteriormente. De hecho, la metilación parecía acelerar la enfermedad en el estudio de Rogaeva de 37 portadores de la expansión con ELA. ¿Por qué tal discrepancia? Ambas cohortes fueron pequeñas, por lo que es posible que un resultado pudiera ser un falso positivo. Además, un estudio se centró en ELA y el otro en DFT. La mayor debilidad de este estudio fue que las personas tenían diagnósticos variados. Si la metilación influye en qué tipo de DFT desarrolla una

persona, entonces su cohorte, con la variante comportamental de DFT en su mayor parte, podría estar sesgada hacia el nivel de metilación asociado a ese diagnóstico en particular. Entonces la velocidad de progresión podría tener más que ver con el tipo de DFT y no con el estado de metilación en sí. No pudieron evaluar la atrofia de la médula espinal a través de resonancia magnética, la médula es demasiado delgada para esta técnica y sigue siendo posible que los pacientes con alto grado de metilación puedan tener una atrofia importante.

Rogaeva encontró el trabajo interesante, pero comentó que deberían contestarse muchas preguntas antes de que los investigadores puedan estar de acuerdo con que la metilación protege. Por un lado, sería necesario evaluar la metilación de una forma más completa y cuantitativa. No está convencida de que el análisis de uno o dos sitios CpG en el promotor constituya un indicador sólido de la metilación global. Por otra parte, Rogava publicó recientemente que los grupos metilo también decoran las repeticiones sí mismas, a pesar de que aún no se pueda cuantificar la metilación presente en la expansión. Sugirió que un análisis exhaustivo de la metilación en una población más grande, fenotípicamente homogénea, podría producir resultados más convincentes. Lee, por su parte, está experimentando con la metilación del promotor de C9orf72 en modelos de cultivo celular, en busca de resultados consistentes con sus estudios en humanos. Si Lee y McMillan estuviesen en lo cierto, entonces los tratamientos que metilen C9orf72, o lo silencien de otra manera, podrían ser prometedores. Los científicos ya están experimentando con oligonucleótidos antisentido para C9orf72.

REF: Day JJ, et al. "DNA methylation slows effects of C9orf72 mutations: An epigenetic brake on genetic inheritance". *Neurology*. Apr 21;84(16):1616-7.

McMillan CT, et al. "C9orf72 promoter hypermethylation is neuroprotective: Neuroimaging and neuropathologic evidence". *Neurology*. Apr 21;84(16):1622-30.

LA PEPTIDILPROLIL ISOMERASA A REGULA LA FUNCIÓN DE TARDBP Y SU ENSAMBLAJE EN COMPLEJOS HETEROGÉNEOS DE RIBONUCLEOPROTEÍNAS NUCLEARES

La ELA se clasifica normalmente en dos categorías: ELA familiar (10% de los casos), predominantemente con una herencia autosómica dominante, y ELA esporádica (90% de los casos). A pesar de las diferentes etiologías, la ELA esporádica y la ELA familiar son clínicamente indistinguibles, lo que sugiere que las dos formas comparten mecanismos patogénicos comunes. En los últimos años, han aparecido evidencias genéticas y neuropatológicas que sugieren que existe una alteración en la homeostasis de proteínas y de ARN como base de la ELA.

Se sabe que la peptidil-prolil isomerasa A (PPIA), también conocida como ciclofilina A, es una proteína multifuncional con actividad peptidil-prolil cis-trans isomerasa, abundante, ubicada con sus mayores concentraciones en el sistema nervioso central, pero cuya función se desconoce. PPIA se ha relacionado con enfermedades humanas, aunque su papel en la patogénesis se desconoce todavía. El aumento de la expresión en células sanguíneas polimorfonucleares se ha asociado con la enfermedad en pacientes con ELA esporádica, además se encuentra enriquecida en agregados aislados de pacientes con ELA y degeneración del lóbulo frontotemporal. Como se regula de manera similar en modelos animales mutantes SOD1 y en pacientes con ELA esporádica, PPIA se puede considerar como un marcador translacional que podría sugerir mecanismos patogénicos comunes. TARDBP (también conocida como TDP-43) es una proteína de unión a ARN que normalmente se localiza en el núcleo y cuya función fisiopatológica está todavía sin definir. Existen evidencias que sugieren que tiene múltiples papeles en el procesamiento del ARN y en la regulación de la expresión génica. Por otro lado, SOD1 es una enzima citosólica antioxidante que ha sido ampliamente estudiada en relación con la ELA. Lauranzano perteneciente al IRCCS-Instituto de Investigación Farmacológica 'Mario Negri' en Milán, Italia, y sus colaboradores proporcionan evidencias, en la revista *Brain* de febrero de 2015, e identifican una función nueva de PPIA que tiene importantes implicaciones en la fisiología y la patología del sistema nervioso central al relacionar molecularmente TARDBP y SOD1. PPIA es un regulador clave de la función de TARDBP, regula la expresión de dianas conoci-

das de ARN y es necesaria para el ensamblaje de complejos heterogéneos de ribonucleoproteínas nucleares (hnRNP).

Los datos del estudio sugieren que la alteración de la interacción PPIA/TARDBP provoca la patología TDP-43. Consistentemente con este modelo, muestran que la interacción PPIA/TARDBP se encuentra dañada en la patología. Además, la depleción de PPIA induce la agregación de TARDBP, y reduce la expresión de genes implicados en el aclaramiento de agregados de proteínas (HDAC6, ATG7 y VCP). La interrupción de la interacción induce la agregación de TARDBP y acelera la progresión de la enfermedad en el modelo de ratón SOD1(G93A) de ELA. Los hallazgos también sugieren que la alteración del equilibrio de la interacción PPIA/TARDBP dentro de los complejos de hnRNP, estando en la intersección de la ruta homeostática del ARN y de las proteínas, constituiría el "eslabón perdido" entre varias enfermedades aparentemente no relacionadas como las proteinopatías TDP-43. Tener como objetivo la interacción PPIA/TARDBP podría representar una vía terapéutica novedosa para enfermedades degenerativas que impliquen una patología TDP-43.

REF: Lauranzano E, et al. "Peptidylprolyl isomerase A governs TARDBP function and assembly in heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complexes". *Brain*. 2015 Apr;138(Pt 4):974-91.

NEURODEGENERACIÓN: LA REPRESIÓN POR TDP-43 DE EXONES CRÍPTICOS NO CONSERVADOS SE ENCUENTRA COMPROMETIDA EN LA ELA/DFT

La proteína TDP-43 de unión a ARN es una ribonucleoproteína heterogénea nuclear (hnRNP) que se piensa que establece el vínculo neuropatológico que determina el espectro de la ELA/DFT (esclerosis lateral amiotrófica/demencia frontotemporal). En la ELA esporádica (aproximadamente hasta el 97% del total de los casos) y en la DFT esporádica (aproximadamente el 45% de los casos), TDP-43 sufre un aclaramiento en el núcleo y forma inclusiones citoplasmáticas ubiquitinadas que conducen a la proteinopatía TDP-43. Las mutaciones missense (de cambio de sentido) en TDP-43 están también relacionadas con la ELA familiar, apoyando fuertemente la idea de que la proteinopatía TDP-43 es fun-

damental en la patogénesis de la enfermedad esporádica. Numerosas mutaciones genéticas asociadas con la ELA/DFT familiar – VCP, GRN, OPTN, ATXN2, SQSTM1, UBQLN2, PFN1, TBK1, y especialmente C9orf72 – se traducen en una proteinopatía TDP-43 sugiriendo la existencia de un mecanismo convergente de neurodegeneración. Sin embargo, una comprensión limitada de esta proteína de unión al ARN (RBP) impide el esclarecimiento de los mecanismos patogénicos subyacentes a la proteinopatía TDP-43.

Se ha identificado el motivo de unión consenso de TDP-43 como una repetición del dinucleótido "UG". Empleando una estrategia de secuenciación masiva combinada con una inmunoprecipitación cross-linking (HITS-CLIP), se han identificado dianas directas de Tdp-43. Tdp-43 regula el procesamiento alternativo de un conjunto de exones conservados mediante la unión a dominios ricos en "UG" en regiones intrónicas proximales. Sin embargo, Tdp-43 se une mayoritariamente a estos dominios en regiones intrónicas distales, localizaciones donde Tdp-43 no tiene una función clara.

Ling y colaboradores de la Escuela de Medicina de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore, EE.UU, acaban de publicar en agosto, en la revista *Science*, un artículo donde investigan el papel de Tdp-43 en el procesamiento del ARN. Han encontrado que a diferencia de la regulación por RBPs del procesamiento de exones conservados, TDP-43 reprime el corte y empalme de los exones crípticos, no conservados, manteniendo la integridad del intrón. La mayoría de los exones crípticos desplazan el marco de lectura y/o introducen codones de parada, características de una degradación del ARN mensajero mediada por una mutación terminadora (NMD). Además, los autores del trabajo identificaron un subconjunto de exones crípticos no estándar que podrían ser catalogados como inicios alternativos de transcripción, lugares de poliadenilación prematuros o expansiones de exones canónicos conservados. Cuando TDP-43 se eliminó de células madre embrionarias de ratón, estos exones crípticos se empalman en los ARN mensajeros interrumpiendo, a menudo, su traducción y provocando la degradación del ARN mensajero. Por otra parte, la represión forzada de los exones crípticos impedía la muerte celular en células deficientes en TDP-43.

