

FUNDELA

Boletín Científico 47

El boletín de FUNDELA publica resúmenes y artículos científicos referentes a los últimos avances de la investigación tanto clínica (estudios farmacológicos, con células madre, epidemiológicos) como básica (genética, proteínas, vitaminas, modelos animales, estudios de laboratorio, biomarcadores, biología humana celular y patológica), 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

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

● **PUESTA A PUNTO DE UN ALGORITMO MOLECULAR DIAGNOSTICO EN PACIENTES CON ELA Y DEGENERACION LOBULAR FRONTOTEMPORAL**

● **PROYECTO DE EVALUACION Y REHABILITACIÓN EN ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA: TERAPIA OCUPACIONAL Y LOGOPEDIA**

● **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://http://www.fundela.es/colabora.asp?M=8>

Colaboradores voluntarios de este número:

Dr. Alberto García Redondo (Bioquímico, Unidad de ELA – Hospital 12 de octubre)
Dra. Elena Rodríguez García (Bioquímica – Voluntaria FUNDELA)
Dña. Isabel Gutiérrez Cobos (Voluntaria FUNDELA)
Dra. María Teresa Solas (Bióloga, Universidad Complutense)

Dr. Javier Mascías (Neurólogo, Unidad de ELA – Hospital Carlos III)
Dra. Teresa Salas (Psicóloga, Unidad de ELA - Hospital Carlos III)
Dr. Jesús S. Mora Pardina (Neurólogo, Director Unidad de ELA - Hospital Carlos III)

RESÚMENES DE ARTICULOS CIENTÍFICOS

ENSAYOS CLÍNICOS

FUTUROS TRATAMIENTOS EN ESTUDIO

17 EL PEZ CEBRA Y LA UNIÓN NEUROMUSCULAR

25 LOS DEPÓSITOS DE ARN PRODUCEN TOXICIDAD EN LA ELA QUE SE RELACIONA CON C9ORF72.

04 NEALS 2013: CONSORCIO AMERICANO EN ELA

10 EL USO DE ARN DE INTERFERENCIA EN LA ENFERMEDAD DE LOU GEHRIG TIENE ÉXITO TANTO EN MODELOS DE ENFERMEDAD EN RATÓN COMO EN MONOS

18 ¿LA PÉRDIDA DE FUNCIÓN DE SOD1 ESTÁ IMPLICADA EN EL DESARROLLO DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA?

NUEVOS RESULTADOS DE GENÉTICA

05 DEXPRAMIPEXOL VERSUS PLACEBO EN PACIENTES CON ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (EMPOWER): UN ESTUDIO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO, EN FASE 3

11 UNAS PROTEÍNAS QUE SE FABRICAN EN LABORATORIO PODRÍAN RESTAURAR LAS FUNCIONES CELULARES

19 LOS CIENTÍFICOS DEL CENTRO PACKARD EMPLEAN EL PEZ CEBRA PARA RELACIONAR LA PÉRDIDA DE LA FUNCIÓN DE C9ORF72 CON LA ELA

27 UNA MUTACIÓN - DOS ENFERMEDADES, EN UNA FAMILIA CON UNA EXPANSIÓN EN EL GEN DE LA ATAXINA 2

06 SE ESTÁ EVALUANDO MASITINIB EN EL TRATAMIENTO DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

ETIOPATOGENIA

20 SENTIDO, ANTISENTIDO: C9ORF72 FABRICA AMBAS FORMAS DE ARN Y ADEMÁS, PÉPTIDOS

28 LAS MUTACIONES EN ERBB4 QUE AFECTAN A LA RUTA DE LA NEUREGULINA-ERBB4 CAUSAN ELA DE TIPO 19

ESTUDIOS EN CLÍNICA

12 EL 11º CONGRESO ANUAL ENCALA RESALTA CÓMO SE EXTIENDE TDP-43 EN LA ELA

22 LAS NUEVAS NEURONAS EN CRECIMIENTO EN EL PEZ CEBRA REQUIEREN DOPAMINA

BIOMARCADORES

07 MIOGRAFÍA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA: ESTUDIOS EXPLORATORIOS EN PERSONAS SANAS Y PERSONAS CON ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES.

13 LA INHIBICIÓN DE CDC7 BLOQUEA LA FOSFORILACIÓN PATOLÓGICA DE TDP-43 Y LA NEURODEGENERACIÓN

23 EL RECICLAJE NEURONAL DETERMINA LA VULNERABILIDAD CELULAR ANTE LAS PROTEÍNAS MAL PLEGADAS

29 IMÁGENES EN EL CEREBRO SUGIEREN UN DESEQUILIBRIO DE NEUROTRANSMISORES EN LA ELA

08 EL AUMENTO DE HDAC4 EN ELA: SU PAPEL EN LA CAPACIDAD DE REINERVAÇÃO Y EN LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

15 ¿ES FUS EL CULPABLE DE LA NEURODEGENERACIÓN EN LAS NEURONAS SENSIBLES A DLFT Y ELA?

24 UN NUEVO MECANISMO RELACIONADO CON EL PLEGAMIENTO ERRÓNEO DE PROTEÍNAS PODRÍA RELACIONARSE CON LA ELA

30 MEJORES DIAGNÓSTICOS Y TEST PRONÓSTICOS, PASOS HACIA LA OBTENCIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO PARA LA ELA

09 ROMPIENDO LA BARRERA DEL ULTRASONIDO EN LA ELA

16 FUS UN REPARADOR DEL ADN DAÑADO

CLP1 RELACIONA EL METABOLISMO DEL ARNT CON LA DEGENERACIÓN PROGRESIVA DE LA NEURONA MOTORA.

31 NOTICIAS

TENEMOS MUCHO QUE HACER.

Ahora sí, siento la debilidad anunciada. Después de haber perdido la facultad de hablar... Cada día me levanto y noto que mi pierna derecha está tensa. Como un palo. Vuelvo a recostarme y procuro estirar los músculos en esa posición. Noto el dolor placentero cuando consigo desentumecer la pantorrilla pero de repente aparece el calambre y busco la postura opuesta que lo haga desaparecer. No lloro. Estoy tranquila. Continúo con los brazos, con las manos. El cuello y los hombros. Me atrevo y vuelvo a pisar el suelo de madera, un poco frío a esta hora de la mañana. La cortina se mueve con el aire que se cuela por la ventana abierta que ventila la habitación. La luz atraviesa el blanco y respiro hondo. Surgen las primeras ideas de lo que puedo hacer... Es un cambio enorme. Lo que puedo, no lo que debo, no lo que quiero. Cambia el tiempo y el verbo. Toda una proclamación de realidad. Pero consigo engancharme a un deseo posible y camino descalza y con cuidado hasta el baño. No hay prisa. No puedo tener prisa. Así es que acepto la lentitud como un lujo que muchos ambicionan y me doy una ducha caliente y larga. No debo distraerme del todo. Apoyo siempre una mano para no resbalar, pero el agua golpea mi cabeza, mis hombros y me envuelve en un ambiente húmedo y cálido, perfecto para relajarse. Para terminar el ritual, me seco con una toalla enorme color mostaza.

Camino apoyada en un bastón y despacio, concentrada en cada paso, pasito a pasito me da tiempo a revisar el dibujo de las aceras, los perros que acompañan o pasean a sus amos, el color de las hojas que ya van cambiando al rojo precioso de cada otoño. Cada hoja es una huella única. Me gusta recogerlas, pintarlas, tocarlas. Hoy, cielo azul y viento fresco. Noto como mis piernas pierden elasticidad. Podría caerme. ¡Ups! Tropezón pero, esta vez no he llegado al suelo y decido sentarme en un banco.

El bolso pesa muchísimo, las escaleras mecánicas me parecen diabólicas pero me sorprende buscando y disfrutando! la ayuda de los demás. Sin complejos, sin preocuparme si lo que les inspiró es pena. No quiero perderme cosas que hacer, que conocer, que disfrutar y ahora necesito el apoyo, su tiempo, la ayuda de muchos. Y ¿porqué no? Yo sonrío y no me reconozco en esa cara un tanto descolocada, pero siento la sorpresa que causa mi alegría. Es una forma nueva de sentirme bien. Dulce, sin ansiedad por conseguir nada. No puedo, así es que no corro. Y entonces todo tiene más volumen, más matices, más sonidos, más color. Y un paseo se convierte en un guion cinematográfico. Una conversación en un cuento delicioso. Y tener tiempo en un regalo, el mejor regalo de todos.

La vida no sería tan valiosa si fuese eterna en la versión de carne y hueso que conocemos. Y además está "el alma" enredando por el "puente de mando", el cerebro. Enfe medades como la que padecemos nos golpean ahí, en el centro mismo de lo que más importa, vivir. Precisamente porque su valor es tan alto, debemos aprovechar la perspectiva que tenemos ahora y vivirla lo mejor posible. No dejemos pasar la oportunidad de ser un poco más listos, un poco más generosos. Necesitamos a los demás. A los más cercanos que cargan con nosotros a diario, a los médicos, enfermeras, psicólogos, fisioterapeutas, logopedas. Todos sonriendo, pendientes y cálidos. Al vendedor del periódico, al portero que nos abre la puerta. Al funcionario que recoge el bastón cuando se nos cae y nos facilita la burocracia. El que entiende nuestro miedo y nos ofrece apoyo para cruzar una calle para bajar o subir peldaños. Los amigos que hacen ejercicios continuos de delicadeza al ayudarnos, sin hacernos sentir más dependientes, que se inventan razones para llevarnos de excursión, para cargar nuestro bolso o recoger la silla que mandamos arreglar. Y además están otros enfermos, los que sufren la misma enfermedad que nosotros y los que sufren otras. Algunas muy dolorosas.

Tenemos mucho que hacer los enfermos de ELA. Apoyar a los que trabajan en el estudio de esta enfermedad, a los que se organizan para facilitarnos la vida, los que tienen que cuidarnos cada día y cada noche, los que sufren con nosotros. De nosotros depende también que avance la investigación, que se encuentren soluciones a nuestras torpezas involuntarias, que los que nos ayudan lo hagan sin sentir tristeza y angustia. Tenemos que encontrar nuevas formas para disfrutar, para comunicarnos, para no dejar que nuestra movilidad magullada invada nuestra voluntad, nuestra dignidad.

Tenemos muchas cosas que hacer. Feliz un año más. Feliz vida. Porque estamos vivos y porque además estamos acompañados.

Isabel Gutiérrez Cobos
Paciente y voluntaria de FUNDELA

NOTA: próximamente les remitiremos boletín n 48, con información de los trabajos y avances mas relevantes del año 2013, expuestos en el ultimo Symposium Internacional en ELA/EMN, realizado en la ciudad de Milan.

ENSAYOS CLÍNICOS

NEALS 2013: CONSORSIO AMERICANO EN ELA

Actualmente se están probando más de 30 fármacos para la clínica de ELA. Sin embargo, sólo Rilutek de Sanofi (riluzol), fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para tratarla. Este fármaco prolonga la vida del paciente entre 2 y 3 meses.

El proceso de investigación en ELA va aumentando año tras año y los investigadores están trabajando incansablemente para desarrollar un tratamiento más efectivo para la ELA. Sólo en 2013, al menos han entrado en clínica 10 nuevas terapias.

En EE.UU. hubo una reunión de neurólogos investigadores en ELA en el congreso anual del Northeast ALS Consortium (NEALS) para discutir las últimas estrategias para el estudio de potenciales tratamientos para la ELA y la aplicación de los que se van desarrollando.

Neuralstem

Neuralstem pretende frenar la pérdida de las neuronas motoras en personas con ELA estimulando los niveles de sustancias neuroprotectoras. La terapia potencial requiere fármacos antirrechazo.

Se ha puesto en marcha un ensayo clínico en fase II de Neuralstem con terapia con células madre para la ELA. Las células madre neurales derivadas de embriones humanos se introducirán quirúrgicamente en la región cervical (que controla el movimiento del diafragma) de la médula espinal de personas con ELA esperando que protejan a las neuronas que se necesitan para respirar. Se inyectarán al menos 200.000 células madre neuronales en 10 inyecciones en la región C3-C5 en uno o ambos lados de la médula pensando que puedan cubrir la mayor parte de las neuronas motoras.

El objetivo del estudio es determinar el número máximo de células que pueden administrarse con seguridad para tratar potencialmente la ELA.

NeuRX DPS

El dispositivo, NeuRX DPS tiene como finalidad ayudar a las personas con ELA a mantener la respiración más tiempo mediante el acondicionamiento eléctrico de los músculos respiratorios. Los ultrasonidos neuromusculares podrían permitir a los médicos identificar personas con ELA idóneas para recibir el NeuRX DPS – sin la incomodidad y el dolor asociados a menudo con

la electromiografía (EMG).

El ensayo clínico en fase II que se está llevando a cabo tiene el objetivo determinar si el NeuRx DPC mejora la función del diafragma en personas con ELA con dificultades para respirar (FVC: 45-50%). Uno de los objetivos clave es identificar los parámetros que ayuden a los médicos a identificar a los pacientes que puedan beneficiarse del procedimiento. Las pruebas preoperatorias no reflejan necesariamente la capacidad de los músculos respiratorios para acondicionarse. Una de cada cinco personas con ELA se despertará en la sala de recuperación sin el dispositivo porque su diafragma no puede ser estimulado, de acuerdo con estudios preliminares.

Pero el estudio es sencillo y el NeuRx DPS está aprobado por la FDA para su uso compasivo y las personas que están recibiendo el cuidado estándar (ventilación no invasiva) no serán tratados con este dispositivo.

Gilenya

Se ha puesto en marcha un ensayo clínico en fase II con Gilenya. Los inmunomoduladores que incluyen Gilenya tienen como objetivo atrasar la ELA reduciendo la inflamación. Frecuentemente se emplean para tratar esclerosis múltiple y reducirían la progresión de la ELA reduciendo la infiltración de linfocitos T efectores, claves en el desarrollo de la inflamación – y posteriormente del daño al nervio motor. Gilenya también podría incrementar la circulación de linfocitos T reguladores, que a su vez podrían ayudar a mantener la inflamación controlada al menos en fases iniciales de la enfermedad.

Las personas con ELA serán monitorizadas durante el primer día del estudio para buscar signos de descenso leve en la frecuencia cardíaca. Existe una posible complicación potencial, conocida como bradicardia, que se produce en menos del 0,5% de personas que están tomando la medicación. El objetivo del estudio es determinar la seguridad y tolerabilidad de Gilenya.

Actemra

Este inmunomodulador, actualmente empleado para tratar artritis reumatoide, tiene como objetivo frenar la progresión mediante la reducción de la producción de sustancias proinflamatorias que podría más tarde dañar el nervio motor. El objetivo del estudio puesto en marcha es determinar la seguridad y tolerabilidad de Actemra en personas con ELA debido a que la señalización de IL-6, bloqueada por Actemra, podría también ser necesaria para

reparar y regenerar los músculos dañados en personas con ELA.

Mientras tanto, los médicos están buscando otros inmunosupresores como tratamiento potencial de la enfermedad. Los fármacos antirrechazo que incluyen CellCept de Genentech (mofetil micofenolato) y Prograf de Astella (tacrolimus) son los mismos que se prescriben a personas que participan en ELA en el ensayo en curso con terapia con células madre potenciales de Neuralstem.

Se está desarrollando un ensayo clínico en fase II con un régimen con múltiples fármacos que incluyen inyecciones intravenosas de Simulect de Novartis (basiliximab) y metilprednisolona durante la primera semana, reduciendo la prednisolona a lo largo del primer mes, y después CellCept de Genentech y Prograf de Astella durante 6 meses. Los resultados finales se esperan para 2015.

Los fármacos antirrechazo, sin embargo, de acuerdo con los resultados en Fase I ya terminada, no es tolerada adecuadamente por algunas personas con ELA.

Ejercicio Físico

Parece que algunas formas de ejercicio son seguras para personas con ELA de acuerdo con un ensayo clínico en marcha. Se está evaluando formas de ejercicio moderado aeróbico y de resistencia - bicicleta estática y levantamiento de pesas - para compararlos con los ejercicios de amplitud de movimiento (ROM) de un cuidado estándar.

El estudio tiene como objetivo determinar qué ejercicios son los más útiles para personas con ELA. Hasta el momento no se han observado efectos secundarios importantes producidos por ninguna de las rutinas de ejercicio que se han adaptado a cada persona con ELA.