El análisis postmortem de tejido cerebral de una cohorte de ELA-DFT identificó un conjunto de exones crípticos que regulan TDP-43

en humanos, observando que la represión de exones crípticos se vio afectada en los casos de ELA-DFT. Aunque el conjunto de exones crípticos en ratones es completamente diferente al de humanos, la función represora de exones crípticos por parte de TDP-43 se ha mantenido a lo largo de la evolución. Además la secuencia proteica de TDP-43 esta conservada en humanos, ratones, moscas, y nematodos, sugiriendo que este defecto de empalme podría ser potencialmente la base de la TDP-43 proteinopatía.

El descubrimiento del papel de TDP-43 en la represión de exones crípticos supone un avance en la comprensión de las enfermedades humanas con proteinopatía TDP-43 y puede constituir la base de la identificación de biomarcadores y el desarrollo de estrategias terapéuticas.

REF: Ling JP, et al. "Neurodegeneration. TDP-43 repression of nonconserved cryptic exons is compromised in ALS-FTD". *Science*. 2015 Aug 7;349(6248):650-5.

¿LAS INFECCIONES VIRALES PODRÍAN INDUCIR LA ELA JUVENIL?

¿Podría una respuesta excesiva a infecciones virales predisponer a ciertas personas a la ELA juvenil? Esa es una interpretación de un artículo presentado el 30 de marzo en la revista *Nature Immunology* online.

El grupo de la Escuela de Medicina Icahn en el hospital Monte Sinaí, en Nueva York, publican una función inmunológica para la senataxina, un gen que está mutado en algunos casos de inicio temprano de la ELA. Descubrieron que el funcionamiento de la proteína normal atenúa la respuesta inmune a los invasores virales, manteniendo la inflamación a raya. Su teoría es que los portadores de la mutación en senataxina elevan ligeramente la respuesta inmune a la infección, lo que con el tiempo podría predisponer a la neurodegeneración. Sin embargo, los autores comentaron que la senataxina podría tener también funciones adicionales, por lo tanto, su papel en la ELA podría no tener nada que ver con los virus. La senataxina codifica una helicasa de ácidos nucleicos. Separa las hebras de híbridos de ADN-ARN que reprimen la transcripción. Las mutaciones dominantes en senataxina provocan una forma de ELA que generalmente se desarrolla en la adolescencia o en la vein-

tena. Las mutaciones recesivas, con pérdida de función causan una enfermedad diferente, una ataxia con apraxia oculomotora de tipo 2 (AOA2). La AOA2 a menudo comienza en la adolescencia, causando un movimiento des-coordinado y dificultad en los movimientos oculares laterales.

Inicialmente los autores se interesaron en los factores de transcripción que controlan las funciones inmunes celulares. Los científicos conocen bastante sobre el programa celular que mantiene a raya a los virus, como el interferón y los genes que lo activan. Se sabe menos acerca de los mecanismos que desactiva la inflamación una vez que pasa la amenaza. Debido a que se conocía que la senataxina desactivaba genes que responden a estímulos diferentes, como perturbaciones en la pared celular de las levaduras, los autores probaron cómo actúa en células de mamífero durante la infección viral.

Infectaron células pulmonares humanas A549 con el virus de la gripe y analizaron los genes activados en la respuesta. En comparación con las células control, los pacientes tratados con pequeños ARNs de interferencia contra senataxina producen más transcritos de genes antivirales, sin fabricar más ARNm generales. También presentaron una defensa más fuerte, reteniendo menos virus que las células control después de 24 horas de la infección. Los investigadores determinaron que la senataxina fue reclutando genes antivirales mediante la subunidad TAF4 del factor de transcripción-iniciación. La senataxina parece que finaliza la transcripción poco después del promotor, encontraron que los ARNm de las proteínas antivirales eran extremadamente cortas en las células pulmonares que expresan la helicasa normal. Las células que expresan la versión mutante produjeron menos transcripciones cortas y más ARNm de longitud completa.

Para probar la relevancia en la enfermedad humana, los autores repitieron sus experimentos con glóbulos blancos sanguíneos y fibroblastos primarios de una persona con AOA2. En comparación con los de donantes sanos, las células AOA2 expresan genes antivirales en niveles más altos en respuesta a la infección con el virus de la gripe. Para ver si se producían respuestas similares in vivo, los investigadores expusieron a ratones knockout de senataxina al virus Sendai, una especie de gripe en el ratón. Los ratones aumentaron la expresión de genes antivira-

les en sus pulmones.

Estos datos sugieren que una persona con una mutación en senataxina probablemente responde en exceso a los virus, al fallar los mecanismos de finalización de respuesta antiviral del organismo de forma rápida. Con el tiempo, las infecciones sucesivas pueden causar daños, los autores proponen que la infección tendría un papel importante en la iniciación o progresión de la AOA2 y la ELA en los casos con mutaciones en senataxina (SETX). Esta teoría vincula claramente una predisposición genética a la enfermedad con un desencadenante ambiental.

Los investigadores no han asociado directamente la infección con la ELA o la AOA2. Sin embargo, es una hipótesis que merece la pena explorar aunque no exista ninguna indicación, por ejemplo, que los ratones con delección de la senataxina infectados con virus desarrollen síntomas de ELA. Los científicos se han preguntado mucho acerca de una posible relación entre la ELA y las infecciones, particularmente porque el virus de la poliomielitis destruye neuronas motoras, pero nunca se ha confirmado tal conexión. La ELA relacionada con senataxina, de inicio juvenil y progresión lenta, se diferencia de los casos más típicos, por lo que los resultados podrían ser específicos de esta forma de la enfermedad.

Existen explicaciones alternativas para el papel de la senataxina en la ELA. La senataxina podría regular también genes no inmunes, tal vez los que participan en la respuesta a factores de estreses ambientales no infecciosos o genes activos específicamente en las neuronas motoras. Si este fuera el caso, las mutaciones en senataxina podrían provocar la neurodegeneración, independientemente de la infección viral. Para investigar más a fondo, se están examinando cómo las mutaciones relacionadas con la ELA afectan la respuesta a la infección.

REF: Dance A. "Could Viral Infections Instigate Juvenile ALS?". *The ALS Forum*. 16 de Abril de 2015. http://www.researchals.org/page/4746/14489/?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+126&utm_campaign=Newsletter+Vol+126&utm_medium=email
Miller MS, et al. "Senataxin suppresses the antiviral transcriptional response and controls viral biogenesis". *Nat Immunol*. 2015 May;16(5):485-94.

AGREGADOS DE PROTEÍNAS MAL PLEGADAS EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Un grupo de investigación en la Universidad de Alberta y en el Instituto Nacional de Nanotecnología en Canadá publicaron recientemente nuevos hallazgos en el conocimiento sobre el proceso de mal plegamiento de las proteínas desde una estructura normal a un estado de enfermedad característica de los trastornos degenerativos. El estudio fue publicado en la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (PNAS) en julio de 2015.

Los trastornos neurodegenerativos como la ELA, la enfermedad de Alzheimer y la de Parkinson se producen por el mal plegamiento y la agregación de proteínas, aunque el componente proteico y la región cerebral afectada pueden diferir. La escala de tiempo asociada a la dinámica de proteínas durante las transiciones conformacionales se establece mediante el coeficiente de difusión intracadena (D), un coeficiente que determina la cinética de transición y las propiedades microscópicas de las interacciones en el proceso de plegado. Nunca se había determinado D para las proteínas mal plegadas y agregadas.

Este era el objetivo que estaban tratando de resolver el autor principal del estudio, el Dr. Michael Woodside, quien quería entender la física de la conversión de las proteínas de 'buenas' a 'malas'. Su equipo empleó espectroscopia de fuerza de una sola molécula para determinar D en el mal plegamiento de una proteína llamada PrP (proteína prión). Los priones son agentes patógenos capaces de inducir el plegamiento anómalo de proteínas celulares específicas. Los investigadores probaron la interacción entre dos moléculas de PrP, analizaron el proceso de mal plegamiento, la formación de estructuras incorrectas estables y reconstruyeron el entorno energético respecto a la formación de agregados. Usando delicadas pinzas láser, el equipo manipuló las proteínas y determinó los movimientos microscópicos que cambiaron su forma. Encontraron que D era 1000 veces más lenta para los procesos de mal plegamiento que para el plegamiento nativo y que esta difusión lenta condujo a tiempos de tránsito más largos, lo que permitió por primera vez el análisis de los recorridos de transición.

El equipo de investigación cree que su trabajo ofrece nuevos conocimientos sobre los me-

canismos microscópicos que subyacen al mal plegamiento de proteínas. Su investigación se entiende mejor como un paso para resolver un gran misterio que perdura desde hace casi 20 años después de que el Premio Nobel fuese otorgado a la hipótesis del prión. La comprensión de los principios físicos que se encuentran detrás de la generación de agregados de proteínas mal plegadas puede conducir a nuevas estrategias terapéuticas contra enfermedades degenerativas incluida la ELA.

REF: Yu H, et al. "Protein misfolding occurs by slow diffusion across multiple barriers in a rough energy landscape". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Jul 7;112(27):8308-13.

NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE LOS MECANISMOS MOLECULARES QUE SUBYACEN A LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS - HSN II Y ELA

El Dr. Ivan Dikic de la Universidad Goethe (Frankfurt, Alemania) ha participado en dos estudios innovadores centrados en los detalles moleculares que subyacen a las enfermedades neurodegenerativas. Los estudios fueron realizados por equipos de investigación internacionales y publicados recientemente en las revistas *Nature Neuroscience* (marzo 2015), y en *Nature* (junio 2015).

El control de calidad en los procesos celulares es vital, ya que los defectos a menudo pueden tener graves consecuencias. Las enfermedades neurodegenerativas, incluida la ELA, son ejemplos en los que mecanismos fundamentales de control de calidad celular fallan.

Un elemento clave de control de calidad celular considerado en estos estudios es la autofagia ("auto-ingestión") un sistema en el que los desechos celulares (componentes celulares nocivos o disfuncionales y también patógenos) se identifican y se eliminan específicamente.

Ahora, los investigadores han publicado en *Nature* la existencia de un nuevo receptor de autofagia denominado FAM134B. El equipo descubrió que los receptores de la familia de proteínas FAM134 se pueden encontrar en el retículo endoplásmico (RE), un orgánulo

celular clave implicado en la síntesis adecuada de proteínas y lípidos, la homeostasis de iones y el control de calidad de las proteínas recién sintetizadas. El reemplazo y la renovación constante del RE es esencial para su buen funcionamiento y la autofagia juega un papel importante en este proceso, aunque los mecanismos subyacentes se desconocen. Los investigadores han publicado que FAM134B asegura la degradación y la eliminación adecuada de RE disfuncional.

Demasiado poco FAM134B conduce a una dilatación y una expansión incontrolada de este orgánulo, que es perjudicial para la célula. El descubrimiento de FAM134B como un nuevo receptor de la autofagia es ya un hito. Aún más interesante es la conexión con una enfermedad hereditaria neuronal rara. Se publicó previamente que las mutaciones FAM134B pueden conducir a la muerte de las neuronas sensoriales en una enfermedad conocida como neuropatía sensorial y autónoma hereditaria tipo II (HSAN II), una enfermedad hereditaria rara en la que el dolor y la sensibilidad a la temperatura, así como la transpiración se deterioran, por lo que los individuos con la enfermedad se queman y se hieren a sí mismos fácilmente, ya que no pueden sentir señales de calor y dolor. La proteína mutada no puede funcionar como un receptor. Con estos descubrimientos se ha dado un gran paso para la comprensión de las causas moleculares de esta neuropatía. Al mismo tiempo, se subraya la importancia de la autofagia en el control de calidad celular.

Por otra parte, en el artículo de la revista *Nature Neuroscience*, se publicaron defectos relacionados con la ELA. El equipo secuenció 252 individuos con ELA familiar y 827 controles sanos y encontraron que las mutaciones en un gen llamado TBK1 (quinasa 1 de unión a TANK) se producen con mayor frecuencia en familias con ELA. Se encontraron mutaciones TBK1 que interrumpen la interacción entre TBK1 y optineurina, un receptor de la autofagia importante en la eliminación de agregados de proteínas y en los mecanismos de defensa contra las bacterias. Se había publicado anteriormente la implicación de la optineurina en la patogénesis de la ELA.

Los dos estudios representan un caso ideal en el que se explica la fisiopatología de la enfermedad mediante un esfuerzo de colaboración entre disciplinas, muestran de una manera sin igual que se pueden desarrollar conceptos generales a partir de resultados

individuales. Ambos estudios demuestran que cuando falla el control de calidad celular en las neuronas durante un largo tiempo, las consecuencias pueden ser desastrosas, y que la autofagia juega un papel crítico en el proceso. De esta forma, la autofagia se ha constituido como un mecanismo central común en el control de calidad celular en la enfermedad neurodegenerativa.

REF: Freischmidt A, et al. "Haploinsufficiency of *TBK1* causes familial ALS and fronto-temporal dementia". *Nat Neurosci.* 2015 Mar 24.
Khaminets A, et al. "Regulation of endoplasmic reticulum turnover by selective autophagy". *Nature.* 2015 Jun 18;522(7556):354-8.
Silva, P. "New Insights Into Molecular Mechanisms Underlying Neurodegenerative Diseases – HSN II and ALS". *ALS News Today.* 16 de Junio 2015.
<http://alsnewstoday.com/2015/06/16/new-insights-molecular-mechanisms-underlying-neurodegenerative-diseases-hsan-ii-als/>

UNA RUTA CELULAR CLAVE OFRECE UNA NUEVA DIANA TERAPÉUTICA PARA LA ELA

Un nuevo estudio publicado recientemente en la revista PNAS por Barmada y colaboradores, reveló que un nuevo mecanismo celular que involucra una proteína clave llamada hUPF1 puede ser empleado como una estrategia terapéutica para la ELA. El estudio fue dirigido por investigadores de la Universidad de Michigan, el Instituto J. David Gladstone y la Escuela de Medicina Weill Cornell.

Una característica típica de la ELA es la acumulación de una proteína llamada TDP43, que es tóxica para las células en altas concentraciones. TDP43 es una proteína 'Goldilocks': demasiada, o demasiada poca, puede causar daño celular. Más del 90% de los casos de ELA presentan patología basada en TDP43 (acúmulos intracelulares) por lo que el desarrollo de un tratamiento que mantenga los niveles adecuados de esta proteína es imprescindible.

Los investigadores han encontrado que una proteína conocida como hUPF1 es capaz de controlar los niveles de TDP43, por lo tanto prevenir la muerte celular. Se había sugerido anteriormente hUPF1 como una posible diana terapéutica para la ELA, sin embargo, no estaba claro cómo la proteína podía ser capaz de prevenir la muerte celular. En el estudio,

mediante el empleo de un modelo celular de ELA, el equipo encontró que los niveles crecientes de hUPF1 condujeron a una prolongación de la supervivencia de las neuronas de un 50-60%. Un análisis más detallado reveló que hUPF1 actúa a través de un sistema de vigilancia celular de degradación del ARN mensajero mediada por mutaciones terminadoras conocido como "nonsense mediated decay" (NMD) para mantener los niveles de TDP43 estables y mejorar la supervivencia neuronal.

La función principal de la NMD es disminuir los errores en la expresión génica mediante el control y la eliminación de las moléculas de ARN mensajero que contienen codones de parada prematura, ya que estos podrían producir proteínas disfuncionales. Parece que la NMD también puede ayudar a controlar los niveles de proteína, como es el caso de TDP43. Basándose en el hallazgo de que hUPF1 es un regulador clave de la NMD, el equipo cree que la alteración de hUPF1 tiene efecto sobre TDP43 y otras proteínas relacionadas.

Las células han desarrollado una forma muy elegante de mantener la homeostasis y protegerse de las proteínas defectuosas. Esta es la primera vez que se ha sido capaz de relacionar este sistema de vigilancia natural con la enfermedad neurodegenerativa. Aprovechar este sistema podría constituir una diana terapéutica para enfermedades como la ELA y la demencia frontotemporal. El siguiente objetivo de este equipo será desarrollar un fármaco dirigido al sistema de vigilancia NMD, a través de la manipulación de hUPF1 u otras proteínas que puedan afectar a este sistema, con el fin de controlar los niveles de TDP43 y proteger a las neuronas de la muerte celular.

REF: Barmada SJ, et al. "Amelioration of toxicity in neuronal models of amyotrophic lateral sclerosis by hUPF1". *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Jun 23;112(25):7821-6.

CARACTERÍSTICAS DE LA ELA A NIVEL MOLECULAR: NUEVAS PRUEBAS REVELAN DIFERENTES CEPAS DE SOD1

Cuando las proteínas individuales forman agregados, abandonan la forma que una vez tuvieron como monómeros aislados por otras estructuras que tienden a adaptarse a ese conjunto de agregados. En este artículo observamos una técnica novedosa que aprovecha dicha transición de monómero hacia agregado proteico, que es a menudo desordenada, para detectar diferentes variantes de SOD1 agregada (una de las proteínas que forman inclusiones asociadas con la ELA). Publicado el 23 de marzo en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, el método emplea un grupo de anticuerpos para detectar regiones de la proteína que sólo se exponen cuando adquieren estructuras no naturales. Los investigadores dirigidos por Stefan Marklund, de la Universidad de Umea en Suecia, correlacionaron una variante de SOD1 con la tasa de progresión de la enfermedad, y en un futuro planean utilizar la técnica en la identificación de distintas variantes de SOD1 en seres humanos.

La formación de agregados tóxicos y oligómeros más pequeños es una característica común de muchas enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la ELA, la enfermedad de Alzheimer, y el Parkinson. Ahora existen pruebas abrumadoras que sugieren que hay diferentes cepas de β -amiloide ($A\beta$) o tau (relacionadas con las demencias), α -sinucleína (relacionada con la enfermedad de Parkinson), e incluso SOD1, y que estas cepas pueden propagarse de una célula a otra. Sin embargo, la detección y caracterización de estas cepas siguen siendo un reto por lo que la técnica empleada podría aplicarse a cualquiera de las proteínas amiloides, además de añadir SOD1 a esta curiosa clasificación de proteínas que muestran funcionamientos asociados al tipo de estructura tridimensional o cepa.

El primer autor, Johan Bergh, junto con el resto de sus colaboradores, buscó agregados de SOD1 utilizando un enfoque novedoso que llamó cartografía binaria de epítomos. Desarrollaron un panel de anticuerpos que sólo detectan epítomos que normalmente están ocultos en la proteína nativa, pero que se exponen cuando se despliega. Se especuló con que algunos de esos epítomos podrían también exponerse cuando las proteínas se

pliegan mal, como lo hacen cuando se forman agregados. Los investigadores obtuvieron anticuerpos policlonales contra segmentos peptídicos cortos que abarcaban el 90 por ciento de la secuencia de la proteína SOD1. Encontraron ocho anticuerpos que detectaban la extensión completa de SOD1 desnaturalizada, pero no la forma nativa plegada, lo que indica que los epítomos reconocidos estaban ocultos en los pliegues de la proteína.

Los investigadores probaron los anticuerpos en extractos de médula espinal de las líneas de ratones que sobreexpresan SOD1 humana normal o mutante. Cuatro de los ocho anticuerpos reaccionaron a los extractos de médula espinal de ratones SOD1 de tipo normal y con los que expresan las mutaciones G93A y G85R en SOD1. Los investigadores apodaron a estos agregados de SOD1 cepa A. Además de los agregados de la cepa A, los ratones SOD1 D90A (otra mutación humana, que es típica de la población escandinava) contenían otros, que fueron designados mediante cepa B, y que mostraron un subconjunto diferente de anticuerpos. El cerebro y la médula espinal de cada ratón contenían la misma cepa, aunque había mucho menos en el cerebro. Un tercer patrón distintivo emergió cuando los investigadores generaron fibrillas SOD1 *in vitro*.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que existe algo en el medio ambiente *in vivo*, y/o la naturaleza de la mutación, que determinaría qué cepas formarían agregados. También cuestionaron la dependencia de los agregados *in vitro* como modelo de lo que se produce durante la enfermedad.

Teplow de la Universidad de California, en Los Ángeles se mostró sorprendido por la clara diferencia en las cepas SOD1 que se formaron en los ratones frente a las que se formaron *in vitro*. Otros investigadores también se enfrentaron con tal heterogeneidad cuando estudiaron $A\beta$. Los científicos a menudo usan oligómeros $A\beta$ y agregados formados en tubos de ensayo sin conocer su relevancia en la fisiología, un ensayo de este tipo podría ayudar a determinar si existen diferencias entre los agregados obtenidos en el laboratorio frente a los que se encuentran en el cerebro.

Los investigadores a continuación compararon la estabilidad de los agregados de las cepas. Expusieron extractos de la médula espinal de ratones D90A sintomáticos a concentraciones crecientes del potente desnaturizante cloruro de guanidina, a continuación emplearon ultrasonidos y finalmente capturaron cualquier

agregado SOD1 conservado con un filtro. La cepa capturada predominantemente era la cepa A, lo que sugiere que los agregados de la cepa B se desnaturalizaron más fácilmente. Este hallazgo sugirió a los investigadores que la cepa B podría ser más patogénica, ya que estudios previos habían publicado que las cepas frágiles de Aβ o proteínas priónicas iniciaron más fácilmente el crecimiento de nuevos agregados que las cepas estables. ¿Cómo alteran estas diferentes cepas el curso de la enfermedad? Los investigadores encontraron que los ratones D90A que murieron primero presentaban agregados de la cepa B en su médula espinal, mientras que los que vivían más tiempo albergaban únicamente la cepa A. Los ratones con esperanzas de vida intermedias murieron con una mezcla de las dos cepas. Los ratones con la cepa B también tuvieron una aparición más temprana de la enfermedad y de más corta duración de la enfermedad, lo que implica que la cepa frágil de agregados SOD1 promueve una muerte rápida. Estos resultados sugieren que, de la misma forma que las diferentes cepas tau determinan su propia trama patológica, las diferentes cepas SOD1 dictan el curso de la enfermedad.

Una de las hipótesis más interesantes presentadas en este estudio es que el sistema nervioso central modula el desarrollo de los agregados de las cepas predominante. El ensayo de unión a epítomos podría ser útil en el estudio de cómo los diferentes factores afectan a las estructuras agregadas SOD1.

Bergh planea ampliar la colección de anticuerpos con la esperanza de detectar otras cepas de SOD1. También probará los anticuerpos en muestras postmortem de pacientes humanos con ELA. Espera que el ensayo sea lo suficientemente sensible para detectar los agregados en el líquido cefalorraquídeo de pacientes, lo que permitiría establecer correlaciones con el pronóstico y la progresión de la enfermedad. El ensayo puede tener un buen nivel de detección de niveles bajos de agregados. En ratones con ELA, existen agregados SOD1 en 100µg/g de peso húmedo, y los investigadores publicaron que el ensayo binario de epítomos detectó niveles 1.000 veces menores. La sensibilidad del ensayo se debe a su naturaleza combinatoria, ya que detecta una serie de epítomos lineales que definen cada cepa en lugar de una única estructura tridimensional. El objetivo final sería utilizar anticuerpos específicos de los agregados como inmunoterapia en pacientes con ELA. Incluso si no se

tiene éxito en abolir completamente la formación de depósitos de proteínas, la focalización y la eliminación en el sistema nervioso central de una fracción relativamente pequeña de las cepas más nocivas puede resultar en un retraso importante en la aparición de la enfermedad en su forma más grave.

REF: Bergh J, et al. "Structural and kinetic analysis of protein-aggregate strains in vivo using binary epitope mapping". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Apr 7;112(14):4489-94.

LA ALS ASSOCIATION REVELA NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE UNA PROTEÍNA VINCULADA A LA ELA

ALSA (la asociación americana de ELA) reveló que un equipo de investigadores financiado por la asociación y dirigido por el Dr. Miller y el Dr. Bateman de la Universidad de Washington en Saint Louis, han realizado recientemente importantes descubrimientos sobre la proteína relacionada con la ELA llamada cobre (Cu)/zinc (Zn) superóxido dismutasa (SOD1). Se estima que alrededor del 10% de todos los casos de ELA son hereditarios. La segunda causa más común de las formas hereditarias de ELA se produce debido a mutaciones en el gen SOD1, que codifica una proteína clave importante para la desintoxicación de las neuronas motoras. No está claro cómo la proteína SOD1 mutante contribuye al desarrollo de la ELA, aunque se han observado agregados de SOD1 mutante en los pacientes y se ha sugerido que estos tienen propiedades tóxicas. Por lo tanto, parar este proceso de agregación es el objetivo de varias estrategias terapéuticas. Recientemente, una estrategia llamada terapia antisentido, donde se emplean moléculas que se dirigen exclusivamente al gen SOD1 mutado, ha demostrado que reduce la cantidad de la proteína mutante en pacientes con ELA. Con el fin de entender mejor la participación de SOD1 en la ELA y los efectos de la terapia antisentido, es importante conocer la rapidez con la que se degrada la proteína SOD1 en el cuerpo. Esto se conoce como vida media de la proteína, es decir, el tiempo que tarda la mitad de la proteína en degradarse. Los investigadores encontraron que la proteína normal SOD1 tenía una vida media de 16 días en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de ratas y alrededor de 25 días en el líquido

cefalorraquídeo humano, una tasa de recambio que se consideró relativamente lenta en el sistema nervioso. En términos de la proteína SOD1 mutante, su vida media se encontró que era mayor en el LCR de las ratas, mientras que en seumanos todavía tiene que determinarse. El equipo cree que sus hallazgos pueden ser importantes en el desarrollo de ensayos terapéuticos que evalúen estrategias para reducir los niveles de la proteína SOD1 mutante en pacientes. Este hallazgo es un paso necesario en el desarrollo de una terapia antisentido, estos datos serán utilizados para ayudar a decidir cuándo y con qué frecuencia se tendrá que medir SOD1 mutante residual, con el fin de juzgar la eficacia del tratamiento antisentido. En este sentido, este estudio representa un verdadero progreso hacia un ensayo.

REF: Crisp MJ, et al. "In vivo kinetic approach reveals slow SOD1 turnover in the CNS". *J Clin Invest*. 2015 Jul 1;125(7):2772-80.

LA EXPANSIÓN DE LA REPETICIÓN EN C9ORF72 EN RATONES CAUSA ACÚMULO DE TDP-43, PÉRDIDA NEURONAL Y DEFICIENCIAS COMPORTAMENTALES

La expansión de la repetición del hexanucleótido intrónico G4C2 en el gen C9orf72 es la principal causa genética de la demencia frontotemporal (DFT) y de la ELA. Aunque la DFT y la ELA se caracterizan por síntomas cognitivos y comportamentales y por síntomas motores, respectivamente, existe tanto un solapamiento clínico como neuropatológico entre estas dos enfermedades.

El mecanismo preciso por el que la mutación en C9orf72 contribuye a "c9DFT/ELA" permanece sin conocerse, aunque se piensa que la toxicidad mediada por la traducción bidireccional del ARN de la expansión r(G4C2)_{exp} y r(G2C4)_{exp} desempeña un papel importante. Para investigar los efectos neurotóxicos relacionados con la repetición G4C2 y para crear un modelo para probar nuevas terapias in vivo el grupo de Chew de la Clínica Mayo en Rochester, EE.UU., creó un ratón que desarrolla las características clínicas y patológicas de c9DFT/ELA. Emplearon un vector viral asociado a adenovirus para mediar la expresión de 2 o 66 repeticiones de G4C2 en el sistema nervioso central del ratón. Seis meses tras

la administración intracerebroventricular en el día 0 postnatal de AAV2/9-(G4C2)₆₆ o AAV2/9-(G4C2)₂, lo que causa la traducción predominantemente neuronal, se realizó una caracterización de los ratones. Los resultados de este estudio se publicaron en la revista Science en junio de 2015.