Arimoclomol

Los resultados iniciales del ensayo clínico en fase II/III con arimoclomol podrían publicarse en otoño de 2014. Arimoclomol, desarrollado por CytrX, tiene como finalidad frenar la progresión de la ELA al reducir los niveles de la superóxido dismutasa I (SOD1) mal plegada. Su acumulación contribuye potencialmente a la ELA - al menos en ciertas formas de enfermedad familiar.

Referencia:

Pflumm, M. "NEALS 2013: ALS, North by Northeast". ALS TDI Meeting Report. 23 de Octubre de 2013. <http://blogs.als.net/post/2013/10/23/NEALS-2013-ALS-North-by-Northeast.aspx>

DEXPRAMIPEXOL VERSUS PLACEBO EN PACIENTES CON ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (EMPOWER): UN ESTUDIO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO, EN FASE 3

Aunque se han realizado muchos progresos en la comprensión de la esclerosis lateral amiotrófica, no existe ningún modelo unificado que explique la patofisiología de la enfermedad. Además, la identificación de dianas terapéuticas continúa siendo un reto importante. La mitocondria es un productor de energía clave para neuronas que están implicadas en varias enfermedades neurodegenerativas como por ejemplo la esclerosis lateral amiotrófica. Se piensa que el dexpramipexol aumenta la función mitocondrial, es activo en ensayos in vitro de neuroprotección y conduce al aumento de las tasas de supervivencia y retención de la función motora en modelos in vivo de esclerosis lateral amiotrófica.

Los resultados de estudios preclínicos favorables en fase II proporcionaron las bases para evaluaciones más extensas. El objetivo del artículo publicado en la revista *Lancet Neurology* el 20 de Septiembre por Cudkowicz y colaboradores (entre ellos el **Dr. Mora del Hospital Carlos III de Madrid**), fue evaluar la eficacia y seguridad de dexpramipexol en un ensayo en fase 3 en pacientes con enfermedad tanto familiar como esporádica. El ensayo ha sido patrocinado por Biogen Idec, empresa que también se implicó en el diseño y ejecución del ensayo (recogida y análisis de los datos), en la generación de las tablas estadísticas y en la interpretación del estudio.

Antecedentes

En un estudio fase II el dexpramipexol (25-150 mg dos veces al día) fue bien tolerado por un periodo de hasta 9 meses y la dosis alta mostró un beneficio significativo en una valoración combinada de funcionalidad y mortalidad en pacientes con ELA. El objetivo era valorar la eficacia y seguridad del dexpramipexol en un ensayo fase III en pacientes con enfermedad esporádica o familiar.

Métodos

Ensayo fase III randomizado, doble-ciego y controlado con placebo (EMPOWER), se reclutó participantes con edades comprendidas entre 18 y 80 años (con inicio de síntomas 24 meses o menos antes de la visita basal) en 81 centros médicos de 11 países. Se asignó aleatoriamente a los pacientes candidatos (1:1) tratamiento con dexpramipexol 150 mg dos veces al día o place-

bo durante 12-18 meses mediante un sistema centralizado interactivo de voz en línea, estratificado por centro, región de inicio de la enfermedad (bulbar u otras) y uso previo de riluzol. La variable primaria de eficacia fue la puntuación de la valoración combinada de funcionalidad y supervivencia (CAFS), basada en los cambios en la puntuación total de la escala ALSFRS-r y el tiempo hasta el fallecimiento hasta los 12 meses. Se valoró la variable primaria en todos los participantes que tomaron al menos una dosis y tuvieron al menos una medición de la ALSFRS-r postdosis o fallecieron. Se monitorizó los eventos adversos en todos los participantes. Este estudio está registrado en ClinicalTrials.gov con el número NCT01281189.

Resultados

Entre el 28 de marzo y el 30 de septiembre de 2011 se reclutó 943 participantes (474 con dextramipexol, 468 con placebo y un abandono). Las puntuaciones medias de la CAFS a los 12 meses no se diferenciaron en el grupo tratado (puntuación 441.76, 95% IC 415.43-468.08) respecto al grupo placebo (438.84, 412.81-464,88; $p=0.86$). A los 12 meses no observamos diferencias en la media de variación desde la puntuación basal de la ALSFRS-r (-13.34 en el grupo de dextramipexol vs -13.42 en el grupo placebo; $p=0.90$) ni en el tiempo hasta el fallecimiento (74 [16%] vs 79 [17%]; riesgo relativo 1.03 [0.75-1.43]; $p=0.84$). 37 pacientes (8%) en el grupo tratado desarrollaron neutropenia en comparación con 8 (2%) en el grupo placebo, y la incidencia de otros efectos adversos fue similar entre los dos grupos.

Interpretación

El dextramipexol fue bien tolerado en general pero no mostró diferencias con el placebo en ninguna de las variables de eficacia predeterminadas. El ensayo puede mejorar el diseño de futuras estrategias de investigación clínica en la ELA.

Referencia:

Cudkovic ME, et al. "Dextramipexole versus placebo for patients with amyotrophic lateral sclerosis (EMPOWER): a randomised, double-blind, phase 3 trial." *Lancet Neurol.* 2013 Nov;12(11):1059-67.

SE ESTÁ EVALUANDO MASITINIB EN EL TRATAMIENTO DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

AB Science SA, una empresa farmacéutica especializada en investigación, desarrollo y marketing de inhibidores de proteín-quinasas (PKIs), anunció el inicio del desarrollo de un programa clínico con masitinib en el tratamiento de la ELA. El desarrollo clínico de masitinib en ELA empezó con un estudio clínico en fase II que supuso la inscripción de 45 pacientes. Las autoridades sanitarias estuvieron de acuerdo de transformar el ensayo en fase II a uno de fase III, con el reclutamiento adicional de 210 pacientes. La resolución de este estudio que se ha centralizado inicialmente en el **Hospital Carlos III de Madrid, España**, se espera hacia finales de 2015. Este estudio en fase III prospectivo, multicéntrico, aleatorio, doble-ciego, controlado con placebo de grupos paralelos para comparar la eficacia y seguridad de masitinib versus placebo en el tratamiento de pacientes que sufren ELA. El tratamiento se administrará como tratamiento complementario a pacientes que han sido tratados con una dosis estable de riluzole. El estudio tiene como objetivo la evaluación del efecto de masitinib sobre la discapacidad funcional de los pacientes evaluada mediante la escala de calificación funcional de la esclerosis lateral amiotrófica (ALSFRS).

En este estudio, se asume que los mastocitos, claves en la inmunidad celular, participan activamente en la patogénesis de la ELA, a través de la liberación de mediadores que mantienen la red inflamatoria del sistema nervioso central. Los mastocitos, que están presentes en grandes cantidades en el cerebro y en la médula espinal, podrían también influir en la supervivencia y en la función de la neurona motora y participar en la patofisiología de la ELA. Desde que se sabe que masitinib es un inhibidor selectivo de c-Kit y Lyn, dos quinasas que juegan un papel decisivo en la supervivencia y activación de los mastocitos, podría tener efectos positivos sobre los síntomas de la patología.

Masitinib se evaluó en otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple. Aunque su mecanismo original de acción se dirige a los mastocitos y procesos inflamatorios, masitinib representa una terapia potencialmente innovadora en enfermedades neurodegenerativas con necesidades médicas no cubiertas.

Sobre Masitinib

Masitinib es un inhibidor administrado oralmente

de tirosín quinasas que se dirige a los mastocitos, células importantes en la inmunidad, así como a un limitado número de quinasas que desempeñan papeles claves en varios cánceres. Debido a su actividad inhibiendo algunas quinasas que son esenciales en algunos procesos oncogénicos, masitinib puede tener efecto en regresión tumoral, sólo o en combinación con quimioterapia. A través de su actividad en los mastocitos y algunas quinasas esenciales en la activación de células inflamatorias y en el remodelado de tejido fibrótico, masitinib también podría tener efecto en los síntomas asociados con enfermedades inflamatorias y del sistema nervioso central.

Sobre AB Science

Fundada en 2001, AB Science es una empresa farmacéutica especializada en la investigación, desarrollo y comercialización de inhibidores de proteínas quinasas (PKIs), una clase de moléculas objetivo cuya acción es modificar las rutas de señalización dentro de las células. A través de estas PKIs, la empresa se dirige a enfermedades con unas necesidades médicas no cubiertas (cáncer, enfermedades inflamatorias, y enfermedades del sistema nervioso central), tanto en medicina humana como veterinaria. AB Science ha desarrollado una extensa cartera de moléculas y el compuesto líder de la compañía, masitinib, ha sido registrado en medicina veterinaria en Europa y en USA y se está evaluando en nueve estudios en fase III en desarrollo en medicina humana en GIST, melanoma metastático que expresa la mutación JM en c-Kit, melanoma múltiple, mastocitosis, asma persistente severo, artritis reumatoide, enfermedad de Alzheimer y formas progresivas de esclerosis múltiple. La compañía tiene su sede principal en Paris, Francia y cotiza en bolsa en Euronext Paris.

Referencia:

"Masitinib is Being Investigated in the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)". *The Wall Street Journal*. 4 de Noviembre de 2013.

ESTUDIOS EN CLINICA

MIOGRAFÍA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA: ESTUDIOS EXPLORATORIOS EN PERSONAS SANAS Y PERSONAS CON ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES.

La miografía de impedancia eléctrica (EIM) es una técnica nueva que está siendo estudiada para ver si es útil en la evaluación de enfermedades musculares y nerviosas. EIM utiliza una corriente eléctrica leve, indolora que viaja a través del músculo. Los investigadores quieren adquirir experiencia en el uso de dispositivos EIM e intentar correlacionar su uso con otras técnicas de ultrasonido muscular y electrodiagnóstico. Recogiendo información de los resultados tras el uso en personas con y sin enfermedades nerviosas y musculares y comparándolas con otras pruebas estándar. Primero, se probará el dispositivo en personas sanas y a continuación se probará en personas con distintas enfermedades neuromusculares. El estudio incluirá 100 voluntarios sanos y 100 sujetos con enfermedades neuromusculares. Serán adultos, niños, voluntarios sanos y sujetos con enfermedad neuromuscular. Inicialmente se evaluará la EIM en voluntarios sanos. Puesto que la principal ventaja de la EIM es que no es invasiva y es indolora, será evaluada en población infantil.

Los estudios se realizarán en centros ambulatorios. Los voluntarios sanos serán evaluados por EIM siempre que sea posible con ultrasonido y métodos electromagnéticos. Una sesión única de 3 horas o menos. Se repetirán los estudios para establecer la reproducibilidad una vez que los estudios iniciales se completen. Para los sujetos con enfermedades neuromusculares, los estudios se realizarán en una única sesión ambulatoria de 3 horas o menos, sin un estudio de seguimiento como se solicita al primer grupo. Para niños, la sesión será de 2 horas o menos. Este protocolo exploratorio de uso de dispositivos EIM tiene como objetivo obtener los valores normales de laboratorio para EIM con voluntarios sanos. Para sujetos con enfermedades neuromusculares el objetivo es entender los valores de EIM como un tipo de biomarcador para diferentes enfermedades neuromusculares. De este modo se podrá incorporar EIM a los ensayos clínicos como biomarcador aunque no esté dentro del ámbito de los protocolos actuales. Como resultado secundario, se estu-

diará la correlación entre EIM, el ultrasonido y otros métodos electrodiagnósticos

Referencia:

"*Electrical Impedance Myography: Exploratory Studies in Healthy People and People With Neuromuscular Disorders.*" *Critical Trials* gov. Julio 2013.

http://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01900132?term=EIM&rank=4&utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+94&utm_campaign=ALS+Forum+Newsletter&utm_medium=email

EL AUMENTO DE HDAC4 EN ELA: SU PAPEL EN LA CAPACIDAD DE REINERVAIÓN Y EN LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

Aunque la ELA usualmente progresa rápidamente, algunos pacientes con ELA pueden sobrevivir más de 10 años. Se definen como supervivientes de ELA a largo tiempo, a aquellos pacientes que viven libres de traqueotomía durante 5 años después del inicio de los síntomas, y representan el 14% de la población total de ELA según estudios recientes.

En la ELA, a continuación de la pérdida de neuronas motoras funcionales se produce una reinervación compensatoria colateral de las fibras musculares denervadas por las restantes neuronas motoras. Cuando la enfermedad progresa, la compensación falla conduciendo a la progresiva debilidad muscular. Se ha sugerido un papel crucial de la histona deacetilasa 4 (HDAC4) y su regulador el microARN (MIR206) en la reinervación compensatoria y en la progresión de la enfermedad.

En el trabajo de Bruneteau publicado en la revista *Brain* en Julio de 2013 se investiga si la ruta mir206-HDAC4 juega un papel en la reinervación compensatoria muscular en pacientes con ELA. Estudiaron la reinervación muscular empleando imágenes confocales de alta resolución de la unión neuromuscular en muestras musculares de 11 pacientes con ELA, 6 de rápida progresión y 5 supervivientes a largo tiempo. Mostraron una asociación entre una mayor reinervación compensatoria en el músculo con la preservación de la función motora y una baja tasa en la progresión. Cuando analizaron la expresión de genes candidatos implicados en el proceso de reinervación encontraron un aumento de la HDAC4 muscular que podría desempeñar un papel clave en la reinervación muscular y progresión en pacientes con ELA.

El ARN mensajero de HDAC4 está moderadamente elevado en pacientes con ELA cuando se compara con los controles, pero es significativamente más alto en pacientes con progresión rápida de la enfermedad, mientras que en supervivientes a largo tiempo de ELA no existía inducción de HDAC4. Además, los niveles de transcritos de HDAC4 muscular se correlacionaban positivamente con la tasa de progresión de la enfermedad durante el seguimiento. Observaron una correlación positiva entre los niveles de transcritos de HDAC4 muscular y los niveles inducidos de CHRNA1 y CHRNG, considerados como marcadores de denervación debido a la re-expresión del receptor de la isoforma fetal a través de las fibras musculares denervadas. Por otro lado, los transcritos de mir206 y FGFBP1 se encontraban aumentados en los pacientes con ELA, pero la diferencia entre los dos grupos de enfermos no era estadísticamente significativa. El primer resultado positivo de este estudio es la demostración de que la preservación de la función motora en el tiempo no se asocia a una mayor proporción de uniones neuromusculares normales, pero sí con una mayor reinervación compensatoria en el músculo. Aunque los datos sugieren fuertemente que la HDAC4 es un factor deletéreo en la reinervación muscular en pacientes con ELA, se necesitan más estudios para elucidar el modo en el que actúa negativamente en el proceso de reinervación. Se ha visto que HDAC4 inactiva el potenciador del factor de transcripción muscular específico de miocito 2 y puede además reprimir la expresión génica estructural del músculo que podría conducir a defectos en la contracción. La HDAC4, de este modo podría ser una nueva diana potencial para futuros tratamientos. De forma consistente la tricostatina A, uno de los más potentes inhibidores de HDAC se ha visto recientemente que retrasa la progresión de la enfermedad e incrementa la supervivencia cuando se administra a ratones con ELA después del inicio de la enfermedad. Interesantemente, la administración de tricostatina A incrementa el número de uniones neuromusculares plenamente inervadas y reduce la atrofia muscular. La inhibición de HDAC4 por inhibidores específicos podría ser una aproximación terapéutica prometedora para aumentar el rendimiento motor y la lenta progresión en pacientes con ELA

Referencia:

Bruneteau, G et al. "Muscle histone deacetylase 4 upregulation in amyotrophic lateral sclerosis: potential role in reinnervation ability and disease progression". *Brain* 136; 2359-2368.

ROMPIENDO LA BARRERA DEL ULTRASONIDO EN LA ELA

Más de 30 medicamentos potenciales para la ELA se están testando en clínica. Pero muchas personas no tienen acceso a ellos – esperando un diagnóstico definitivo de la enfermedad. Un creciente grupo de neurólogos esperan cambiar esto volviendo a utilizar métodos electrofisiológicos que incluyen la electromiografía (EMG) para revisar señales subclínicas de ELA. La estrategia, basada en los criterios Awaji, ayudaría a los médicos a consolidar el diagnóstico de ELA mediante la evaluación de las fasciculaciones del músculo – un síntoma temprano de la enfermedad. La técnica según algunas estimaciones podría incrementar el número de personas candidatas para ensayos clínicos en un 25%. Pero la evaluación de los músculos por EMG puede doler. Y el test puede no detectar signos clave de la enfermedad. Algunos médicos sospechan que los ultrasonidos podrían permitirles mirar dentro de los músculos de las personas con sospecha de ELA y confirmar si estos pacientes tienen la enfermedad. La técnica no invasiva, conocida como ultrasonido neuromuscular (NMUS), podría identificar signos claves de ELA en el músculo y nervios motores y evaluar si el músculo se contrae de forma adecuada, sin el daño que provoca el EMG.