Los transcritos que contienen la repetición forman foci de ARN intranuclear que se piensa que secuestran varias proteínas de unión a ARN y que son susceptibles a una traducción de la repetición no asociada a ATG dando lugar a la síntesis de proteínas al azar "c9RAN" que contienen dipéptidos repetidos. Para comprobar si se formaban foci de ARN en ratones AAV2/9-(G4C2)₆₆ realizaron hibridación fluorescente in situ (FISH) empleando una sonda contra r(G4C2). Como se anticipó, no se detectaron foci en el sistema nervioso central de los ratones controles (G4C2)₂ pero sí detectaron inclusiones de proteínas de repetición de dipéptidos poly(Gly-Pro), poly(Gly-Ala) y poly(Gly-Arg), en los ratones (G4C2)₆₆.

En estos mismos ratones, también se detectó el acúmulo de TDP-43, característica neuropatológica de c9DFT/ELA. Los cerebros de los ratones también mostraron pérdida de neuronas corticales y células de Purkinje del cerebelo, astrogliosis y un descenso de peso. Para determinar si la combinación de las características patológicas descritas afecta a la conducta realizaron una serie de pruebas de comportamiento. En el examen del componente social se empleó un test de interacción social de tres cámaras, una de las cuales contiene un cilindro. Los ratones (G4C2)₆₆ pasaban más tiempo en la cámara sin cilindro que los ratones (G4C2)₂ lo que sugiere la existencia de ciertas anomalías sociales. La coordinación motora y el equilibrio se evaluaron mediante el test Rota-Rod, aunque no existieron diferencias significativas en el tiempo pasado en el rodillo antes de caer en el primer día de prueba, en el segundo día los ratones (G4C2)₆₆ se cayeron significativamente más rápido, lo que es indicativo de alguna disfunción motora. Los ratones (G4C2)₆₆ desarrollaron anomalías comportamentales similares a los síntomas clínicos de los pacientes c9DFT/ELA, incluidos hiperactividad, ansiedad, comportamiento antisocial y déficits motores.

Como los ratones (G4C2)₆₆ muestran los fenotipos neuropatológicos y clínicos de c9DFT/ELA, podrían constituir un modelo atractivo para probar potenciales terapias sobre

r(G4C2)exp. De hecho, estos hallazgos sugieren que tales estrategias no sólo podrían mitigar la formación de focos y la traducción RAN, sino que también podría aliviar la toxicidad mediada por TDP-43, generalizada en los pacientes con ELA y con DFT.

REF: Chew J, et al. "Neurodegeneration. C9ORF72 repeat expansions in mice cause TDP-43 pathology, neuronal loss, and behavioral deficits". *Science*. 2015 Jun 5;348(6239):1151-4.

LA DEPLECIÓN DE FUS/TLS INDUCE SÍNTOMAS DIFERENTES A LOS QUE APARECEN EN LA ELA

Un nuevo estudio publicado recientemente en la revista *Acta Neuropathologica Communications* revela que la ausencia de la proteína FUS/TLS, que se ha relacionado con enfermedades neurológicas, causa síntomas distintos de los encontrados en pacientes con ELA. El estudio fue dirigido por investigadores de la Escuela de Medicina de la Universidad Juntendo, el Centro de Investigación para la Ciencia Evolutiva y Tecnología (CREST) y el Instituto Científico del Cerebro RIKEN, en Japón. Las mutaciones en un gen conocido que regula el metabolismo del ARN, la proteína de unión a ARN que produce el gen FUS/TLS, se han asociado con enfermedades neurológicas, concretamente en la ELA. No está claro si la patogénesis de la ELA está vinculada a una ganancia o pérdida de la función de FUS/TLS. En este estudio, el equipo de investigación estableció un modelo viable de ratón carente de FUS/TLS con el fin de determinar los efectos in vivo de la desaparición de FUS/TLS en el sistema nervioso central y su posible relación con la ELA. Así encontraron que los ratones adultos que carecen de FUS/TLS tienen anomalías en términos comportamentales y en la estructura cerebral que no están relacionados con los síntomas o el fenotipo de la ELA, lo que sugiere que la pérdida de la función FUS/TLS no es suficiente para causar la enfermedad. Estos animales mostraron hiperactividad, una disminución de la ansiedad y estructuras similares a vacuolas en el hipocampo cerebral. También encontraron alteraciones en la expresión génica y en el nivel del ARN (transcriptoma) de más de 100 genes, en los ratones que carecen de FUS/TLS, principalmente aquellos relacionados con el sistema nervioso

central, donde dos moléculas con especificidad de unión a ARN, TAF15 (un homólogo de FUS/TLS) y hnRNPA1 (una proteína de unión al ARN que se ha implicado en la ELA), se encontraron que estaban aumentadas. El equipo de investigación concluyó que la depleción de FUS/TLS provoca alteraciones en el metabolismo de ARN que conduce a alteraciones patológicas y del comportamiento que podrían ser importantes en enfermedades neurodegenerativas, pero no en la ELA.

REF: Kino Y, et al. "FUS/TLS deficiency causes behavioral and pathological abnormalities distinct from amyotrophic lateral sclerosis". *Acta Neuropathol Commun*. 2015 Apr 25;3(1):246.

LA MELATONINA ES NEUROPROTECTORA EN RATONES ELA

El tratamiento con melatonina, hormona de origen natural producida por la glándula pineal más conocida por su papel en la regulación del sueño, retrasa el inicio de los síntomas, aumenta la esperanza de vida e inhibe la pérdida de células nerviosas en el modelo de ratón SOD1, modelo de investigación de la ELA, según un estudio dirigido por Robert Friedlander de la Escuela de Medicina de la U. de Pittsburgh, donde evaluaron los efectos de la melatonina en ratones con ELA causada por una mutación en el gen SOD1. Los hallazgos fueron publicados online el 26 de marzo de 2013, en *Neurobiology of Disease*. Los investigadores encontraron que los niveles de melatonina en la médula espinal de ratones con ELA de 120 días de edad, se reducía significativamente en aproximadamente un 16 por ciento, en comparación con los niveles de melatonina en la camada de ratones sanos de la misma edad. Con una inyección sistémica diaria de melatonina durante 11 semanas, fueron capaces de restaurar los niveles de melatonina en los ratones con ELA a niveles comparables a los observados en los ratones no afectados. Para el estudio, los ratones se dividieron en dos grupos y, a partir de las seis semanas de edad, recibieron inyecciones intraperitoneales diarias ya fuese de melatonina en una dosis de 30 miligramos por kilogramo de peso corporal (grupo tratamiento) o de placebo (grupo control). Los investigadores, que no sabían qué ratones recibieron melatonina y cuáles recibieron

placebo, monitorizaron el peso corporal de los animales y realizaron pruebas neuroconductorales diseñadas para evaluar la fuerza muscular y la coordinación.

Los resultados del estudio mostraron que la melatonina retrasaba significativamente el inicio de la enfermedad y la muerte y que el tratamiento con melatonina era beneficioso tanto en etapas tempranas como en etapas tardías de la enfermedad en los ratones. Los ratones tratados con melatonina mostraron un inicio de la enfermedad a una edad media de 121,4 días, un retraso estadísticamente significativo del 10,1 por ciento sobre la edad media de aparición que se situó en 110,3 días para los ratones que recibieron placebo. La melatonina prolongó la esperanza de vida en un 7,4 por ciento (los ratones no tratados sobrevivieron un promedio de 136,7 días, mientras que los que recibieron melatonina sobrevivieron un promedio de 146,8 días). Los ratones que pertenecían al grupo que recibieron el tratamiento también mostraron un retraso significativo en la aparición de los síntomas motores relacionados con la enfermedad tales como temblor de las extremidades posteriores y alteraciones de la marcha. Los análisis además mostraron que los ratones tratados con melatonina tenían una menor pérdida de neuronas motoras que aquellos que recibieron placebo y que la pérdida de tejido en la médula espinal se reducía en los animales tratados con melatonina en comparación con sus homólogos tratados con placebo. Las propiedades neuroprotectoras asociadas con el fármaco parecen ser el resultado de la capacidad del compuesto para prevenir la activación del proceso de muerte celular llamado apoptosis. Determinaron que la melatonina causaba efectos beneficiosos en ratones a través de otro mecanismo, mediante el bloqueo de la liberación de proteínas, particularmente una denominada citocromo c, que activa la apoptosis. Aunque la melatonina está disponible para su compra sin necesidad de prescripción médica, sus efectos en personas con ELA aún se desconocen, por lo que se recomienda encarecidamente a los individuos no usarlo para tratar la ELA hasta que se demuestre que es seguro y eficaz en personas con la enfermedad. Además la administración de la medicación empleada en este estudio es distinta a la administración del compuesto sin prescripción médica por lo que se necesitan realizar más investigaciones para saber si la melatonina beneficiará a las personas con ELA. Siempre

se debe consultar al médico antes de agregar cualquier medicamento o suplemento nuevo a un plan de tratamiento.

REF: Zhang Y, et al. "Melatonin inhibits the caspase-1/cytochrome c/caspase-3 cell death pathway, inhibits MT1 receptor loss and delays disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis". *Neurobiol Dis.* 2013 Jul;55:26-35.
Madsen A. "Melatonin is Neuroprotective in ALS Mice". *MDA/ALS News Magazine.* 5 de Octubre de 2013. <http://alsn.mda.org/news/melatonin-neuroprotective-als-mice>

OXR1, UN ANTIOXIDANTE ESPECÍFICO NEURONAL, AUMENTA LA SUPERVIVENCIA EN UN MODELO EN RATÓN DE ELA

Si bien los mecanismos etiológicos subyacentes a la enfermedad permanecen sin comprenderse, muchos estudios han identificado al estrés oxidativo como una característica principal de la patogénesis en la ELA que contribuye a las lesiones de la neurona motora. Recientemente, la proteína de resistencia a la oxidación 1 (OXR1) ha surgido como un regulador importante de la supervivencia neuronal en respuesta al estrés oxidativo, encontrándose incrementada en la médula espinal de los pacientes con ELA. OXR1 es un gen altamente conservado, expresado a lo largo de todo el sistema nervioso central y que protege contra el daño inducido por estrés oxidativo.

En el artículo publicado en la revista *Brain* en mayo se prueba la hipótesis de que OXR1 es un factor neuroprotector clave en la patogénesis de la ELA al cruzar un nueva línea de ratón transgénico que sobreexpresa OXR1 en las neuronas, con el ratón modelo de ELA SOD1(G93A). Liu y sus colaboradores del departamento de Fisiología de la Universidad de Oxford en Reino Unido, demuestran que la sobreexpresión de OXR1 aumenta significativamente la supervivencia de la neurona motora, mejora la función motora, protege contra el estrés oxidativo y retrasa la patología en la médula espinal de los ratones SOD1(G93A). Además, OXR1 aumenta la fuerza muscular y retrasa la atrofia del músculo gastronemio y los cambios en la fibra del músculo estensor digitorum longus (EDL) de resistencia a la fatiga.

También encontraron mediante el análisis del transcriptoma de la médula espinal de ratones SOD1(G93A) que la sobreexpresión de OXR1

en las neuronas antes del inicio de los síntomas modifica la ELA mediada por SOD1 retransmitiendo significativamente la respuesta neuroinflamatoria de las células no-autónomas, la activación del sistema de complemento clásico y la activación de STAT3. Además, la sobreexpresión neuronal de OXR1 in vivo no tiene efectos adversos y no altera de forma nociva el transcriptoma de la médula espinal. En conjunto, estos datos proporcionan pruebas que identifican a OXR1 como el primer antioxidante específico neuronal modulador de las señales entre neuroinflamación y estrés oxidativo en la patogénesis neurodegenerativa y en la progresión de la ELA mediada por SOD1 y sugieren que OXR1 podría servir como una nueva diana para futuras estrategias terapéuticas.

REF: Liu KX, et al. "Neuron-specific antioxidant OXR1 extends survival of a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis". *Brain*. 2015 May;138(Pt 5):1167-81.

CAMBIOS EN EL SISTEMA DE SEÑALIZACIÓN ENDOCANNABINOIDE EN LAS ESTRUCTURAS DEL SNC DE RATONES TRANSGÉNICOS TDP-43: RELEVANCIA PARA UNA TERAPIA NEUROPROTECTORA EN ENFERMEDADES RELACIONADAS CON TDP-43

Debido a sus propiedades neuroprotectoras, se están investigando el efecto de los cannabinoides en enfermedades neurodegenerativas, principalmente en estudios preclínicos. Estas enfermedades incluyen también la ELA. Los estudios con cannabinoides en ELA hasta el momento, se habían realizado exclusivamente en un modelo de ratón transgénico que porta las formas mutadas de la superóxido dismutasa humana-1 (SOD1).

El estudio publicado en la revista *Journal of Neuroimmune Pharmacology* por Espejo-Porrás y colaboradores de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, España, representa el primer intento de investigación del sistema endocannabinoide en un modelo alternativo, el modelo de ratón transgénico de TDP-43, una proteína relacionada con la ELA y también con la demencia frontotemporal (DFT). El gen TARDBP codifica para TDP-43 que está implicada en el proce-

samiento, transporte y/o estabilidad del pre-ARNm. Las mutaciones en TDP-43 representan un tipo de proteinopatía caracterizada por la acumulación de TDP-43 en el citoplasma celular en forma de agregados proteicos. Los ratones transgénicos TDP-43 desarrollados recientemente, constituyen una herramienta esencial en el estudio de la ELA y de la DFT, y alternativa al ratón mutante SOD1 generado en los años 90. Los investigadores emplearon estos ratones para realizar una caracterización comportamental e histológica en una etapa temprana sintomática (70-80 días de edad) y en una etapa post-sintomática (100-110 días de edad) de la enfermedad. Los ratones transgénicos TDP-43 mostraron un peor rendimiento en el rotarod en ambas etapas, esto se acompañó por una pérdida de neuronas motoras en la médula espinal (medido por tinción de Nissl) y por microglia reactiva (medida por inmunotinción de la molécula adaptadora de unión a calcio ionizado tipo 1, Iba-1) en la etapa post-sintomática. También se detectaron niveles elevados del receptor endocannabinoide de tipo II (CB2), valorado mediante qRT-PCR y Western Blot, en la médula espinal de estos animales. Los estudios de doble tinción confirmaron que esta regulación se produce en las células microgliales en la etapa post-sintomática. Se observó también una tendencia hacia el aumento de los niveles de endocannabinoides, que en parte se correlacionan con una pequeña reducción de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH). Algunos de estos parámetros se analizaron también en la corteza cerebral de ratones transgénicos TDP-43, aunque no se observó ningún cambio significativo, de acuerdo con la ausencia de anomalías en las pruebas cognitivas.

En conclusión, estos datos apoyan la idea de que el sistema de señalización endocannabinoide, en particular el receptor CB2, puede servir para el desarrollo de una terapia neuroprotectora en enfermedades relacionadas con TDP-43. Además, la inhibición de FAAH podría ser también de interés para este propósito debido al hallazgo frecuente de un menor nivel de esta enzima en la médula espinal de los ratones transgénicos TDP-43 respecto a los controles. Incluso no se descarta la posibilidad de dirigir estrategias hacia el receptor CB1, ya que podría tener también un valor terapéutico a pesar de que los niveles de estos receptores no se encuentren alterados en los ratones transgénicos TDP-43. Es importante

destacar que la activación de los receptores CB1 no aportan beneficios en otras enfermedades neurodegenerativas debido a la frecuente pérdida de este receptor causado por la muerte neuronal, un hecho que no ocurre en los ratones transgénicos TDP-43.

Actualmente el grupo se encuentra inmerso en la realización de experimentos farmacológicos con diferentes compuesto endocannabinoides. Resultados preliminares muestran una recuperación significativa en el test con el rotarod con el compuesto agonista no selectivo WIN55,212-2, lo que requerirá confirmaciones futuras a nivel bioquímico e histopatológico.

REF: Espejo-Porras F, et al. "Changes in the endocannabinoid signaling system in CNS structures of TDP-43 transgenic mice: relevance for a neuroprotective therapy in TDP-43-related disorders". *J Neuroimmune Pharmacol.* 2015 Jun;10(2):233-44.

UNA VACUNA DESPIERTA EL SISTEMA INMUNOLÓGICO PARA LUCHAR CONTRA LA ENFERMEDAD DE MOTONEURONA EN RATONES

En la ELA, las neuronas motoras de la médula espinal necesitan protección, pero las células inmunes que se lo deberían proporcionar podrían estar bloqueadas fuera del sistema nervioso central. De acuerdo con un estudio publicado el 22 de abril en la revista *Journal of Neuroscience* por Michal Schwartz del Instituto de Ciencia Weizmann en Rehovot, Israel, la barrera es el plexo coroideo. Esta estructura epitelial constituye la frontera sangre - líquido cefalorraquídeo (LCR) y produce LCR. El plexo coroideo permite el paso a ciertos tipos de células T y macrófagos en ratones sanos pero no en ratones con ELA.

Los investigadores vacunaron ratones ELA con un fragmento de la glicoproteína de la mielina de oligodendrocitos (MOG), que es producida por células cerebrales. Esto proporcionó la llave hacia el plexo a las células T y los ratones sobrevivieron más tiempo. Se está intentando potenciar el sistema inmune para ayudar al cuerpo a curarse. Sin embargo, ese tratamiento en sí plantea preguntas, las células T también atacan a MOG en personas que tienen esclerosis múltiple, los científicos inducen un tipo de esclerosis múltiple en ratones inyectándoles MOG. MOG sería simplemente una manera adecuada de activar células T, y se piensa que un antígeno

diferente podría hacer lo mismo en las personas sin provocar esclerosis múltiple.

La respuesta inmune en la ELA comprende ambos componentes neuroprotector y neurotóxico. Aunque el sistema nervioso central es un órgano inmunoprivilegiado que se separa del torrente sanguíneo mediante la barrera hemato-encefálica, varios estudios indican que células T reguladoras y macrófagos anti-inflamatorios circulantes pueden entrar cuando son necesarios. Una vez en el cerebro, promueven respuestas protectoras.