Actualmente, se está llevando a cabo un ensayo clínico en la Facultad de Medicina de la Universidad Duke para intentar comparar las dos técnicas y ver cómo es de bueno el ultrasonido en el diagnóstico.

Hacia el diagnóstico de ELA.

El neurólogo Francis Walker de la Facultad de Medicina de la Universidad Wake Forest se acercó a NMUS en los años 80 con la esperanza de mejorar el diagnóstico de las enfermedades neuromusculares. La técnica puede permitir a los médicos evaluar grandes áreas de músculo para buscar signos de atrofia y debilidad y analizar su función. Encontró que NMUS parecía superar a la EMG en la identificación de fasciculaciones en personas con enfermedades neuromusculares – incluidas 2 personas con ELA.

La técnica de acuerdo con estudios más recientes dirigidos por el neurólogo Satoshi Kuwabara del Hospital Universitario Chiba parece detectar convulsiones en el 98% de personas con ELA – 10% más que EMG. Además, parece que NMUS permite a los mé-

dicos diagnosticar más personas sospechosas de tener la enfermedad. Cerca del 80% de las personas se diagnosticaron como ELA probable o definitivo – dos veces el número identificado mediante los criterios de El Escorial usando métodos convencionales de la clínica y un 5% más que según los criterios Awaji usando EMG. Los resultados sugieren que NMUS podría permitir diagnosticar a más personas – permitiéndolas participar antes en ensayos clínicos con fármacos durante el curso de su enfermedad.

Volviendo al nervio

Con la aparición de máquinas de ultrasonido de alta resolución, los médicos empezaron a examinar los nervios periféricos de personas con ELA para buscar signos adicionales de la enfermedad. Los resultados sugieren que indicadores de cambios en el tamaño de los nervios motores podrían ayudar a identificar a personas con ELA. Podría ayudar a descartar enfermedades que a menudo se confunden con la enfermedad. Los nervios motores típicamente son mayores en personas con polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP) y neuropatía motora multifocal (MMN). En personas con ELA, los nervios motores se encogen ligeramente.

Ahora se está probando la NMUS para determinar si la técnica puede ser utilizada para identificar personas con ELA – altamente sospechosas de tener la enfermedad. Se analizarán signos de atrofia y debilidad (incremento de fibrosis) en músculos de brazos, piernas y lengua. Y, en los nervios de brazos y piernas se analizarán signos de daño axonal (reducción de tamaño).

Todos los participantes serán examinados de forma periódica durante un año mediante NMUS para determinar si estos signos pueden usarse para monitorizar la enfermedad. Se piensa que la gran promesa de los ultrasonidos está en los ensayos clínicos ya que realmente podría ayudar en el diseño de los ensayos. Se está desarrollando un ensayo clínico en colaboración con el neurólogo Rick Bedlack, director de la Clínica de ELA de Duke en el que se espera que participen 50 personas con ELA.

Un futuro brillante

El Dr. Sigrid Pillen, neurólogo de UMC St Radboud en la Universidad de Nijmegen, volvió a emplear el NMUS en el 2000 para ayudar a identificar personas jóvenes con enfermedad neuromuscular. Su estrategia implica la búsqueda de cambios en la arquitectura muscular,

que parece ayudar a identificar a niños con enfermedades neuromusculares que incluyen la atrofia muscular espinal y la ataxia de Friedreich. Y las distingue de otras enfermedades musculares o nerviosas (miopatías o neuropatías) con una seguridad del 90%.

Sospechan que estas mismas técnicas podrían utilizarse para mejorar el diagnóstico de ELA. Publicado en 2008, los médicos encontraron que NMUS parece que identifican signos clave de atrofia muscular y debilidad (incremento de fibrosis) y convulsiones puntuales en la mayoría de las personas con ELA.

En 2012, el equipo propuso una nueva estrategia para incrementar la seguridad del diagnóstico de ELA. El plan: identificar fasciculaciones en al menos cuatro músculos e incremento de fibrosis (ecogenicidad muscular) en dos músculos. La técnica parece identificar personas con ELA con una seguridad del 96%, y descartar ELA con una seguridad del 84%.

Actualmente, un creciente número de neurofisiólogos están empleando métodos combinados para identificar personas con ELA. La estrategia reduce el número de músculos que necesitan ser analizados empleando métodos electrofisiológicos – incluyendo la EMG. Se necesita, sin embargo, determinar si la enfermedad es primariamente una enfermedad nerviosa.

Se emplea el ultrasonido para incrementar la certeza en el diagnóstico y excluir otras enfermedades. El que NMUS sólo pueda ser usado para incrementar la certeza del diagnóstico de ELA permanece como una pregunta abierta. NMUS podría permitir distinguir personas con ELA de otras enfermedades aparentemente similares incluyendo la paraparesia espástica hereditaria (HSP). Pero otras enfermedades, incluidas la enfermedad de Kennedy y la neuropatía multifocal motora (MMN) permanecen sin analizarse.

Y también se necesitan estandarizar las pruebas. Los sonógrafos pueden visualizar cambios en el tamaño de los músculos. Pero estimar el grado de fibrosis (ecogenicidad muscular) es más delicado. Las medidas pueden diferir de persona a persona y de máquina a máquina. Se necesitan ensayos multicéntricos para evaluar rigurosamente NMUS en los ensayos clínicos. Y, para establecer reglas generales estándares para implementar NMUS en la práctica general.

Los médicos sin embargo siguen confiando en que esta tecnología podrá ser muy beneficiosa para las personas con ELA. Los ultrasonidos podrían ser una excelente herramienta para reducir los análisis invasivos e incrementar la

potencia de los ensayos clínicos.

En el futuro los médicos esperan usar NMUS para evaluar el diafragma en personas con ELA – reduciendo las pruebas necesarias para determinar si el NeuRx DPS podría ser beneficioso para ellos.

Referencia:

Pflumm, M. "Breaking the ultrasound barrier in ALS". ALS TDI. 26 de Agosto de 2013.

FUTUROS TRATAMIENTOS EN ESTUDIO

EL USO DE ARN DE INTERFERENCIA EN LA ENFERMEDAD DE LOU GEHRIG TIENE ÉXITO TANTO EN MODELOS DE ENFERMEDAD EN RATÓN COMO EN MONOS

Se han realizado importantes progresos con el fin de desarrollar una terapia viral que consiga silenciar un gen que falla en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). En el Molecular Therapy online del 6 de Septiembre, el primer autor Kevin Foust de la Universidad del Estado de Ohio en Columbus y sus colaboradores publicaron que ellos habían conseguido eliminar la expresión del gen de la superóxido dismutasa (SOD1) relacionado con la ELA, tanto en ratones como en primates no humanos. El tratamiento podría aplicarse a personas con mutaciones en SOD1, y posiblemente en casos esporádicos.

Los investigadores emplearon el virus adeno-asociado 9 (AAV9) para distribuir horquillas cortas de ARN complementarias con la secuencia de SOD1 en los animales de experimentación. La cuestión clave era si AAV9 atravesaba la barrera hemato-encefálica para llegar a su diana objetivo dentro del cerebro (en las neuronas afectadas del sistema motor), los investigadores publicaron previamente que lo habían conseguido.

En esta ocasión han publicado los resultados completos en dos modelos distintos de ratones que expresan la forma mutante humana de SOD1. Realizaron la administración del tratamiento después de que los síntomas comenzasen y consiguieron lo que en el terreno se considera como la mayor prolongación de la supervivencia: un mes para el modelo de progresión rápida de los síntomas y cerca

de tres meses para el modelo de progresión lenta. Nadie había frenado la progresión de la enfermedad de este modo con una intervención después del nacimiento.

Aunque los científicos habían intentado utilizar ARN de interferencia mediados por virus antes en modelos de ratón, el grupo de Foust ha dado el siguiente paso hacia su aplicación en humanos probando su modelo en tres monos cinomolgus, una especie de la familia de los macacos. Los animales perdieron el 87% de proteína SOD1 en la médula espinal lumbar en dos meses. El siguiente paso sería optimizar su aplicación en los monos y obtener los datos toxicológicos, para proponer el ensayo en humanos a la Food and Drug Administration (FDA).

Los planes de Foust son complementarios al tratamiento antisentido para SOD1 que ya se está desarrollando en humanos. El antisentido funciona mediante un mecanismo celular diferente al de los ARNsh (silenciadores), que son aplicados sin un vector viral. Hasta el momento, los antisentido de SOD1 parece que son seguros y los investigadores están planeando un estudio en Fase II.

Una diferencia entre las dos estrategias está en que el ARN antisentido requiere dosificación regular mientras que los ARNsh distribuidos mediante AAV9 podrían, en teoría, constituir un tratamiento único que podría modificar permanentemente las células del paciente bloqueando la traducción de SOD1. Esto podría ser tanto una bendición como una maldición, por una parte un tratamiento único podría ser más práctico. Por otro lado, si la terapia génica mediada por virus saliese mal, no habría manera de revertirla. En cambio con el ARN antisentido, los médicos pueden parar la administración de forma sencilla, dejando de administrar las infusiones y permitiendo desaparecer por lo tanto al ácido nucleico.

Referencia:

Dance, A. "Lou Gehrig's RNA Interference Success in Mice, Monkeys". *The ALS Forum*. 27 de Septiembre de 2013.

http://www.researchals.org/page/news/12030?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+94&utm_campaign=ALS+Forum+Newsletter&utm_medium=email
Foust KD, et al. "Therapeutic AAV9-mediated suppression of mutant SOD1 slows disease progression and extends survival in mouse models of inherited ALS." *Mol Ther*. 2013 Sep 6.

UNAS PROTEÍNAS QUE SE FABRICAN EN LABORATORIO PODRÍAN RESTAURAR LAS FUNCIONES CELULARES

Una estructura denominada "red de microtúbulos" es una parte crucial en nuestro sistema nervioso. Actúa como sistema de transporte dentro de cada una de las células nerviosas, transportando proteínas esenciales y permitiendo la comunicación entre distintas células. Sin embargo, en las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, la ELA y el Parkinson, esta red se derrumba, dificultando las capacidades motoras y/o la función cognitiva.

El Profesor Illana Gozes de la Facultad de Medicina Sackler en la Universidad de Tel Aviv ha desarrollado un péptido nuevo en su laboratorio – llamado NAP o Davubetido – que tiene las capacidades de proteger y restaurar la función de los microtúbulos. El péptido es un compuesto derivado de la proteína ADNO, que regula más de 400 genes y es esencial para la formación cerebral, la memoria y el comportamiento.

Gozes y su equipo de investigadores, observaron que en los modelos animales con daño en los microtúbulos, NAP permitía mantener o restablecer el transporte de proteínas y otros materiales en las células mejorando los síntomas asociados a la neurodegeneración. Estos hallazgos, que se han publicado en la revista *Neurobiology of Disease*, indican que NAP podría ser una herramienta efectiva en la lucha de los efectos más debilitadores de las enfermedades neurodegenerativas.

Garantizando el paso a través del cerebro

En las investigaciones se usaron dos modelos animales diferentes con daño en los microtúbulos. El primer grupo se obtuvo a partir de ratones normales con el sistema de microtúbulos desmantelado a través del uso de un compuesto. El segundo grupo eran ratones modelo de ELA, en el que el sistema de microtúbulos estaba dañado crónicamente. En ambos grupos, a uno se le dio y al otro no, una única inyección de NAP.

Para determinar el impacto de NAP en la comunicación de la célula nerviosa, los investigadores administraron el elemento químico manganeso a los modelos animales y trazaron su movimiento a través del cerebro usando RNM (resonancia magnética nuclear). En los ratones tratados con NAP, los investigadores

observaron que el manganeso podía viajar a través del cerebro normalmente – el sistema de microtúbulos se había protegido del daño o había restaurado el funcionamiento normal. Los ratones que no recibieron el péptido experimentaron el desmantelamiento normal o continuó la disfunción del sistema de microtúbulos.

Estos hallazgos fueron corroborados por un estudio posterior dirigido en Reino Unido, publicado en la revista *Molecular Psychiatry* y que encontró que el NAP era capaz de reducir el daño en modelos en la mosca de la fruta con deficiencia en microtúbulos, reparando la disfunción de la célula nerviosa.

Frenando la disfunción cognitiva

Parece que NAP tiene un gran potencial en términos de neuroprotección, dijo Gozes, quien fue galardonado recientemente con el premio en investigación Meitner-Humboldt por su gran contribución en el campo de las ciencias del cerebro.

Estudios previos sobre el péptido, dirigido a través de la colaboración entre Allon Therapeutics y Ramot, la tecnología por brazo de transferencia de la Universidad de Tel Aviv, han mostrado que los pacientes que sufren una disfunción cognitiva – precursor de la enfermedad de Alzheimer – mostró una mejora significativa en las puntuaciones cognitivas cuando se tratan con NAP. Además, otros estudios adicionales han mostrado que NAP tiene un impacto positivo en la recuperación de la deficiencia microtubular en pacientes esquizofrénicos.

Gozes comentó que la mayoría de las investigaciones se deberían dirigir a cómo optimizar el uso de NAP como tratamiento, incluyendo a los pacientes que pudieran beneficiarse de esta intervención.

Referencia:

Tel Aviv University. "Lab-Made Protein Could Restore Cell Functions". Laboratory Equipment. Julio de 2013.

ETIOPATOGENIA

EL 11º CONGRESO ANUAL ENCALS RESALTA CÓMO SE EXTIENDE TDP-43 EN LA ELA

La Red Europea para el cuidado de la ELA (ENCALS) celebró su 11º reunión anual en Sheffield del 31 de Mayo al 2 de Junio. Más de 200 científicos internacionales y médicos fueron capaces de disfrutar de un gran ciclo de interesantísimas conferencias sobre los últimos hallazgos en la investigación realizada sobre las enfermedades de la neurona motora (MND). La clave para defenderse de la MND radica en el establecimiento de fuertes colaboraciones entre neurólogos, profesionales de la salud, científicos investigadores, jóvenes investigadores y estudiantes en el campo de la MND y el congreso 11º anual ENCALS en Sheffield proporciona esta oportunidad. La asociación MNDA (asociación británica de ELA) se siente muy orgullosa de financiar este evento.

El Dr. Johannes Brettschneider, de la Universidad de Ulm en Alemania, explicó en su conferencia cómo su investigación había mostrado las fases y la propagación de la proteína TDP-43 en la ELA.

Tinción "Especial"

Al final de la tarde de las conferencias sobre los genes causantes C9orf72, FUS y SOD1 de la ELA, el Dr. Brettschneider, basó su conferencia sobre la proteína TDP-43 y cómo se extendía en la ELA.

Aunque los errores genéticos en TDP-43 son una causa rara de ELA, los científicos están especialmente interesados en la proteína TDP-43 porque en la gran mayoría de casos de ELA (independientemente de que la causa sea un error genético heredado), la proteína TDP-43 forma agrupaciones patológicas dentro de las neuronas motoras.

Para su estudio se utiliza una técnica conocida como "inmunohistoquímica". Esta técnica supone la toma de muestras de tejido del cerebro y de la médula espinal de personas que han muerto de ELA. Se realizan cortes extremadamente finos de tejido, que pueden ser teñidos usando una "tinción especial" que sólo tiñe la proteína TDP-43 y al visionarlas bajo un microscopio se pueden ver las cantidades de TDP-43 en las diferentes áreas del cerebro y de la médula espinal. La información clínica

y la tinción con TDP-43 permitirán establecer las fases de la enfermedad.

El "cableado telefónico" se utiliza para algo más que simplemente conversar

El Dr. Brettschneider mostró que TDP-43 aumenta en diferentes áreas del cerebro y de la médula espinal durante los diferentes estadios de la enfermedad. Sorprendentemente, mostró también como la ELA (caracterizada por el acúmulo de TDP-43) se transmite de un cuerpo celular a otro.

Una neurona motora consiste en tres partes: el cuerpo celular, el axón y la terminación nerviosa. El cuerpo celular contiene el núcleo o el control central de la célula. Cuando un mensaje se transmite del cerebro al cuerpo celular envía el mensaje a través del axón. Como un cableado telefónico, el axón transporta el mensaje al músculo, donde las terminaciones nerviosas hacen que el músculo se mueva.

Sin embargo, en la ELA parece que ese "cableado telefónico" hace algo más que transportar un mensaje. La proteína TDP-43 forma "acúmulos" en las neuronas motoras y parece que estos acúmulos usan el axón para viajar de una neurona motora a la siguiente (explicando posiblemente por qué algunas personas muestran debilidad en brazos o manos).