El laboratorio de Schwartz ha postulado que entran a través del plexo coroideo, una estructura compuesta de las meninges más internas y el revestimiento de los ventrículos del cerebro, que envuelven los vasos sanguíneos que entran al cerebro. Otros científicos han sugerido que el plexo coroideo o las meninges permiten la infiltración de células inmunes. A lo largo de la vida, las células inmunes se filtran a través del plexo y pueblan el líquido cefalorraquídeo. Schwartz publicó que las células T promueven su propia entrada por la liberación de interferón- γ , que induce a las células del plexo coroideo a aumentar la expresión de quimioquinas y moléculas de adhesión que facilitan el paso de las células sanguíneas. Han encontrado que el plexo permite el tráfico de células inmunes extras después de lesión de la médula espinal. Y han propuesto que la puerta de entrada del plexo coroideo podría funcionar mal en las personas que tienen esta enfermedad neurodegenerativa, permitiendo que predominen las respuestas inmunes neurotóxicas.

Para investigar esta idea, examinaron el reclutamiento de células inmunes en la médula espinal de ratones ELA que expresan el gen humano mutante SOD1. Observaron por microscopía que macrófagos y células T reguladoras de la sangre raramente entraban en la médula. Por otra parte, el plexo coroideo de ratones mSOD1 contenían menos ARNm de interferón- γ que el plexo coroideo de los animales normales. La puerta estaba cerrada con llave en el modelo de ELA. Pensaron que si activasen las células T para producir interferón- γ , el plexo dejaría pasar a estas células. Para esta prueba de concepto, eligieron inyectar a los ratones con el fragmento de MOG, que habían utilizado antes para promover la recuperación de una lesión de la médula espinal en ratas. Efectivamente, las células T reguladoras y los macrófagos comenzaron a infiltrarse en el plexo coroideo y la médula espinal de los ratones inmunizados. Los ratones tratados perdieron tantas neuronas motoras como los ratones

mSOD1 inyectados con solución salina. Sin embargo, las neuronas que sobrevivieron eran más grandes y estaban más sanas en los animales inmunizados. Además de la prolongación de la vida de dos semanas, los ratones vacunados mantenían la fuerza de agarre durante más tiempo que los controles.

Las inyecciones de proteínas de la mielina de oligodendrocitos inducen encefalitis autoinmune experimental, un modelo de ratón de esclerosis múltiple. De hecho, los ratones vacunados mostraron una debilidad temporal similar a la esclerosis múltiple. Los autores utilizaron la escala de puntuación estándar EAE para evaluar los síntomas en los ratones tales como una cola floja y patas traseras débiles. Estos síntomas alcanzaron su punto máximo alrededor de dos semanas después de la inmunización, y luego comenzaron a declinar.

Schwartz está probando diferentes antígenos que despierten el sistema inmune sin estos efectos secundarios. Aunque la vacunación no se dirige directamente a la causa de la ELA, podría retrasar o detener la progresión en los pacientes. También, está investigando maneras de activar la respuesta inmune en modelos de Alzheimer. Stanley Appel del Instituto Neurológico Metodista de Houston, que no participó en el estudio, no está seguro de que sea el plexo coroideo la única entrada en el sistema nervioso de las células inmunes beneficiosas. A pesar de que el nuevo trabajo confirma hallazgos previos de que las células T reguladoras son protectoras, cuestionó el enfoque de vacunación para la ELA humana, incluso con un antígeno diferente. Todo lo que aumente el interferón- γ es probable que se asocie con encefalitis autoinmune experimental, y desencadene esclerosis múltiple. Appel y sus colaboradores en el grupo ALS Finding a Cure están intentando una manera diferente de promover una respuesta inmune neuroprotectora. Planean tomar las propias células T reguladoras de un paciente, expandirlas en el laboratorio, y luego transfundirlas de nuevo en la persona.

REF: Dance, A. "Vaccine Rouses Mouse Immune System to Fight Motor Neuron Disease". *The ALS Forum*. 1 de Mayo de 2015.

http://www.researchals.org/page/news/14541?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+127&utm_campaign=Newsletter+Vol+127&utm_medium=email

Kunis G, et al. "Immunization with a Myelin-Derived Antigen Activates the Brain's Choroid Plexus for Recruitment of Immunoregulatory Cells to the CNS and Attenuates Disease Progression in a Mouse Model of ALS". *J Neurosci*. 2015 Apr 22;35(16):6381-93.

SEGUNDO ESTUDIO MUESTRA A LA QUINASA 1 DE UNIÓN A TANK COMO UN GEN ELA

En febrero, se publicó que la quinasa 1 de unión a TAN podría ser un gen potencial de la ELA. Ahora, otro grupo de investigación ha llegado a la misma conclusión e incluso ha ampliado la asociación a la demencia frontotemporal. Como se indica en la revista online *Nature Neuroscience* del 24 de marzo. Los investigadores dirigidos por el autor principal Jochen Weishaupt en la Universidad de Ulm, en Alemania, identificaron mutaciones TBK1 en personas con ELA familiar. Globalmente, las mutaciones dominantes TBK1 constituyeron el 4 por ciento de los casos familiares de ELA examinados. En el estudio publicado anteriormente, las mutaciones TBK1 explicaban menos del 2 por ciento de la ELA, aunque eran principalmente casos de ELA esporádica, y no familiares.

Los primeros coautores examinaron los exomas de 252 personas con ELA familiar, descubriendo una delección TBK1 y seis mutaciones de pérdida del sentido de la traducción, que predijeron un producto proteico truncado. Encontraron otra mutación de pérdida de sentido en una persona dentro de un conjunto de 1.010 personas con ELA esporádica. Entre 4578 exomas control, se observó también una mutación de pérdida de sentido en una persona que tenía dos parientes con ELA. Se encontraron también ocho mutaciones TBK1 en otros 60.706 exomas de la base de datos del Consorcio de Agregación de Exomas, gestionados por el Instituto Broad en Cambridge, Massachusetts. Esta base de datos incluye varios exomas de estudios poblacionales y específicos de la enfermedad. Los autores especulan con que los portadores de la mutación podrían pertenecer a un conjunto de datos sobre esquizofrenia incluido en el consorcio, debido a que la ELA y la esquizofrenia se han relacionado en estudios familiares y genéticos.

En total, los investigadores identificaron ocho mutaciones TBK1 en 13 familias (algunas familias compartían la misma mutación). Examinaron la penetrancia de la enfermedad en siete de esas familias observando que treinta y tres portadores fueron diagnosticados con ELA, a una edad promedio de 60 años. Otras siete personas, a edades comprendidas entre 60 y 74 años, no han mostrado síntomas. En general, esto sugiere una alta penetrancia.

Aunque la mayoría de los miembros de la familia afectados tenían ELA, la mitad también mostraron signos de deterioro cognitivo, algunos claramente con demencia frontotemporal. También, se dispuso de muestras cerebrales de la autopsia de un miembro de la familia que había muerto poco después del diagnóstico. Esta persona tenía inclusiones TDP-43 positivas extensas, así como inclusiones que contienen p62, que interactúa con TBK1 y está codificada por el gen que codifica por la proteína del secuestrosoma 1, también relacionada con la ELA. ¿Cómo pueden causar las mutaciones TBK1 enfermedad de neurona motora? La proteína contiene un dominio quinasa, un dominio semejante a la ubiquitina y dos bobinas en espiral. Los autores predijeron que las mutaciones de pérdida de sentido se traducirían en la pérdida de la proteína. Efectivamente, cuando examinaron las líneas celulares derivadas de los pacientes con los truncamientos, observaron que los niveles de ARNm y de proteína TBK1 eran la mitad de los niveles normales. Los investigadores concluyeron que las mutaciones TBK1 probablemente provocan la enfermedad debido a la haploinsuficiencia de la proteína. La delección, que eliminó la mitad de la segunda bobina en espiral, produjo una proteína más pequeña. Esto permitió investigar qué parte de TBK1 podría ser crucial para la salud de las neuronas motoras. La bobina en espiral normalmente interactúa con proteínas adaptadoras, incluyendo la optineurina, relacionada también con la ELA. El mutante por delección no se unía a la optineurina, sin embargo, los otros dominios parecían funcionar, porque el TBK1 se unía y fosforilaba uno de sus sustratos, el factor 1 regulador de interferón. Los autores sospechan que la pérdida de la segunda espiral de la bobina sería suficiente para causar la enfermedad de la motoneurona, aunque no se ha probado aún en modelos celulares o animales.

REF: Freischmidt A, et al. "Haploinsuficiencia de TBK1 causa la ELA familiar y la demencia frontotemporal". *Nat Neurosci.* 2015 Mar 24.

PAPEL DE TREM2 R74H COMO FACTOR DE RIESGO PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, LA DEGENERACIÓN DEL LÓBULO FRONTOTEMPORAL, LA ELA Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.

Los factores genéticos contribuyen a la causa y a la progresión de muchas, si no todas, las enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, para la mayoría de los pacientes que sufren enfermedades como la enfermedad de Alzheimer (EA), la degeneración del lóbulo frontotemporal (DLFT), la ELA, y la enfermedad de Parkinson (EP), la contribución en la enfermedad no son el resultado de mutaciones causales en genes únicos, sino que tiene una arquitectura genética más compleja posiblemente resultado de una interacción entre múltiples factores de riesgo genéticos y no genéticos. Los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) en EA y EP han identificado variantes genéticas comunes que ejercen efectos de pequeños a moderados sobre 50 loci independientes, mientras que en la ELA y en la DLFT se han identificado pocos loci de riesgo, que sólo explican una fracción de la heredabilidad subyacente, por ejemplo, la proporción de la varianza fenotípica atribuible a factores genéticos. Como consecuencia, el objetivo de muchos proyectos en enfermedades neurodegenerativas se enfocan últimamente hacia la investigación de variantes raras que potencialmente ejerzan los mayores efectos.

Recientemente se publicó una variante rara en TREM2 (p.R47H, rs75932628) que incrementa el riesgo de la enfermedad de Alzheimer. Dado el papel relevante de TREM2 en neurodegeneración, estudios posteriores quisieron investigar los efectos potenciales sobre el riesgo de este polimorfismo en otras enfermedades neurodegenerativas como DLFT, ELA, y EP. Ninguno de estos estudios obtuvo resultados concluyentes, posiblemente debido a una potencia estadística insuficiente. El artículo publicado en *Alzheimer's and Dementia* en Abril por Lill del Instituto Max Planck de Genética Molecular en Berlín, Alemania y colaboradores analizaron exhaustivamente la asociación de TREM2 rs75932628 con estas enfermedades en 19,940 de sujetos previamente no tipados de descendientes europeos. Estos datos se combinaron mediante meta-

análisis con 28 conjuntos de datos publicados. Probaron si rs75932628 presentaba alguna asociación con la proteína beta amiloide (A β 42) y los niveles totales de la proteína tau en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de 828 individuos con EA o deterioro cognitivo leve. Los datos muestran que rs75932628 se asocia significativamente con el riesgo de EA en 24,086 casos de EA y 148,993 controles de descendientes europeos (odds ratio o OR=2.71, $p=4.67 \times 10^{-25}$). Sin embargo, no se encontraron evidencias consistentes entre este marcador y el riesgo de DLFT (OR=2.24, $P=0.0113$ en 2673 casos/9283 controles), EP (OR=1.36, $p=0.0767$ en 8311 casos/79,938 controles) y ELA (OR=1.41, $p=0.198$ en 5544 casos/7072 controles). Además, los portadores del alelo de riesgo rs75932628 mostraron un aumento significativo en los niveles de tau-total en LCR ($p=0.110$) pero no en A β 42 sugiriendo que TREM2 en EA podría ejercer sus efectos patogénicos al afectar la función de tau.

Los datos analizados se limitan a sujetos de descendientes europeos, no obstante, basándose con los datos disponibles actualmente, no parece claro si TREM2 rs75932628 desempeña un papel como un modificador de riesgo genético para la EA u otras enfermedades neurodegenerativas en poblaciones de descendientes no europeos, por lo que se requerirán estudios futuros para determinar el papel de TREM2 R47H (y posiblemente otras variantes de TREM2 asociadas a la enfermedad). Aunque el diseño y ejecución de ensayos clínicos para pacientes con deterioro cognitivo leve y EA que porten específicamente el alelo de riesgo TREM2 R47H puede ser impracticable debido a su baja frecuencia y al limitado número de individuos disponible, el estado portador de TREM2 R47H podría ser útil como variable en análisis estratificados en un contexto similar al propuesto para el alelo APOE $\epsilon 4$ en EA.

REF: Lill CM, et al. "The role of TREM2 R47H as a risk factor for Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration, amyotrophic lateral sclerosis, and Parkinson's disease". *Alzheimers Dement.* 2015 Apr 30.

IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES RARAS EN EL GEN DE LA PROTEÍNA DISULFURO ISOMERASA EN PACIENTES CON ELA.

La acumulación de proteínas mal plegadas es una característica común a muchas enfermedades neurodegenerativas y se ha publicado extensamente en casos de ELA esporádica y en la mayoría de modelos animales de la enfermedad. Estas especies pueden ser el resultado del daño oxidativo, del estrés del RE, de la alteración de la homeostasis de calcio y de fallos generales debido a la sobrecarga a la que se somete a los mecanismos de control de calidad y de eliminación proteica. El RE es el compartimento principal implicado en el plegamiento proteico y en el control de calidad de la ruta secretora. Aunque los mecanismos que subyacen a la patogénesis de la ELA siguen teniendo carácter especulativo se van acumulando pruebas de que la alteración de la proteostasis del retículo endoplásmico (RE) es una característica destacada de la ELA. Se ha publicado el aumento de las foldasas del RE de la familia de la proteína disulfuro isomerasa (PDI) en modelos de ratones con ELA y tejido del cordón espinal y los fluidos corporales derivados de casos de ELA esporádicos. Aunque los estudios in vitro sugieren un papel neuroprotector de los PDI en la ELA, la posible contribución de mutaciones genéticas de estas foldasas del retículo endoplásmico en el proceso de la enfermedad sigue sin conocerse. Curiosamente, recientemente se han publicado también algunas variantes intrónicas del gen PDIA1 como factores de riesgo para la ELA. Además, el análisis proteómico de biomarcadores en sangre de pacientes con ELA también ha establecido el aumento de los niveles proteicos de PDIA1 y ERp57 como uno de los mejores indicadores para el diagnóstico y la monitorización de la progresión de la enfermedad. Se ha encontrado que PDIA1 colocaliza con las inclusiones proteicas que contienen SOD1, TDP-43, y FUS en tejidos de pacientes con ELA, además de modelos celulares y murinos de la enfermedad, indicando posiblemente una asociación física entre ellos.

Basándose en la importancia de la alteraciones del RE en la ELA, Gonzalez-Perez de la Escuela de Medicina de la Universidad de Massachusetts en Worcester, EE.UU y su grupo examinaron mutaciones en dos genes principales PDI (PDIA1/P4HB y PDIA3/

ERp57) en una cohorte de Estados Unidos de 96 pacientes con ELA familiar y 96 pacientes con ELA esporádica utilizando secuenciación directa del ADN. A continuación, se analizaron estos dos genes utilizando secuenciación del exoma en 463 pacientes con ELA familiar y 445 pacientes con ELA esporádica procedentes de dos cohortes independientes. Se identificaron un total de nueve variantes de cambio aminoacídico (variantes missense) en PDIA1 y otras siete variantes de cambio aminoacídico en PDIA3 en 16 pacientes con ELA. Estos polimorfismos de un único nucleótido (SNP) nuevos y raros publicados en la revista *Gene* en julio se encuentran enriquecidos en los casos de ELA en comparación con un grupo numeroso de sujetos control mostrando una frecuencia de alrededor del 1% de los casos de ELA, aunque los investigadores no fueron capaces de realizar análisis estadísticos convencionales debido a que cada variante sólo se observó una vez en los casos con ELA.

Para definir el posible impacto y el mecanismo preciso por el que las variantes raras de PDI podría afectar a la función de la neurona motora y a la patogénesis de la ELA, el grupo investigador está desarrollando estudios funcionales y de este modo monitorizar los efectos de las mutaciones sobre la actividad enzimática de ERp57 y PDIA1, además de la interacción proteína-proteína. También están desarrollando animales transgénicos para definir si su expresión puede desencadenar los síntomas o modificar la progresión de la enfermedad.

REF: *Gonzalez-Perez P, et al. "Identification of rare protein disulfide isomerase gene variants in amyotrophic lateral sclerosis patients". Gene. 2015 Jul 25;566(2):158-65.*

NOVEDADES

AHORA PUEDO CONTROLAR EL ORDENADOR SIN LAS MANOS...

Escrito por Joaquín Romero, fundador de BJ adaptaciones y afectado de Esclerosis múltiple.



Una vez más vuelvo a encontrarme con una situación que empieza a ser familiar: saber cuándo debo acometer una determinada adaptación para prolongar mi autonomía.

En esta ocasión se trata del control alternativo del ordenador. Sabiendo que estoy perdiendo mi mano derecha, con la que manejo el mouse del ordenador, me alentaron a que fuera familiarizándome con el control mediante la mirada.

He de reconocer que al principio intenté olvidarme de este tema y continuar mi día a día tal y como venía haciéndolo.

Me he dado cuenta que debo adelantarme a la evolución de mi enfermedad, de esta forma aprovecharé todos los ratos libres para controlar mi ordenador a través de la mirada y así, en un futuro, podré utilizarlo sin mayores dificultades.

El Tobii PCEye Go, que es un sistema alternativo de acceso al ordenador a través de la mirada, fácil de usar, portátil y preciso.

Sólo necesito acoplar el PCEye al portátil, al monitor del pc o incluso en una tableta para empezar a utilizar todos los programas y funciones. Los equipos tienen que tener el sistema operativo Windows.



Inicialmente hice una calibración y configuré las opciones para adaptarlo a mis necesidades. Se puede hacer clic fijando la mirada y esperando un tiempo configurable o parpadeando. Luego guardas tu perfil y ya no tienes que hacer nada cuando accedes de nuevo. Con la mirada soy más rápido porque no tengo que desplazar el cursor por la pantalla, sino que aparece allí donde miro. Esto lo noto sobre todo cuando escribo en el teclado virtual. Puedes encontrar más información sobre este ratón en este enlace: <http://www.bj-adaptaciones.com/catalogo/acceso-al-ordenador/acceso-con-la-mirada/pceye-go>

Referencia:

BJ Adaptaciones
Tu Apoyo, tu tecnología
T. +34 93 285 04 37 | fax +34 93 553 56 34
www.bj-adaptaciones.com
Síguenos en:
www.facebook.com/bjadaptaciones
twitter.com/bjadaptaciones