Otros hallazgos claves fueron que los acúmulos de TDP-43 se desarrollan en la parte frontal del cerebro (cortex prefrontal), los cuales podrían explicar el desarrollo de los síntomas cognitivos similares a la degeneración lobular frontotemporal.

La propagación de proteínas relacionadas con enfermedades ha sido descrita para otras enfermedades neurodegenerativas como es el caso de la enfermedad de Alzheimer o la de Parkinson, sin embargo, no se había demostrado en ELA. Ahora se tienen evidencias que relacionan la propagación de la principal proteína en ELA, TDP-43, a lo largo de regiones específicas del cerebro y médula espinal, con la progresión de la enfermedad.

Si estos hallazgos pudieran ser confirmados (por ejemplo en cultivos celulares o estudios en modelos de ratón) podría dirigir el diseño de nuevos tratamientos con el objetivo específico de impedir la propagación de acúmulos de la proteína TDP-43.

Además, se piensa que estos hallazgos ofrecen un mejor entendimiento de la progresión de la enfermedad en ELA. Estos datos implican que TDP-43 se extiende a través del córtex prefrontal en la progresión de la enfermedad, apoyando la idea de que casi todos los pacientes con ELA

podrían desarrollar eventualmente algún tipo de "déficit cognitivo de tipo frontal".

El futuro

Esta investigación es muy importante para las personas con ELA ya que si estas fases pueden ser reproducidas en pacientes podría ofrecer una nueva vía para evaluar la progresión de la enfermedad y la respuesta a nuevos tratamientos. Se espera que este estudio proporcione las bases fundamentales para diseñar estrategias de prevención de la extensión de la proteína TDP-43". Esta investigación es sólo el principio y se requiere más trabajo, el Dr. Brettschneider espera continuar con estos fascinantes resultados. "Existen restricciones en tiempo y disponibilidad de las muestras de tejidos durante el estudio, así que somos incapaces de determinar cómo y dónde exactamente comienza la ELA en las fases más tempranas de la enfermedad. Además, un paso importante en nuestro trabajo sería analizar casos muy tempranos con ELA siendo la propagación de TDP-43 el objetivo más prometedor para una intervención terapéutica".

Referencia:

Brettschneider J, et al. "Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis". Ann Neurol. 2013 May 20. doi: 10.1002/ana.23937.
Samantha Price S. "The 11th Annual ENCALs meeting highlights how TDP-43 spreads in MND". MND Research Wordpress. Junio 2013.

LA INHIBICIÓN DE CDC7 BLOQUEA LA FOSFORILACIÓN PATOLÓGICA DE TDP-43 Y LA NEURODEGENERACIÓN

La desregulación patológica de la actividad quinasa tiene lugar en una gran variedad de enfermedades neurodegenerativas y en cáncer. Consecuentemente, diversas quinasas implicadas en la viabilidad celular o en la replicación han sido objeto del desarrollo de sus inhibidores para el tratamiento de cáncer en humanos. Sin embargo, la FDA (U.S. Food and Drug Administration) aún no ha autorizado ningún inhibidor para enfermedades neurodegenerativas.

Los agregados proteicos son una característica de las enfermedades neurodegenerativas. Estos agregados, que contienen la proteína TDP-43 ubiquitinada e hiperfosforilada están presentes en casi la totalidad de los casos de

ELA y la mayoría de las demencias que cursan con degeneraciones en el lóbulo frontotemporal (DLFT). Además, se han identificado agregados TDP-43 positivos en un creciente número de enfermedades neurodegenerativas. La inhibición con pequeñas moléculas de la quinasa o quinasas responsables de la fosforilación de TDP-43 podría suponer una nueva estrategia terapéutica para la intervención en ELA y DLFT. En el trabajo publicado en *Annals of Neurology* en Enero de 2013 por Liachko y colaboradores han identificado una quinasa, CDC7 (quinasa de la división del ciclo celular 7), responsable de la fosforilación patológica de TDP-43 en *Caenorabdhitis elegans* (un gusano microscópico muy utilizado en experimentación biosanitaria como modelo de enfermedad) y en células humanas transgénicas. Y también han observado que la inhibición de CDC75 por PHA767491 reduce la fosforilación de TDP-43 y previene la neurodegeneración dependiente de TDP-43.

Para identificar dianas relevantes de pequeñas moléculas inhibitorias, los investigadores han analizado el quinoma mediante ARNs de interferencia en un modelo de proteinopatía TDP-43 en *C.elegans* estudiando los efectos en el fenotipo comportamental dirigido por TDP-43. *C.elegans* es un buen sistema modelo porque tiene alrededor de un 80% de homólogos de las familias de quinasas humanas y exhiben una respuesta a ARNs de interferencia robusta y adecuada para probar ARNs de interferencia con un alto rendimiento. Usando una estrategia similar identificaron 12 quinasas que provocaban defectos en movimientos en modelos de animales TDP-43 mediante ARN de interferencia específicos de algunos genes. A continuación validaron mutantes genéticamente nulos para CDC7 y C55B7.10 que mejoraban significativamente los fenotipos comportamentales y reducían la fosforilación de TDP-43.

Examinaron la capacidad de los homólogos humanos de 3 quinasas, CDC7, TTBK1, y TTBK2 para fosforilar TDP-43 *in vitro*. Interesantemente, sólo CDC7 fue capaz de fosforilar directamente TDP-43. Además, el aumento de los niveles de CDC7 empeoraba el fenotipo en los modelos de *C. elegans* con TDP-43, aumentando en gran medida los niveles de letalidad. Los animales que sobrevivían mostraban fenotipos TDP-43 más severos que incluían parálisis, detención del desarrollo, infertilidad, neurodegeneración y aumento de la fosforilación en TDP-43.

Los hallazgos en estudios de pacientes DFT relacionados con TDP mediante inmunohistoquímica apoyan el papel de CDC7 en la regulación patológica de la fosforilación de TDP-43, en enfermedades humanas con proteinopatía TDP-43. Entre estos hallazgos está el hecho de haber encontrado inmunorreactividad CDC7 en la corteza frontal en los casos de DFT-TDP y muchas de las células se conseguían marcar conjuntamente con CDC7 y TDP-43 fosforilada indicando una coexpresión en el mismo lugar. Se han realizado numerosos estudios sobre el papel de CDC7 en la replicación del ADN y la respuesta al daño en el ADN. Las neuronas han salido del ciclo celular y permanecen como células quiescentes y no está claro qué función podría desempeñar una proteína de ciclo celular como CDC7 en esta fase. Clarificar el papel de CDC7 neuronal en la fosforilación patológica de TDP-43 sería un área crítica para investigaciones futuras. Los datos indican que la fosforilación de TDP-43 en las serinas 409 y 410 es una modificación clave que promueve la toxicidad de TDP-43 *in vivo*. El aumento de la fosforilación en la estirpe salvaje o mutante para TDP-43 dirigida por la sobreexpresión de CDC7 es altamente neurotóxica, mientras que el descenso de la fosforilación es neuroprotectiva. En este trabajo se ha demostrado que la fosforilación de TDP-43 está regulada por un pequeño número de quinasas. CDC7 fosforila directamente TDP-43 en las serinas 409 y 410 tanto *in vivo* como *in vitro*. Además, la inhibición de la actividad de CDC7 con PHA767491 a niveles permisivos de división celular y crecimiento *in vivo* es suficiente para reducir la fosforilación de TDP-43 y prevenir la neurodegeneración. De este modo, CDC7 parece ser una quinasa adecuada para ser diana de intervenciones en pacientes con proteinopatías TDP-43 primarias como lo son la ELA y la DFT. En la actualidad se están desarrollando inhibidores específicos de CDC7 para tratamientos potenciales frente al cáncer.

Referencia:

Liachko, NF. "CDC7 inhibition blocks pathological TDP-43 phosphorylation and neurodegeneration". Ann Neurol. 2013 Jul; 74(1):39-52.

¿ES FUS EL CULPABLE DE LA NEURODEGENERACIÓN EN LAS NEURONAS SENSIBLES A DLFT Y ELA?

La causa de la degeneración de neuronas específicas en la ELA y la degeneración lobular frontotemporal (DLFT) podría ser la proteína de unión a ARN, FUS, para arreglar el ARN mensajero específico de dichas neuronas. Estas conclusiones llegan desde un artículo publicado el 8 de Agosto en Scientific Reports. Después de examinar diferentes tipos celulares, los investigadores dirigidos por Gen Sobue y Shinsuke Ishigaki de la Universidad de Nagoya en Japón concluyeron que las neuronas corticales y motoras – los tipos afectados en DLFT y ELA, respectivamente – mostraban una dependencia similar por FUS en la transcripción de genes. La pérdida de FUS podría explicar la vulnerabilidad selectiva de estos tipos celulares.

En ambas FUSopatías familiares y esporádicas, FUS se encuentra en el núcleo y anormalmente se recoloca en el citoplasma, donde no puede regular la transcripción del ARN de forma satisfactoria. Esto podría debilitar algo a las neuronas. Los investigadores están intentando entender el mecanismo identificando los genes que regula FUS, que son miles. FUS se une a varias dianas de ARN en el cerebro, incluidos todos los pre-ARNm que contienen intrones, de acuerdo con los estudios realizados en ratones. Sin embargo, muchas de las investigaciones previas identificaron dianas en FUS en poblaciones de diferentes células, así como en extractos de cerebro completo. Previamente se centraron en neuronas corticales primarias de ratón para mostrar que FUS regula la transcripción y el procesamiento alternativo de varios genes, incluidos tau, Camk2a y FMR1, que se relacionan con enfermedades neurológicas como el Alzheimer. Ahora, ellos prestan atención a múltiples tipos celulares. Para ello, esperan dirigir la pregunta sobre la vulnerabilidad específica de tipo celular – si todas tienen FUS, ¿por qué sólo ciertas neuronas son susceptibles a los defectos de FUS como es el caso de las mutaciones?

Para resolver estas cuestiones examinaron el transcriptoma (conjunto de genes que se expresan de forma específica en una célula o grupo de células) en cuatro líneas celulares primarias de embriones de ratón: neuronas corticales, motoras y cerebelares, así como astrocitos. Normalmente, los tres tipos neuronales tienen transcriptomas similares,

mientras el único glial (astrocito) es diferente. Los investigadores emplearon ARNs de silenciamiento para apagar FUS y entonces comparar las enfermedades FUS-positivas y FUS-negativas.

Con los resultados obtenidos compararon las listas de genes expresados entre líneas celulares FUS-positivas y FUS-negativas y observaron grandes diferencias – más de 2000 genes se expresaban diferencialmente – en las neuronas corticales y neuronas motoras así como en la glía. Neuronas motoras y corticales compartieron 775 de estos genes. Por el contrario, las neuronas cerebelares se vieron menos afectadas por la pérdida de FUS, con únicamente 494 genes procesados diferencialmente comparándolos con células FUS positivas. Menos de 60 correspondían con otros tipos celulares neuronales. La glía se vio fuertemente afectada por la muerte de FUS, con 2074 genes alterados, de los que más de 40 se identificaron en las neuronas corticales y neuronas motoras.

Los investigadores también examinaron eventos de procesamiento alternativo (procesamiento diferencial que se produce en el mismo gen cuando se expresa en distintas células), y encontraron un patrón similar con respecto al tipo celular. Existe un solapamiento en cerca de 1000 genes con procesamiento alternativo en la ausencia de FUS en las neuronas corticales y motoras. Las neuronas cerebelares tienen menos de 500 genes que solapan con otros tipos neurales. El perfil de procesamiento de la glía mostró poco en común con estas neuronas.

El hecho de que los perfiles para FUS de neuronas corticales y motoras sean similares indican que están relacionados con la selectividad celular en ELA y DLFT. Estos tipos celulares, que son más dependientes de FUS, podrían ser especialmente susceptibles a su pérdida. Estos resultados indican que la glía también podría ser susceptible a la pérdida de FUS y contribuir a la enfermedad. La razón de que una persona desarrolle ELA y otra DLFT podría tener que ver con eventos de procesamiento alternativo específicos que difieren entre neuronas motoras y corticales, según sugirieron los autores.

Sin embargo, FUS en sí mismo podría no ser responsable de las diferencias entre líneas celulares. En un experimento posterior, los investigadores estudiaron la unión de FUS a tres genes – tau, Dlgap1, Stxbp1, que se regulaban de forma diferencial en los tres

cultivos celulares. Inmunoprecipitaron FUS y los ARNs asociados de cerebelos, cerebro y médula espinal embrionarios de ratón y observaron que FUS se unía a ARNs de forma similar en cada tipo celular. Esto implica que la especificidad de tipo celular no está controlada por FUS, pero sí por otros factores de unión a ARN que interactúan con las dianas. Alguno de los factores de unión a ARN todavía desconocidos que sólo se encontraron en algunos tipos celulares y funcionando junto con FUS, podrían ser la explicación verdadera para la vulnerabilidad de neuronas corticales y motoras. Sin embargo, no es cierto que incluso los patrones del transcriptoma regulado por FUS sean la respuesta a las preguntas sobre vulnerabilidad. Yeo dijo que es posible que existan otras explicaciones. Los tejidos son embrionarios, no adultos y la ELA y la DLFT son enfermedades del envejecimiento. Además los diferentes patrones de procesamiento difieren enormemente del ratón al humano. El estudio representa una lección preventiva para los científicos, quienes deberían considerar cuidadosamente el tipo celular cuando intentan modelizar ELA o DFT.

El siguiente paso, sugirió Yeo, podría ser estrechar la lista de genes regulados por FUS a aquellos que puedan ser dianas farmacéuticas en la enfermedad. Sobue y colaboradores examinaron las funciones conocidas de los genes diana de FUS y descubrieron que en neuronas corticales y motoras los genes de señalización y metabolismo estaban representados. En estos tipos celulares, los genes de procesamiento influidos por FUS que controlan la función sináptica, las proyecciones neuronales y los impulsos nerviosos, incluidas tau, Camk2a, Fmr1 y syntaxin1a, que están implicadas en la carga de la vesícula sináptica. El grupo planea a continuación generar modelos animales de la patología FUS y examinar cómo las dianas de ARN que han identificado pueden contribuir al inicio de la enfermedad y su progresión.

Referencia:

Fujioka Y, et al. "FUS-regulated region- and cell-type-specific transcriptome is associated with cell selectivity in ALS/FTLD." *Sci Rep*. 2013 Aug 8;3:2388.

Dance, A. "Is FUS to Blame for Neurons Vulnerable to FTLD and ALS?" *The ALS Forum*. 16 de Agosto de 2013.

<http://www.researchals.org/page/news/11798>

FUS UN REPARADOR DEL ADN DAÑADO

El gen FUS relacionado con la ELA restablece las cadenas de ADN quebradas, según un artículo publicado el 15 de Septiembre online en *Nature Neuroscience*. FUS también se relaciona con la demencia frontotemporal. Tsai y colaboradores del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) en Boston encontraron que los complejos formados por la proteína FUS y la histona deacetilasa 1 (HDAC1) arreglaban las roturas en el ADN de doble hebra. Estos hallazgos encajan con otras líneas de investigación que apuntan a la fragmentación del genoma como un factor en varios tipos de enfermedades neurodegenerativas.

Después de proponer un papel para HDAC1 en la reparación del ADN, el laboratorio de Tsai buscó un patrón de unión a HDAC1. Los investigadores identificaron FUS, como una proteína de unión a ácidos nucleicos. HDAC1 y FUS se unían con más fuerza en presencia de ADN dañado en cultivos primarios de neuronas de ratones.

En una línea celular de osteosarcoma humano, FUS aparecía en escena cuando se infringía daño al ADN con un láser dentro del primer minuto tras la rotura y entonces reclutaba a HDAC1. Además, el knockdown (o anulación del gen mediante ingeniería genética) de FUS en la línea de osteosarcoma y en los cultivos primarios de neuronas corticales de ratones presenta una ineficiente reparación del ADN. Además, las autopsias de tejido cerebral de dos personas que habían tenido ELA debido a mutaciones en FUS mostraban daños excesivos en el ADN. El daño era más prominente en neuronas motoras en la médula espinal y neuronas piramidales en la corteza motora y menos en interneuronas y glía. Tsai sugiere que las "neuronas motoras debían ser más sensibles al ser de las células más activas del cuerpo".

Los estudios de cultivos de células de osteosarcoma que expresan el mutante FUS respaldan estos hallazgos. La proteína FUS con mutaciones relacionadas con ELA encontraba lugares del ADN dañados, pero fallaban en su unión a HDAC1 realizando un trabajo incompleto en la reparación del ADN. Algunas mutaciones fueron completamente deficientes; otras mostraban defectos menos severos.

"FUS es una parte integrante de la ruta de respuesta al daño en el ADN", concluyó Tsai. A continuación planea examinar el daño en el ADN en otras enfermedades neurodegenerativas y desarrollar compuestos que ayuden a la neurona.

Referencia:

Dance, A. "FUS a Fixer of Damaged DNA". *The ALS Forum*. 19 de Septiembre de 2013.

http://www.researchals.org/page/news/11970?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+93&utm_campaign=ALS+Forum+Newsletter&utm_medium=email

Wang, WY et al. "Interaction of FUS and HDAC1 regulates DNA damage response and repair in neurons." *Nat Neurosci*. 2013 Sep 15.

EL PEZ CEBRA Y LA UNIÓN NEUROMUSCULAR

Desde que las mutaciones en el gen FUS se relacionaron por primera vez con la ELA en 2009, los científicos han estado trabajando para tratar de resolver cómo estas mutaciones conducen a la aparición de la enfermedad. Pierre Drapeau y Gary Armstrong, neurocientíficos de la Universidad de Montreal, sabían que en modelos animales con mutaciones de otros genes que se relacionaban con la ELA, como SOD1 y TARDBP, encontraron anomalías en la unión neuromuscular (NMJ). La NMJ es un área clave de interés porque es donde la neurona motora se encuentra y conecta con el músculo que inerva.

El grupo de investigación de Montreal todavía tenía que descubrir el papel de la unión neuromuscular en la ELA relacionada con mutaciones en FUS, así que Armstrong y Drapeau acudieron al pez cebra para conseguir algunas respuestas. En la larva del pez cebra, los investigadores decidieron insertar un ARNm mutante que codifica por la proteína FUS humana y en otros casos emplearon pequeñas moléculas para bloquear la producción del ARNm de FUS en el pez cebra. Después, midieron una variedad de cambios fisiológicos y comportamentales como resultado del estudio, que publicaron el verano pasado en *Human Molecular Genetics*.

La principal ventaja de utilizar el pez cebra es que se puede tener un acceso sencillo y maravilloso a las neuronas motoras que están afectadas en ELA. La larva es pequeña – poco más de unos milímetros de largo – pero no tienen a esa edad espina dorsal, así que con un microscopio e incluso con una lupa potente, se pueden ver las neuronas motoras. Los músculos en la larva son finos. Son completa-

mente normales. El defecto que encontraron estaba en la NMJ.

La larva de los peces cebra que expresan o bien el ARNm del mutante FUS humano o tiene el gen FUS eliminado, tienen más neuronas motoras excitables que los controles. Lo que es más, estas larvas presentan grandes anomalías.

Esta disminución funcional aparece en las pruebas de comportamiento en natación. Al examinar la distancia total que nadan las larvas con FUS alterado, además de la duración de su nado y de la velocidad máxima, se observaba que todas descendían.

Un examen cuidadoso demostró que la estructura de la unión neuromuscular estaba alterada en las larvas. Armstrong y Drapeau pudieron reparar el funcionamiento de la NMJ en el pez cebra sin un gen FUS funcional insertando un gen FUS humano normal, mostrando que es el gen el que provoca estas alteraciones funcionales. Las anomalías también aparecieron cuando Armstrong y Drapeau cuantificaron la actividad natatoria de la neurona motora en la larva. Ambas, la larva con FUS humana mutante y la que tiene la función FUS del pez cebra eliminada presentaban un descenso significativo en la actividad de la NMJ. Estos peces también tienen dañado el funcionamiento muscular debido a la pérdida de las entradas desde la neurona motora. Aunque los músculos por sí mismos no tienen ningún signo de daño debido a la expresión alterada de FUS, el descenso de la entrada de la neurona motora redujo el funcionamiento muscular.

Estos resultados realmente precisan y confirman una cantidad de creencias sobre la unión neuromuscular que es un área crítica de disfunción en esta enfermedad. Es una hipótesis que gran cantidad de personas tienen, pero no se sabía con seguridad si el mutante FUS podía causar esta disfunción.

Referencia:

Armstrong GA, Drapeau P. "Loss and gain of FUS function impair neuromuscular synaptic transmission in a genetic model of ALS." *Hum Mol Genet*. 5 de Julio de 2013.

Arnold C. V. "Zebrafish at the (Neuromuscular) Junction". Packard Center. Julio de 2013.

¿LA PÉRDIDA DE FUNCIÓN DE SOD1 ESTÁ IMPLICADA EN EL DESARROLLO DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA?

Las mutaciones en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) son la causa de gran parte de las formas familiares de ELA. Cuando se identificó la primera mutación en SOD1 se postulaba que da lugar a la ELA mediante un mecanismo de pérdida de función del propio enzima SOD1. Pero los datos experimentales mostraron pronto que la enfermedad se debía a una aún desconocida ganancia de función tóxica y la posibilidad de que una pérdida de función desempeñase un papel en la patogénesis de la ELA se abandonó por completo.

Aunque la pérdida de función no sea la causa de la ELA, Rachele A. y sus colaboradores re-examinan dos décadas de evidencias relacionadas con que la pérdida de función pueda desempeñar un papel, tal y como publicaron en Mayo de 2013 en la revista Brain.

La herramienta más útil para estudiar esta posibilidad in vivo son los ratones nulos para SOD1 (ratones en los que, mediante modificaciones genéticas, se ha conseguido anular el gen SOD1 y, por lo tanto, no producen el enzima superóxido dismutasa citosólica) pueden aportar pistas clave sobre los efectos de una actividad enzimática reducida en ELA. Estos ratones son un modelo de estrés oxidativo crónico, pero no desarrollan una enfermedad de neurona motora como en los humanos. La pérdida del 100% de la actividad enzimática se considera de forma distinta desde que la reducción media vista en pacientes con ELA es del 57%. No se han descrito pacientes con pérdida total de actividad de SOD1, incluso cuando las mutaciones se encuentran en homocigosis. Aunque los ratones con mutaciones en SOD1 en heterocigosis (SOD1+/-) no desarrolla claramente un síndrome parecido a la ELA, un gran cantidad de estudios muestran que estos ratones tienen fenotipos anormales que conllevan a un daño progresivo celular y a un defecto en la reacción a una lesión nerviosa y/o estímulos tóxicos. Los ratones SOD1+/- pierden significativamente más neuronas motoras en respuesta a una axotomía del nervio facial que la estirpe normal. El resultado es intermedio entre el SOD1+/- y el ratón control sugiriendo una dependencia de dosis y demostrando que una actividad SOD1 del 50% no es suficiente para una función normal de la neurona motora en respuesta al daño. También sufrieron un aumento en la pérdida de subtipos neuronales específicos y un aumento en la sus-

ceptibilidad al daño y a los estímulos tóxicos. Los animales SOD1-/- y SOD1+/- no mimetizan el modelo de ELA en ratones, pero presentan multitud de fenotipos que se relacionan directamente con la ELA (denervación, incremento de susceptibilidad a la toxicidad por glutamato, al daño axonal) y generalmente relacionados con la degeneración neuronal (pérdida células del ganglión y retinales) de modo que es importante preguntarse sobre la contribución de la pérdida de función de SOD1 a la enfermedad. Un punto a considerar es que aunque se han caracterizado otras cepas de ratones transgénicos con mutaciones patogénicas en diferentes "genes ELA" (por ejemplo, TARDBP) presentan fenotipos menos claros que se relacionen con la enfermedad en humanos.

Una reducción en la actividad de SOD1 no es la causa de la ELA, sin embargo podría modificar la enfermedad, como sugieren los datos de experimentos con cruces de ratones. Se ha encontrado que SOD1 es crítica para integrar el O₂, la glucosa y los niveles de superóxido, a través de una señalización por caseína quinasa, para reprimir la respiración y el metabolismo que direcciona la energía en situaciones de alto consumo y que este papel es independiente de su función en el estrés oxidativo. Así que la pérdida de función en SOD1 podría tener efectos sobre el metabolismo celular, aunque no está claro por qué esta enzima se produce a altos niveles, pudiendo tener papeles desconocidos en la función neuronal.

Mecanismos de pérdida y ganancia de funciones coexisten en otras enfermedades degenerativas neuronales como muestran modelos de la enfermedad de Huntington, Parkinson y ataxia espinocerebelosa 1. También se ha hipotetizado que contribuyen a la patogénesis en ELA causada por mutaciones en TARDBP y FUS.

Estos hallazgos componen el escenario para una cooperación potencial de una pérdida y ganancia de función en la patogénesis de la ELA. Se podría hipotetizar la existencia de un círculo vicioso en el que SOD1 oxidado tiene una mayor propensión para plegarse mal, provocando la agregación de SOD1 y resultando en una disminución de la actividad dismutasa, lo que incrementaría el potencial de estrés oxidativo empezando de nuevo el bucle. La fuerte relación entre SOD1 mal plegada y su pérdida de función hace que los efectos de pérdida y ganancia de función sean difíciles de evaluar independientemente.

El ratón que ha perdido completamente la SOD1 desde un momento muy temprano del desarrollo, no es el modelo apropiado para evaluar los

efectos a largo tiempo de la pérdida de SOD1 endógena en el adulto.

Los ensayos preclínicos que emplean tecnología de ARN de interferencia usando modelos adultos para investigar la reducción de SOD1 en un inicio temprano y de rápida progresión de la enfermedad, no estudian los efectos potenciales a largo plazo. El empleo de alelos SOD1 condicionales podrían ayudar a clarificar la situación. Los datos de animales SOD1+/- indican que los pacientes con ELA relacionada con SOD1 podrían ser utilizados en estudios epidemiológicos de fenotipos conocidos que muestran un descenso de 50% de la enzima; para resolver preguntas como por ejemplo, ¿existe una mayor incidencia de enfermedad cardiovascular y derrame cerebral en familias con ELA familiar relacionada con SOD1?, ¿tienen estas familias un aumento en la incidencia de cáncer de hígado, o protección frente al cáncer de pulmón, ya que la mayoría de los adenocarcinomas de pulmón en humanos expresan SOD1 a niveles más altos de lo normal?

Finalmente, el conocimiento de los efectos de la pérdida de actividad de SOD1 indica claramente que este gen debería ser estudiado en cohortes con enfermedades como neuropatía distal motora hereditaria, degeneración macular relacionada con la edad y la pérdida progresiva de audición, debido a que ambas pérdidas de función en homocigosis y heterocigosis son compatibles con la vida, al menos en ratones, aunque tienen fenotipos anormales.

Referencia:

Rachele, A. "Is SOD1 loss of function involved in amyotrophic lateral sclerosis". *Brain* 2013;136; 2342-2358.

LOS CIENTÍFICOS DEL CENTRO PACKARD EMPLEAN EL PEZ CEBRA PARA RELACIONAR LA PÉRDIDA DE LA FUNCIÓN DE C9ORF72 CON LA ELA

Desde que se descubrió la expansión de la repetición en C9orf72 como la causa genética más común de la ELA familiar y la demencia frontotemporal (DFT), los investigadores han intentado comprender cómo la mutación genera la neurodegeneración en la ELA. En un nuevo estudio publicado en el *Annals Neurology*, el científico Edor Kabashi y su equipo de estudiantes franceses han encontrado al menos una manera a través de la que la mutación en C9orf72 causa la enfermedad.

Desde que la expansión de la repetición de C9orf72 fue descubierta por primera vez en Octubre de 2011, los investigadores han publicado cientos de artículos que analizan lo que los genes hacen normalmente y cómo la expansión de la repetición pudiera afectar la función de los genes. Los trabajos previos realizados sobre expansiones de repeticiones similares muestran que pueden causar la enfermedad mediante la pérdida de la función normal del gen y/o a través de una nueva función tóxica que adquiere la proteína alterada. Los modelos animales son una buena forma de analizar los efectos que una mutación genética tienen y si estos efectos se deben a la pérdida de función, a una ganancia de función tóxica, o a ambas. Mientras unos investigadores han usado roedores o gusanos como *Caenorhabditis elegans*, Kabashi y su grupo emplearon al pez cebra. Desde que todos los vertebrados, incluidos el pez cebra, portan una versión similar (ortóloga) del gen C9orf72, Kabashi y sus colaboradores observaron en primer lugar dónde y cuándo el gen C9orf72 del pez cebra se expresa durante el desarrollo. Al principio del desarrollo, el gen se expresa en pre-, di-, y metencéfalo, así como en la espina dorsal del pez cebra.

Los investigadores querían obtener una imagen más precisa de qué hace el gen C9orf72 y qué podría ocurrir si el gen deja de funcionar, igual que se hipotetizaba que ocurriría en pacientes con ELA. Para hacer esto, emplearon pequeñas piezas de ARN conocidos como oligonucleótidos antisentido para bloquear la traducción de C9orf72 en embriones de pez cebra. El bloqueo de la función de C9orf72 del pez cebra causa proyecciones axonales anormales de las neuronas motoras, así como la disminución de la capacidad de las neuronas dañadas para formar uniones neuromusculares sostenibles.

Cuando Kabashi y su equipo disminuyó la cantidad de ARNm de C9orf72, también provocaron comportamientos anómalos. Estos peces mostraban una respuesta de escape disminuida, cuando se tocaban, así como otros defectos respecto al comportamiento natatorio habitual. Insertando el gen humano de C9orf72 en el genoma del pez cebra, la mayoría de los peces analizados volvían a nadar y comportarse normalmente.

Kabashi y colaboradores observaron los efectos de C9orf72 en el pez. En muestras cerebrales y líneas celulares de linfoblastos de varios pacientes ELA/DFT portadores de la repetición de la expansión de C9orf72, los investigadores mostraron que los niveles de ARNm de C9orf72 eran significativamente más bajos que los controles individuales. De este modo concluyeron que estos resultados

proporcionan evidencias sólidas de que la pérdida de la función normal de C9orf72 causada por la expansión de la repetición es un factor clave en el desarrollo de ELA/DFT en los pacientes.

El modelo de pez cebra de C9orf72 que desarrollaron debería allanar el camino para poder comprender mejor el mecanismo molecular que dirige la degeneración de la neurona motora y que podría abrir otras perspectivas para los pacientes con ELA.

El trabajo sobre la expansión de la repetición de C9orf72 ha empezado. Los investigadores todavía necesitan crear un modelo animal de expansión de repetición por sí mismo, para identificar cualquier ganancia tóxica de problemas funcionales. Dado que estas expansiones de las repeticiones son notablemente inestables en modelos animales y tienden a degenerar después de unas pocas generaciones, los investigadores tienen mucho trabajo por delante. Incluso aquí, el pez cebra puede ayudar a los científicos a comprender mejor esta desconcertante proteína.

Referencia:

Arnold, C. "Packard scientists use zebrafish to link loss of C9orf72 function to ALS". Packard Center. Julio de 2013.

Kabashi E, et al. "Loss of function of C9orf72 causes motor deficits in a zebrafish model of Amyotrophic Lateral Sclerosis". *Ann Neurol*. 2013 May 30.

SENTIDO, ANTISENTIDO: C9ORF72 FABRICA AMBAS FORMAS DE ARN Y ADEMÁS, PÉPTIDOS

El puzzle de las enfermedades neurodegenerativas provocadas por la expansión en el gen C9orf72 cada vez es más intrincado. En cuatro artículos recientes, se ha publicado que la repetición se transcribe no sólo en la dirección forward, sentido, sino también en la dirección backward, antisentido. Estos hallazgos sugieren que cualquier terapia – así como los tratamientos con oligonucleótidos antisentido – debería portar ambas secuencias sentido y antisentido de C9orf72. Uno de los estudios se publicó el 29 de Octubre online en *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Los otros estudios aparecieron durante Octubre en *Acta Neuropathologica*.

Las expansiones del hexanucleótido de C9orf72 son responsables de formas hereditarias de la demencia frontotemporal (DFT) y ELA.

Después de dos años de estudio se ha desarrollado tres hipótesis sobre el mecanismo etiopatogénico de la enfermedad:

Primera: las expansiones interrumpen la expresión normal de los genes, causando la escasez del producto génico de C9orf72, cuya función permanece aún incierta. Es la idea de la haploinsuficiencia.

Segunda: los agregados de los transcritos con la expansión dentro de los foci de ARN secuestran proteínas de unión a ARN esenciales.

Tercera: la traducción no regulada y aleatoria de las repeticiones crean péptidos anormales potencialmente tóxicos. Es la idea de la ganancia de función tóxica.

Estos nuevos estudios que comentamos en este artículo, apoyan las últimas debido a la adición de los foci de ARN y péptidos antisentido a la mezcla. Además, un quinto artículo sugiere que los genes de C9orf72 expandidos portan grupos metilos, que pueden silenciar la transcripción, apoyando la idea de la haploinsuficiencia.

Traducción y transcripción en ambas direcciones

Otras enfermedades con expansiones de repeticiones, como pueden ser la enfermedad de Huntington o la ataxia espinocerebelar muestran evidencias de una transcripción antisentido de los genes afectados. Basándose en estos precedentes era lógico buscar transcripciones antisentido en C9orf72. Empleando hibridación in situ con fluorescencia (FISH) se pretendió identificar ambos transcritos de C9orf72 en tejidos de personas que murieron con DFT y ELA relacionadas con la expansión. Ambos tipos de transcritos formaban foci de ARN en el núcleo y ocasionalmente en el citoplasma, de neuronas de la corteza frontal así como en el hipocampo y el cerebelo, siendo menos abundantes en astrocitos, microglía y oligodendrocitos. Además el número de foci de ARN se correlacionaba con la edad de inicio de la enfermedad puesto que las personas con más foci fallecen a una edad más temprana. Estos datos apoyan la teoría de ARN tóxico aunque no descarta otros posibles mecanismos.

Se han encontrado pacientes con uno u otro tipo a ARN y ocasionalmente con los dos, aunque es difícil cuantificar cuantos transcritos corresponden a un sentido u otro debido a la diferencia de sensibilidad de las sondas utilizadas. No se conoce si estos foci difieren de algún modo en su fisiología, los investigadores parece que están de acuerdo de que dependerá de las proteínas de unión a ARN que secuestran, aún sin determinar. Se esperaba que los ARN antisentido pudieran producir péptidos mediante un proceso deno-

minado traducción asociada a repeticiones, que se había mostrado para transcritos sentido de C9orf72. Para descubrirlo, los investigadores fabricaron anticuerpos para predecir productos peptídicos antisentido que pudieran resultar de la lectura de 3 marcos antisentido: poli(prolina-alanina/PA), poli(prolina-arginina/PR) y poli(glicina-prolina/GP). Poli(GP) también es codificada por la expansión sentido de ARN. Los anticuerpos para poli(PA) y poli(PR) teñían las inclusiones citoplasmáticas en neuronas del hipocampo, la corteza motora, la corteza temporal, la amígdala, el tálamo, el cerebelo y la médula espinal de los portadores de la expansión de C9orf72.

Otros investigadores publicaron resultados similares observando que los anticuerpos para poli(PA) y poli(PR) teñían inclusiones citoplasmáticas a través del hipocampo y de la corteza, así como en neuronas motoras. Estos dos artículos apoyan la idea de un mecanismo debido a péptidos tóxicos, ya sean los agregados peptídicos o los precursores de los péptidos.

Los cinco péptidos posibles aparecían en diferentes concentraciones en tejidos de pacientes, lo que sugería que podría reflejar las diferentes tasas de traducción o estabilidad para cada péptido. Se está investigando si la toxicidad específica de cada polipéptido puede variar con sus propiedades así como la tendencia a agregar y unirse a otras proteínas.

Transcritos sentido y antisentido de C9orf72 raramente aparecen en los mismos agregados, pero los cinco polipéptidos se encuentran mezclados juntos en células del hipocampo tomadas de personas portadoras de la expansión del hexanucleótido. A continuación se intentará determinar cuáles son más tóxicos, si los ARNs expandidos o los polipéptidos traducidos. Las células de las muestras de tejidos que portan la expansión normalmente contienen o foci de ARN o agregados de péptidos, pero raramente ambas. Esto puede sugerir que la incorporación de ARN a los foci nucleares podría impedir su traducción.

Antisensibilidad silenciando C9orf72

Si los ARNs o péptidos tóxicos son el problema, la terapia con oligonucleótidos antisentido debería ser algún día la solución debido a que los nucleótidos señalarían los transcritos para su degradación por la enzima ribonucleasa.

Actualmente se está probando esta estrategia en clínica en la ELA provocada por la superóxido dismutasa mutada y en la enfermedad de Huntington, que se debe a la expansión de un trinucleótido. A principios de Octubre, dos gru-

pos de investigación publicaron que la estrategia podría detoxificar ARN en modelos celulares de la enfermedad con la expansión en C9orf72. Se han empleado oligos antisentido para disolver los foci de ARN sentido en fibroblastos de personas portadoras de expansiones de C9orf72. El tratamiento elimina las isoformas expandidas de C9orf72, mientras que permite a las isoformas normales constituir la mayoría del ARN de C9orf72.

Para comprender los efectos de C9orf72 sobre otros genes, los investigadores examinaron la expresión génica en fibroblastos de pacientes encontrando 122 genes sobreexpresados y 34 genes infraexpresados. El tratamiento disolvía los foci de ARN, pero sorprendentemente el perfil de expresión anormal de genes persistía. Los autores plantean que el tratamiento falló en la corrección de la expresión génica debido a que dejaba los foci de ARN antisentido intactos. Estos resultados sugieren que sería necesaria una terapia dual dirigida a ambos tipos de ARN sentido y antisentido. Los científicos tienen ahora dos ARNs y cinco péptidos para investigar los potenciales interacciones y mecanismos de toxicidad.

Además de toda esta investigación sobre el ARN de C9orf72, la hipótesis de la haploinsuficiencia también ganó algo de aceptación durante el mes de Octubre. Se ha publicado que en el cerebro y la sangre de los portadores de la expansión, los genes con la expansión en C9orf72 contienen histonas metiladas, modificaciones que se sabe que silencian genes. Estos hallazgos sugieren que la pérdida parcial de la función de C9orf72 podría contribuir a la enfermedad. Se ha publicado además que las personas con la enfermedad relacionada con la expansión de C9orf72, la expresión del ARNm de C9orf72 es anormalmente baja en sangre y cerebro.

Referencia:

Lagier-Tourenne C, Baughn M, Rigo F, Sun S, Liu P, Li HR, Jiang J, Watt AT, Chun S, Katz M, Qiu J, Sun Y, Ling SC, Zhu Q, Polymenidou M, Drenner K, Artates JW, McAlonis-Downes M, Markmiller S, Hutt KR, Pizzo DP, Cady J, Harms MB, Baloh RH, Vandenberg SR, Yeo GW, Fu XD, Bennett CF, Cleveland DW, Ravits J. Targeted degradation of sense and antisense C9orf72 RNA foci as therapy for ALS and frontotemporal degeneration. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Oct 29.

Belzil VV, Bauer PO, Prudencio M, Gendron TF, Stetler CT, Yan IK, Pregent L, Daugherty L, Baker MC, Rademakers R, Boylan K, Patel TC, Dickson DW, Petrucelli L. Reduced C9orf72 gene

expression in c9FTD/ALS is caused by histone trimethylation, an epigenetic event detectable in blood. *Acta Neuropathol.* 2013 Oct 29.

Mizielinska S, Lashley T, Norona FE, Clayton EL, Ridler CE, Fratta P, Isaacs AM. C9orf72 fronto-temporal lobar degeneration is characterised by frequent neuronal sense and antisense RNA foci. *Acta Neuropathol.* 2013 Oct 30.

Gendron TF, Bieniek KF, Zhang YJ, Jansen-West K, Ash PE, Caulfield T, Daugherty L, Dunmore JH, Castanedes-Casey M, Chew J, Cosio DM, van Blitterswijk M, Lee WC, Rademakers R, Boylan KB, Dickson DW, Petrucelli L. Antisense transcripts of the expanded C9ORF72 hexanucleotide repeat form nuclear RNA foci and undergo repeat-associated non-ATG translation in c9FTD/ALS. *Acta Neuropathol.* 2013 Oct 16.

Mori K, Arzberger T, Grässer FA, Gijssels I, May S, Rentzsch K, Weng SM, Schludi MH, van der Zee J, Cruts M, Van Broeckhoven C, Kremmer E, Kretschmar HA, Haass C, Edbauer D. Bidirectional transcripts of the expanded C9orf72 hexanucleotide repeat are translated into aggregating dipeptide repeat proteins. *Acta Neuropathol.* 2013 Oct 17.

Dance, A. "Sense, Antisense: C9ORF72 Makes Both Forms of RNA, Peptides". *The ALS Forum.* 1 de Noviembre de 2013.

LAS NUEVAS NEURONAS EN CRECIMIENTO EN EL PEZ CEBRA REQUIEREN DOPAMINA

Las larvas de pez cebra son transparentes, lo que hace más sencillo a los científicos estudiar su sistema nervioso. A pesar del pequeño tamaño del pez cebra, tiene importantes y sorprendentes habilidades. A diferencia de la mayoría de animales, el pez cebra puede regenerar neuronas muertas y dañadas. Es esta característica lo que hace al pez cebra útil en la investigación animal en el campo de la neurología.

Una ventaja clara sobre ratones y ratas es que cuando llega el tema de la regeneración neuronal, el pez cebra es el profesional. Puede reparar su sistema nervioso y de este modo si se quiere estudiar un proceso de reparación, se pueden entender mejor los pros y esto es lo que están intentando hacer.

En un nuevo estudio publicado por Becker, investigadora del Centro Packard de la Universidad de Edimburgo en la revista *Developmental Cell*, encontró que el neurotransmisor dopamina era crítico durante el desarrollo del pez cebra descendiendo dramáticamente la regene-

ración de la neurona motora en el pez adulto. La dopamina debería ser más familiar para la mayoría de nosotros dentro del grupo de los denominados "químicos del placer" que dirigen desde las adicciones hasta la ansiedad. Además de ayudar a dirigir estos comportamientos (y otros), la dopamina también sirve como coordinador de la señalización durante la diferenciación y el desarrollo del sistema nervioso central. Muchas de estas rutas de señalización embrionaria que se vuelven a activar durante la regeneración, condujo a Becker a hipotetizar que la dopamina podría ayudar al pez cebra a regenerar los cordones espinales y neuronas motoras.

En embriones de pez cebra, Becker y su equipo encontraron que la presencia de dopamina era clave en la formación inicial de las neuronas motoras y sus progenitores. Reduciendo la cantidad de dopamina disponible en la espina dorsal se reducía el número de neuronas motoras formadas durante el desarrollo, lo hicieron bloqueando la actividad de uno de los receptores de dopamina en los progenitores de la neurona motora. Se dañaba de este modo el desarrollo de las neuronas motoras poco después de la fecundación y conducía a menos neuronas motoras en las larvas así como a dificultades al nadar.

El papel de la dopamina se desconoce. Fue algo totalmente nuevo y estaban absolutamente anonadados cuando lo descubrieron. Los efectos de la dopamina no son en la neurona motora en sí misma, sino en las células progenitoras a partir de las que se desarrollan las neuronas motoras.

Aunque los experimentos no se relacionaron directamente con la ELA, Becker dijo que, no obstante, son importantes para la ciencia en ELA. Estos resultados muestran a los investigadores como estimular a células madre para obtener muchas neuronas motoras, lo que sería importante para el avance de la investigación y ensayos de nuevos tratamientos para la ELA.

Referencia:

Arnold, C. "Growing new neurons requires dopamine in zebrafish". *Packard Center.* Julio de 2013.

Reimer, MM. "Dopamine from the brain promotes spinal motor neuron generation during development and adult regeneration". *Dev Cell.* 2013 Jun 10;25(5):478-91.

EL RECICLAJE NEURONAL DETERMINA LA VULNERABILIDAD CELULAR ANTE LAS PROTEÍNAS MAL PLEGADAS

En enfermedades neurodegenerativas, ciertas regiones del cerebro caen víctimas de proteínas tóxicas más rápido que de otras. Durante mucho tiempo se ha querido explicar esta vulnerabilidad selectiva. La respuesta podría estar en la velocidad de ruptura de la proteína, al menos es lo que un nuevo estudio *in vitro* sugiere. El laboratorio dirigido por Steven Finkbeiner, de la Universidad de California en San Francisco, desarrolló una manera para medir la tasa de aclaramiento proteico en neuronas individuales y las aplicó a la proteína que causa la enfermedad de Huntington (EH). Publicado el 21 de Julio en *Nature Chemical Biology*, sus datos sugieren que la habilidad para limpiar la huntingtina (Htt) mutante y regular sus niveles para mantener la homeostasis proteica define la susceptibilidad tóxica de la proteína en las neuronas.

La base de la susceptibilidad celular selectiva en las enfermedades neurodegenerativas ha sido un misterio duradero en el tiempo. La observación de que las células exhiben la diversidad necesaria en la homeostasis proteica como para tomarla en cuenta, al menos parcialmente, en la susceptibilidad al daño, es bastante sorprendente, ya que se asumía que la homeostasis de las proteínas está altamente conservada entre células.

Los científicos miden clásicamente el aclaramiento proteico introduciendo poco tiempo un aminoácido radioactivo en sus estructuras y viendo cuánto tarda en desaparecer. Usualmente emplean muestras de células lisadas durante una serie de intervalos de tiempo para cuantificar la pérdida de radiactividad. Este método de seguimiento por pulsos no puede cuantificar la tasa de degradación de las proteínas en células individuales. La muerte celular espontánea también confunde los resultados, conduciendo a una sobreestimación de la ruptura proteica.

El grupo de Finkbeiner desarrolló un método de seguimiento por pulso óptico para medir el aclaramiento proteico. Los investigadores fusionaron Htt con Dendra2, una proteína fluorescente que cambia su color de verde a rojo cuando se iluminan con un láser azul. Proyectan un pulso corto de luz dentro de las células que expresan la proteína de fusión y entonces emplean un microscopio para medir el descenso en la fluorescencia roja de las células individuales durante varias semanas. La neurodegeneración no oculta los resultados, tampoco la síntesis de nueva proteína, Htt verde. Usando este método, compararon el aclaramiento

de mutantes Htt en células estriatales, corticales, y células cerebelares aisladas de embriones de ratas o crías (modelos animales de enfermedad de Huntington). Las neuronas estriatales eliminan la proteína dos veces más lentamente que las neuronas corticales y se retrasa en neuronas cerebelares. Las proteínas más largas se estancan, la vida de las células se acorta lo que significa que las neuronas estriatales mueren antes. Los investigadores estimulan la autofagia mediante transfección en neuronas estriatales del factor de transcripción Nrf2, que regula la respuesta a estrés de genes, incluido p62 relacionado con autofagia. Esto reduce la vida media del mutante Htt en neuronas estriatales y prolonga la vida media de la célula. Todos estos hallazgos sugieren que las intervenciones que promueven el aclaramiento de las neuronas podrían ser útiles terapéuticamente. ¿Qué causa las diferencias en el metabolismo proteico entre neuronas? Las células se deshacen de las proteínas mediante procesos altamente regulados, cuya activación varía dependiendo del sustrato y del tipo celular. Es demasiado pronto para saber si las diferencias en la homeostasis es la base de una vulnerabilidad selectiva en otras enfermedades neurodegenerativas, pero los planes de Finkbeiner exploran la posibilidad. Su grupo ha encontrado que los subtipos neuronales son vulnerables diferencialmente al mutante ataxina 1, implicado en ataxia espinocerebelar de tipo 1, y esto también prueba los beneficios de aumentar el aclaramiento neuronal de TDP-43 y α -sinucleína, implicadas en ELA y enfermedad de Parkinson respectivamente.

Complementando este estudio sería importante analizar si estos resultados se mantienen *in vivo*. Jeffrey Johnson, de la Universidad de Wisconsin-Madison, está intentando trabajar sobre el mecanismo de los efectos beneficiosos de Nrf2. ¿La respuesta a estrés general se inicia por el tratamiento con Nrf2 y simplemente se mantiene a las células sanas permitiendo que el aclaramiento continúe? o ¿Nrf2 cambia la expresión de proteínas específicas que de alguna manera aumentan el metabolismo? Se necesitan aún más estudios para ayudar a responder estas preguntas.

Los resultados de Finkbeiner apoyan las investigaciones previas que proponen vías de estimulación de la autofagia para tratar la EH. Por ejemplo, pequeñas moléculas activadoras de la autofagia que reduzcan la neurodegeneración en un modelo de *Drosophila* de EH. Sin embargo, simplemente la mejora del proceso de autofagia no funciona en las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, así que las proteínas dañinas interrumpen el proceso

Referencia:

Tsvetkov AS, et al. "Proteostasis of polyglutamine varies among neurons and predicts neurodegeneration". *Nat Chem Biol.* 2013 Jul 21.

Zakaib GD. "Neuronal Recycling Determines Vulnerability to Misfolded Proteins". *The ALS Forum.* 5 de Agosto de 2013.

UN NUEVO MECANISMO RELACIONADO CON EL PLEGAMIENTO ERRÓNEO DE PROTEÍNAS PODRÍA RELACIONARSE CON LA ELA

Se ha identificado recientemente una relación entre un aminoácido tóxico encontrado en cianobacterias y varias enfermedades de la neurona motora que podría ayudar a los investigadores a desarrollar una terapia para estas enfermedades letales.

Las algas azules-verdes (cianobacterias), a menudo se asocian con la desaparición de nutrientes en aguas costeras produciendo un aminoácido neurotóxico denominado BMAA (□-metil-L-alanina).

Los canales australianos regularmente sucumben a brotes tóxicos de algas, sufriendo uno de los mayores del mundo en el verano de 1991-92 donde un brote se extendió a lo largo de 1000 kilómetros en el NSW's Barwon-Darling River System.

Aumentan las evidencias de una relación entre la enfermedad de la neurona motora y el consumo de alimentos o agua contaminadas por esta cianobacteria pero todavía no está claro cómo la toxina del alga daña al sistema nervioso central.

Los investigadores de la Universidad de Tecnología de Sidney (UTS) dirigidos por el Dr. Ken Rodgers en colaboración con el eminente etnobotánico Dr. Paul Cox y otro grupo de investigadores del Instituto de Etnomedicina en Wyoming, EE.UU., han descubierto que la BMAA sustituye a la serina, un aminoácido empleado en la síntesis de proteínas humanas. La BMAA se incorpora de forma errónea en las proteínas humanas en lugar de la serina, dando como resultado proteínas dañadas que con el tiempo, podrían alcanzar niveles tóxicos y matar a las células.

Los resultados de la investigación se publicaron el 25 de Septiembre en la revista PLoS One. El primer autor del artículo, el Dr. Rachael Dunlop, comentó que durante muchos años habían relacionado BMAA con el aumento del riesgo de la enfermedad de la neurona motora.

"Del puzzle faltaba la pieza de cómo podría ocurrir. Finalmente, tenemos la pieza", dijo el Dr. Dunlop.

"En todas las enfermedades neurodegenerativas es

común el problema de que el acúmulo de proteínas sobrecargan las células y las fuerzan a "cometer un suicidio". Esta investigación revela que la BMAA puede disparar este proceso".

BMAA fue identificada originariamente en Guam después de que se encontrara que los jóvenes indígenas, los Chamorros, sufrían la enfermedad de la neurona motora con una frecuencia 100 veces superior a otras personas. Los Chamorros usan semillas de las palmeras cyca para hacer harina, y comen a menudo murciélagos frugívoros, que también comen las semillas. Ambos alimentos contienen BMAA.

Desde entonces, los investigadores han demostrado el aumento en la incidencia de ELA en personas que viven cerca de los lagos objeto de frecuentes brotes de cianobacterias, entre los consumidores de marisco contaminado y en soldados desplegados en la Guerra del Golfo entre 1990-1991.

Referencia:

Dunlop, R. "The Non-Protein Amino Acid BMAA Is Misincorporated into Human Proteins in Place of L-Serine Causing Protein Misfolding and Aggregation." *PLoS ONE*, 2013; 8 (9): 75376.

ScienceDaily. "New Mechanism for Protein Misfolding May Link to ALS". 25 Septiembre 2013.

CLP1 RELACIONA EL METABOLISMO DEL ARNT CON LA DEGENERACIÓN PROGRESIVA DE LA NEURONA MOTORA.

CLP1 fue la primera ARN quinasa identificada en mamíferos. La CLP1 humana es un componente de la maquinaria de rotura y poliadenilación del extremo 3' del ARN mensajero. Único en mamíferos es la asociación de CLP1 con el complejo endonucleasa de procesamiento de ARNt (TSEN). Aunque CLP1 puede participar en múltiples rutas de ARN y los estudios previos realizados en levaduras habían postulado una función en el procesamiento del ARNm, todavía queda por determinar su función precisa in vivo. En el trabajo publicado por el grupo de Hanada en la revista Nature en Marzo de 2013 presentan la generación y el análisis fenotípico de ratones a los que se ha eliminado la CLP1 quinasa. Los ratones desarrollaron una pérdida progresiva de las neuronas motoras, conduciendo a un deterioro mortal de la función motora. Los investigadores no consiguieron obtener ningún embrión viable con CLP1 completamente anulado, indicando una letalidad embrionaria muy temprana. Consecuentemente, generaron rato-

nes portadores de un único cambio de aminoácido (K127A), mutación que elimina la actividad quinasa. El desarrollo y morfología del corazón, hígado, riñón, colon, vejiga, bazo y timo tienen una apariencia normal en un embrión de 18 días. Sin embargo, todos los recién nacidos mostraron una inervación dañada del diafragma, lo que parece ser la causa del fallo respiratorio y la muerte neonatal. Sin embargo, al cruzar ratones con distinto fondo genético se consiguieron crías homocigotas para dicha mutación en Clp1. Estos ratones mostraron una ataxia motora, con una fuerza muscular dañada, y pasos al andar alterados, así como un equilibrio disminuido, indicadores todos de defectos motores. La debilidad muscular y la función motora dañada observada en estos ratones fue progresiva y los ratones empezaron a morir a las 23 semanas, y los más mayores presentaron parálisis completa de las extremidades.

A nivel molecular, se podía observar que la inactivación de la actividad quinasa de CLP1 resultaba en la acumulación de pequeños fragmentos de ARN, no documentados hasta entonces, derivados de procesamientos aberrantes de preARNt tirosinados. Estos fragmentos de ARNt sensibilizan a las células a la activación de p53 en respuesta al estrés oxidativo y a la muerte celular dependiente de p53. El mecanismo exacto por el cual estos fragmentos se acoplan a la ruta de p53 necesita determinarse, sin embargo, el equipo de investigación consiguió una recuperación total de la mortalidad neonatal en ratones sin p53 y sin Clp1 funcional. Las crías viables mostraban extensión normal de los pulmones, una inervación normal del diafragma y una recuperación de la unión neuromuscular. Sería muy importante que la pérdida de la neurona motora pudiera ser rescatada in vivo bien mediante la reducción del estrés oxidativo o bien inactivando genéticamente p53.

Estos experimentos han puesto a descubierto un mecanismo inesperado que relaciona el procesamiento del ARNt y la formación de nuevas especies de ARN con la progresiva pérdida de neuronas motoras reguladas por p53. Estos resultados proporcionan un marco conceptual y experimental de cómo las alteraciones en el metabolismo del ARNt pueden afectar a las neuronas motoras espinales, y podrían ayudar a explicar los principios moleculares fundamentales en enfermedades como la ELA o la atrofia muscular espinal (AME).

Referencia:

Hanada T, et al. "CLP1 links tRNA metabolism to

progressive motor-neuron loss." *Nature*. 2013 Mar 28;495(7442):474-80.

LOS DEPÓSITOS DE ARN PRODUCEN TOXICIDAD EN LA ELA QUE SE RELACIONA CON C9ORF72.

Desde que en 2011 se descubriera que la expansión de la repetición de un hexanucleótido en el gen C9orf72 se encuentra detrás de casos tanto de esclerosis lateral amiotrófica como de demencia frontotemporal, los investigadores han querido saber cómo la mutación causa la enfermedad. Un trabajo reciente sugiere que unos pequeños péptidos obtenidos de la transcripción de la expansión podrían ser los culpables, el 16 de Octubre en la revista *Neuron*, investigadores del grupo dirigido por Jeffrey Rothstein en la Universidad Johns Hopkins de Baltimore, Maryland, destacaron el papel de los agregados de ARN. Los autores encontraron que estos depósitos de ARN secuestran al menos una proteína de unión a ARN que parece ser esencial para la salud de la célula. La utilización de oligonucleótidos antisentido de C9orf72 eliminan casi todos los agregados de ARN, normalizando de este modo la fisiología celular. Este descubrimiento no descarta posibles fuentes adicionales de toxicidad.

Otros investigadores han expresado su entusiasmo por estos hallazgos. El uso de oligonucleótidos antisentido para prevenir algunos de los fenotipos aberrantes en C9orf72 en modelos de células suponen realmente un importante e interesante paso hacia adelante en el campo. Los autores sugieren que el ARN antisentido podría tener un papel potencialmente terapéutico. Ha habido investigadores que, incluido Rothstein, han probado esta estrategia en ensayos clínicos para otras formas de ELA genética, también se han planeado ensayos para otras enfermedades con expansiones de repeticiones como la enfermedad de Huntington y la atrofia muscular espinal.

En otras enfermedades, como la distrofia miotónica, los depósitos que contienen ARN y las expansiones de repeticiones parece que son clave en el secuestro de proteínas de unión a ARN, conduciendo a la edición de transcritos aberrantes para muchos genes y dando lugar a la consiguiente neurodegeneración. Para investigar si ocurre un mecanismo similar en la ELA relacionada con C9orf72, se obtuvieron células madre pluripotentes (iPS) derivadas de fibro-

blastos de la piel de personas portadoras de la variante tóxica de C9orf72. Emplearon las células iPS para generar cultivos mixtos de neuronas y en ellas se observaron agregados de ARN y otras características patológicas vistas en tejido cerebral postmortem de pacientes con ELA asociada a C9orf72. Estos caracteres incluyen el incremento en la sensibilidad a la excitotoxicidad a glutamato, patrones anormales de expresión genética y depósitos de DPR (proteínas de repetición de dipéptido) resultado de la expansión a través de un proceso conocido como traducción aleatoria no iniciada en AUG (RAN) asociada a las repeticiones. A continuación los autores buscaron proteínas que podrían estar atrapadas en los depósitos de ARN. Probaron arrays de proteínas usando la secuencia de la expansión de la repetición en C9orf72 y encontraron 19 candidatos. De estos, propusieron uno: la proteína de unión a ARN ADARB2. La familia de proteínas ADAR ayuda a la edición de transcritos de ARN, existen algunas evidencias de que uno de sus miembros, ADAR2, está fuertemente suprimida en las neuronas motoras de la médula espinal en pacientes con ELA. Encontraron ADARB2 en los focos de ARN en las neuronas C9orf72 inducidas y en los tejidos de los pacientes.

Para ver si ADARB2 conduce a la enfermedad, los autores eliminaron el gen en las neuronas inducidas de pacientes C9orf72. El número de neuronas con focos de ARN disminuyeron a la mitad, sugiriendo que ADARB2 ayuda a formar o mantener estos depósitos. Además, en neuronas inducidas obtenidas de controles sanos, la eliminación de ADARB2 incrementaba la toxicidad a glutamato a niveles vistos en las células de los pacientes. Estos datos apoyan la idea de que el secuestro de ADARB2 podría causar la patología. En trabajos futuros, Rothstein planea buscar las dianas normales de ADARB2 y examinar cómo la falta de esta proteína daña a las células.

Para mejorar la patología, los autores probaron más de 250 oligonucleótidos antisentido diferentes (ASOs) para C9orf72. Los ASOs dirigidos a la expansión de la repetición casi eliminaban los focos de ARN sin suprimir los niveles normales de ARN de C9orf72. El tratamiento ayudaba a normalizar la expresión génica y rescataba parcialmente la toxicidad por glutamato. Curiosamente los depósitos del péptido DPR no cambiaron.

Los resultados apoyan el uso de estrategias que utilizan oligonucleótidos antisentido en ensayos clínicos de ELA. Rothstein ayudó a desarrollar el reciente ensayo en fase I de ASOs en pacientes portadores de una mutación en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1). Isis Pharmaceuticals

de Carlsbad, California, suministró el ASO para el ensayo así como para el estudio de C9orf72. Comentó que otras empresas farmacéuticas habían mostrado interés en C9orf72 como objetivo. Los principales retos en la terapia con ASO están en cómo hacer llegar estas grandes moléculas al cerebro. Las empresas están desarrollando distintas estrategias.

¿Este artículo resuelve la pregunta de cómo la variante en C9orf72 confiere toxicidad? Todavía no. Los datos refuerzan la idea de los focos de ARN como un factor clave, pero no descartan efectos adicionales como la pérdida de proteína codificada por C9orf72 o como la toxicidad de los DPR. En el caso de los péptidos DPR, la atención podría oscilar desde agregados a pequeñas moléculas solubles. Otros investigadores publicaron la existencia de una pequeña correlación entre los sitios de depósito de DPR y la neurodegeneración en cerebros con ELA. Junto con los datos del artículo de Neuron, estos resultados suponen que los agregados de DPR por sí mismos puede que no sean los principalmente implicados en la enfermedad y que incluso pudieran ser protectores. Algunos investigadores creen que esto puede ser cierto del mismo modo para otros agregados proteicos, incluidas las placas. Estos resultados, sin embargo, no descartan un papel para los productos RAN constantemente producidos en la neurotoxicidad en curso. La terapia con ASO dirigida hacia la expansión de las repeticiones podría suprimir tanto el ARN como los oligómeros de DPR recientemente sintetizados, eliminando ambas fuentes potenciales de toxicidad.

Principalmente, este artículo presenta los primeros datos de células iPS obtenidas de pacientes con ELA y la expansión en C9orf72, complementando un artículo reciente que empleaba la estrategia para estudiar pacientes con DFT con la variante tóxica de C9orf72. Estos datos muestran por lo tanto que se pueden utilizar las células iPS para modelar la enfermedad, entender sus mecanismos, y descubrir una terapia.

Referencia:

Rogers, M. "RNA Deposits Confer Toxicity in C9ORF72 ALS". *The ALS Forum*. 13 de Octubre de 2013.

http://www.researchals.org/page/news/12178?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+95&utm_campaign=ALS+Forum+Newsletter&utm_medium=email

Donnelly CJ, et al. "RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense intervention." *Neuron*. 2013 Oct 16;80(2):415-28.

NUEVOS RESULTADOS DE GENETICA

UNA MUTACIÓN - DOS ENFERMEDADES, EN UNA FAMILIA CON UNA EXPANSIÓN EN EL GEN DE LA ATAXINA 2

Una región de repeticiones expandida en el gen de la ataxina-2 causa ataxia Espinocerebelosa y también se ha demostrado que genera un riesgo a padecer esclerosis lateral amiotrófica. Estos hechos descubiertos hace dos años y medio, han llevado a los científicos a pensar que era cuestión de tiempo encontrar ambas enfermedades en una única familia.

En el JAMA Neurology online del 19 de Agosto, los investigadores de la Universidad de Columbia en Nueva York publicaron el primer caso juntamente en una familia. Sheng-Han Kuo y colaboradores describen una mujer con Ataxia Espinocerebelosa de tipo 2 (SCA2) y el tío de la misma persona, que murió de ELA. Ambos compartían la expansión de ataxina 2. Estos hallazgos apoyan artículos previos que sugieren que una misma mutación puede provocar ambas enfermedades.

Los investigadores tenían una pequeña razón para sospechar una relación entre SCA2 y ELA y fue un artículo de 2010 el que vinculaba la ELA con las repeticiones en ataxina 2. La mayoría de las personas tienen 22 o 23 repeticiones de poliglutamina en el gen de la ataxina 2; 34 o más repeticiones causan SCA2 con una penetrancia cercana al 100%. Y aunque los umbrales precisos permanecen sin conocerse (la penetrancia de la mutación) algunos grupos ya han confirmado que entre 27 y 33 repeticiones incrementan el riesgo a padecer la ELA.

Kuo introdujo a la mujer con SCA2 en un grupo de apoyo de ataxia. Ella aseguraba que su tío con ELA debía estar relacionado con su enfermedad, pero hasta el artículo del 2010, Kuo no pudo explicar el porqué. Se obtuvo una muestra de ADN de ambos. Descubrieron que la mujer portaba 40 repeticiones, el tío 39. Sus ascendientes indicaban que el padre de la mujer, (el hermano del tío), debía haber portado la expansión, del mismo modo. Murió a la edad de 62 de diabetes, aunque seguramente debiera haber desarrollado ELA o ataxia en caso de haber vivido más tiempo. De hecho, si él hubiese tenido dificultad al andar, los médicos hubieran hecho responsable de esos síntomas a una neuropatía asociada a la diabetes sin haber buscado otra

causa. La madre del padre tenía ataxia cuando murió de un ataque cardíaco a los 62 años. Aunque es posible que la ELA del tío fuera una coincidencia y no se relacionase con el genotipo de ataxina 2, realmente es poco probable. Dio negativo para mutaciones en otros dos genes, como son la superóxido dismutasa 1 (SOD1) y la expansión en el gen C9orf72. La relación entre ELA y ataxina 2 proporciona buenas pruebas circunstanciales de que la enfermedad del tío se debía a la misma expansión que la de su sobrina. Este estudio deja una pregunta abierta. Casos como el del tío, con una expansión en SCA2 pero con síntomas de ELA, ¿representan una ELA real o una ataxia sin diagnosticar? Se han observado casos ELA con más de 32 repeticiones y esas personas tenían realmente ELA ya que no había tenido otros síntomas de SCA2. En controles, casos de 32 o más repeticiones son raros aunque en un estudio se encontraron 31-33 repeticiones. En esa cohorte, 9 de 4887 controles sanos (0,2%) portaban 31-33 repeticiones, aunque 6 de esos eran más jóvenes que la edad de inicio para la ELA. Esto indica que estas expansiones no siempre causan ELA y que su presencia puede ser fortuita.

Los datos apoyan un espectro clínico de enfermedad en los casos con la expansión en el gen ataxina 2 que cursaría con sintomatología propia de ambas: ELA y SCA2. Todo ello sugiere a los neurólogos que reexaminen en las familias portadoras de SCA2 signos de ELA, y también que busquen casos con patologías entre ELA clásicas y SCA2 estándar.

Este tipo de espectro de enfermedades no sería nuevo. Mutaciones en la proteína contenedora de valosina (VCP) causan varias enfermedades – incluidas la ELA, la demencia frontotemporal, y una miopatía de cuerpos de inclusión con enfermedad ósea de Paget – dentro de la misma familia. De forma similar, las mutaciones en senataxina se han relacionado con ELA juvenil y ataxia con apraxia oculomotora. Esto coincide con el concepto de que la ELA es un síndrome clínico con etiologías heterogéneas, más que entidades patológicas independientes.

Se ha visto que las expansiones en ataxina 2 causan también parkinson y distonía, además de ataxia. Se ha publicado que el parkinsonismo y la enfermedad del Parkinson, en particular, aparecen junto a las expansiones SCA2. Otro estudio relaciona la expansión con la parálisis supranuclear progresiva. A los neurólogos se les podrían haber escapado casos de ELA en historias familiares, debido a que asumen que un pariente en silla de ruedas es debido a

una ataxia y no a una enfermedad de neurona motora. Determinar si un paciente tiene ELA o ataxia puede ser importante para una prognosis, sugiriendo que la electromiografía podría ayudar al médico a distinguir entre ambas.

Saber que tanto SCA2 como la ELA pueden ser debidas a la expansión de ataxina 2 y que pueden concurrir en la misma familia podría ayudar a los médicos a pedir test genéticos. Existen más de 50 mutaciones que podrían explicar la ataxia, pero si los médicos conocen casos de ELA en el árbol familiar, la ataxina 2 podría pasar a ser una de las principales en la lista.

Referencia:

Dance, A. "One Mutation, Two Diseases in Family with Ataxin-2 Expansion". *The ALS Forum*. 23 de Agosto de 2013. <http://www.researchals.org/page/news/11837>

Tazen S, et al. "Amyotrophic lateral sclerosis and spinocerebellar ataxia type 2 in a family with full CAG repeat expansions of ATXN2". *JAMA Neurol*. 2013 Aug 19. [Epub ahead of print] Abstract

LAS MUTACIONES EN ERBB4 QUE AFECTAN A LA RUTA DE LA NEUREGULINA-ERBB4 CAUSAN ELA DE TIPO 19

La ELA familiar (ELAf) comprende el 5%-10% de los casos de ELA y la identificación de los genes asociados con la ELAf es indispensable para elucidar la patogénesis molecular. El artículo publicado por Takahashi y colaboradores en la revista *The American Journal of Human Genetics* del 7 de Noviembre identifica a una familia japonesa afectada por una ELA autosómica dominante de inicio tardío en la que se habían descartado mutaciones asociadas con la ELA en genes previamente conocidos. La mayoría de los pedigrís de ELAf no son muy grandes y no afectan a demasiados miembros. Como resultado de un diagnóstico pobre y de una edad de inicio tardía es complicado obtener regiones candidatas suficientemente acotadas para realizar análisis de ligamiento y supone un esfuerzo enorme identificar genes asociados con la ELA. El reciente descubrimiento de tecnologías de secuenciación masiva en paralelo ha permitido vencer la dificultad que suponía la secuenciación de todo el genoma (WGS) o el análisis del exoma. Las mutaciones que se encuentran en genes asociados a ELAf pero que también son identificados en individuos con ELA esporádica (ELAe) se

consideran mutaciones con penetrancia reducida o mutaciones de novo.

La secuenciación de todo el genoma y el análisis paramétrico de ligamiento se realizó bajo la premisa de un modo de herencia autosómico dominante con una penetrancia incompleta revelando la mutación c.2780G>A (p.Arg927Gln) en ERBB4. Un análisis mutacional mostró la misma mutación en un individuo canadiense con ELA familiar y una mutación de novo, c.3823C>T (p.Arg1275Trp) en un caso aislado en un individuo japonés. Estas sustituciones de aminoácidos implican aminoácidos conservados entre especies y se predicen por tanto como probablemente perjudiciales. Además se localizan dentro de un dominio tirosín quinasa (p.Arg927Gln) o en un dominio C-terminal (p.Arg1275Trp) y ambos median funciones esenciales de ErbB4 como receptor tirosín quinasa. Análisis funcionales revelan que estas mutaciones conducen a la reducción de la autofosforilación de ErbB4 sobre la estimulación de neuregulina-1 (NRG-1). La presentación clínica de los individuos con las mutaciones se caracterizan por la implicación tanto de las neuronas motoras superiores como inferiores, pérdida cognitiva y progresión relativamente lenta de la enfermedad.

En otros trabajos se había publicado que la pérdida de Erbb4 es letal en embriones de ratones, los ratones heterocigotos muestran un peso corporal reducido y un retraso en el desarrollo. Además el ratón knock-out condicional específico de cerebro demuestra una reducción espontánea de la actividad motora y una disminución en la fuerza de agarre de sus patas traseras. De la misma forma ratones carentes de un dominio rico en cisteínas de una isoforma de Nrg-1 mueren en la fase perinatal como resultado de un fallo respiratorio, una pérdida detectable del movimiento de las extremidades y además muestran una pérdida del 60% de las neuronas motoras espinales.

Este estudio proporciona evidencias de que la interrupción de la ruta de neuregulina-ErbB4 está implicada en la patogénesis de ELA y potencialmente abre el camino al desarrollo de estrategias terapéuticas innovadoras como el uso de NRGs o sus agonistas para regular las funciones de ErbB4.

Referencia:

Takahashi Y, et al. "ERBB4 Mutations that Disrupt the Neuregulin-ErbB4 Pathway Cause Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 19." *Am J Hum Genet*. 2013 Nov 7;93(5):900-5.

BIOMARCADORES

IMÁGENES EN EL CEREBRO SUGIEREN UN DESEQUILIBRIO DE NEUROTRANSMISORES EN LA ELA

Mientras sea imposible medir directamente neurotransmisores y metabolitos en el cerebro humano vivo, los radiólogos pueden acercarse mediante el uso de resonancia magnética espectroscópica (MRS). MRS emplea el mismo equipo que la imagen por resonancia magnética (MRI) pero permite a los científicos detectar sustancias químicas específicas. El 24 de Junio en la revista JAMA Neurology, el grupo de investigadores dirigidos por Bradley Foerster y Eva Feldman publicaron que la MRS nos revela que existen niveles más bajos de los normales del neurotransmisor GABA en la corteza motora de las personas con ELA. Estos pacientes tienen también elevados los niveles de glutamato en el cerebro. Este estudio representa la primera vez que GABA y glutamato se han medido en el cerebro simultáneamente por MRS. Y los resultados apoyan la teoría de que la pérdida de la actividad inhibitoria GABAérgica sobreestimula las neuronas excitatorias, conduciendo a una toxicidad por glutamato en la ELA.

La espectroscopia por resonancia magnética emplea el mismo principio que la resonancia magnética por espectroscopia de pequeñas moléculas. Con la ayuda de un campo magnético más potente se obtiene un espectro químico de la mayoría de tejidos y órganos. En una imagen parecida a una MRI, la MRS cuantifica los metabolitos más abundantes en el cerebro. En este estudio se ha utilizado MRS para detectar N-acetilaspártato, colina, creatina, mioinositol, y glutamato/glutamina (Glx) en el cerebro. Los niveles de GABA son más difíciles de inferir porque sus picos espectrales aparecen más pequeños que los de creatina, aunque se encuentran en la misma posición. Para medir GABA, los investigadores usan equitativamente un método de sustracción estándar. Mediante la alteración del campo magnético proporcionado por el equipo de MR para cambiar específicamente la señal de salida de GABA. Se realiza la sustracción del espectrograma alterado de GABA respecto a uno regular, pudieron así cuantificar las señales de creatina y eliminando ésta, medir los niveles de GABA. "La técnica que usaron...es muy sólida," comentó Erik Pioro (Instituto Neurológico Clínico de Cleveland, en Ohio) quien no está implica-

do en el estudio. Los investigadores usaron un campo de tres Teslas; uno de siete Teslas podría haber funcionado mejor, dijo Pioro, pero sólo está disponible en centros muy especializados. De todos modos, la pérdida de GABA y el aumento de glutamato aparecen en 29 personas con ELA al compararlos con los resultados que se obtienen en 30 controles sanos. Esto confirma los hallazgos más recientes del grupo en un subgrupo de estos pacientes. Los investigadores creen que la excitotoxicidad del glutamato es uno de los mecanismos subyacentes en la ELA. "Quizás la reducción de GABA podría ser un factor de predisposición a la excitotoxicidad", dijo Foerster. Sin embargo, hay que tener cuidado porque una relación directa entre bajos niveles de GABA y altos de glutamato aún permanecen sin haber sido probados. "Es la primera demostración en pacientes con ELA que sostiene la idea de que existe un desequilibrio entre un sistema inhibitorio y otro excitatorio", dijo Pioro. De hecho, no todos los participantes con ELA mostraron un incremento de glutamato. Las 15 personas que tomaban riluzole diariamente mostraron niveles de glutamato más semejantes a los controles. Riluzole es el único fármaco aprobado para la ELA y se pensaba que atenúa la señalización por glutamato. Foerster sugiere que podría ser interesante seguir a los pacientes longitudinalmente para observar si el tratamiento reduce los niveles de glutamato. ¿Podría la MRS de neurotransmisores ayudar a identificar a las personas con ELA o predecir el curso de la enfermedad? "Pienso que el tiempo que ha llevado a reevaluar MRS, dado los refinamientos técnicos y los campos de potencia mayor que los que existían disponibles hace 10 años", comentó Nigel Leigh del King's College, en Londres, Reino Unido. "podrían ser todavía temas importantes relacionados con sensibilidad y sensibilidad y los picos de MRS para el GABA y el glutamato, así que es difícil ver hasta dónde llega esta estrategia en un seguimiento de monitorización (por ejemplo, en un ensayo clínico) pero merece la pena intentarlo". Bill Klunk del Centro Médico de la Universidad de Pittsburgh en Pennsylvania, que no estaba involucrado en el estudio, comentó que existía un gran solapamiento entre los niveles de GABA en pacientes y controles como para ser empleados en clínica. Añadió que MRS sólo identifica a los neurotransmisores y metabolitos, pero no dicen a los radiólogos si estos componentes se encuentran en neuronas o glía, o si actúan como neurotransmisores o participan en metabolismo celular, como lo hace el glutamato. "El campo

de la MRS no tiene un gran impacto”, dijo Klunk, quien trabajó con MRS para la enfermedad del Alzheimer en el pasado pero dijo que se decidió a no continuar.

Foerster conociendo estas limitaciones dijo “No creo que la espectroscopia sea la clave en diagnóstico”, “No pienso que una medida individual por imagen vaya a ser suficiente como biomarcador por sí mismo. Quizás combinado con imagen con tensor de difusión y otras MRI estándar, e incluso otras medidas de metabolitos del suero o en el líquido cefalorraquídeo, MRS podría ser uno más dentro de un panel de biomarcadores para diagnóstico, prognosis, o estratificación clínica de participantes en ensayos”.

Referencia:

Foerster, BR. et al. “An imbalance between excitatory and inhibitory neurotransmitters in amyotrophic lateral sclerosis revealed by use of 3-T proton magnetic resonance spectroscopy.” *JAMA Neurol.* 2013 Jun 24:1-8.

MEJORES DIAGNÓSTICOS Y TEST PRONÓSTICOS, PASOS HACIA LA OBTENCIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO PARA LA ELA

Aunque no parezca un nombre apropiado para una empresa médica – o al menos uno de los que se esperaría – el de Iron Horse Diagnostic actualmente adquiere mucho sentido. El nombre proviene de un gran jugador de béisbol americano que padeció ELA a principios del siglo pasado, Lou Gehrig, apodado “The Iron Horse.” Esta empresa de Scottsdale, Arizona, está desarrollando una serie de biomarcadores basados en proteínas que funcionen como test diagnóstico y pronóstico de enfermedades, que afectan a las células nerviosas en el cerebro y médula espinal. Debido a que la ELA no tiene síntomas específicos que también pudieran ser indicativos de otras enfermedades, es difícil su diagnóstico. Aunque aún no existe una cura para la ELA, Robert Bowser, profesor y director de neurobiología del Barrow Neurological Institute, dice que los procedimientos disponibles para ayudar a controlar la enfermedad tienden a funcionar mejor si se administran pronto.

Bowser es fundador de Iron Horse Diagnostics, la empresa acaba de obtener un socio farmacéutico para validar dos test para ELA. Bowser dice “Hemos llevado a cabo estudios en 23 centros en EE.UU. donde se recogieron muestras

y se enviaron al laboratorio”, “La precisión global del test fue del 93%”. Actualmente, están preparando otro estudio prospectivo con 300 sujetos en 6 sitios más. Los test basados en pruebas de laboratorio muestran niveles de las proteínas denominadas pNfH y complemento c3, que Bowser y colaboradores han identificado que son componentes importantes de la enfermedad. Uno de los test emplea líquido cefalorraquídeo del paciente y otro emplea muestras sanguíneas.

Más adelante, espera desarrollar ensayos pronósticos adicionales que podrían ser empleados para monitorizar la progresión de la enfermedad y estimar la efectividad de los nuevos fármacos en ensayos clínicos. Mientras tanto Iron Horse está también trabajando en biomarcadores sanguíneos que podrían permitir diagnósticos más tempranos y más seguros de lesiones cerebrales traumáticas.

Antes de lanzar tecnológicamente Iron Horse en 2012, como miembro de la Universidad de Pittsburgh, Bowser co-fundó una empresa de desarrollo de fármacos llamada Knopp Biosciences. Esta empresa con sede en Pittsburgh está desarrollando fármacos para ELA y en 2010 firmó un contrato de licencia con Biogen Idec. A comienzos del año 2013, lamentablemente el fármaco no tuvo éxito prolongando la vida, ni disminuyendo la pérdida de la función muscular en la enfermedad en un ensayo clínico de Fase III.

Financiado por una beca SBIR del National Institutes of Health (Institutos de salud americanos) y algunos fondos privados, Iron Horse está buscando financiación para ensayos clínicos.

Referencia:

Pogorelc, D. “Better diagnostic, prognostic tests are one step toward better ALS treatment to this startup.” *MEDCITY News.* 1 de Octubre de 2013.

SE LLEVARÁN A CABO ENSAYOS CLÍNICOS CON UNA NUEVA TECNOLOGÍA CEREBRAL PARA ASISTIR A PACIENTES CON ELA EN PHILADELPHIA

Una nueva tecnología, que permitirá a los pacientes que sufren de ELA comunicarse mediante monitores cerebrales, comenzará su primer ensayo clínico en Philadelphia. El congresista Chaka Fattah estuvo presente en el anuncio, realizado el 15 de Octubre en las conferencias Brain Tech Israel en Tel Aviv.

El anuncio llegó días después de que Fattah y el Dr. Philip Low, quien patentó el dispositivo se reuniese con Fattah para conversar a cerca de las futuras posibilidades de asociación neurocientífica para fomentar la investigación en tecnología cerebral en los EE.UU., particularmente en el distrito de Fattah en Pennsylvania.

Horas antes de la conferencia, el Dr. Low, fundador y director ejecutivo de NeuroVigil, una empresa de San Diego, solicitó una patente para el nuevo monitor cerebral – el más pequeño del mundo en este momento. Low presentó las primeras pruebas del éxito del monitor cerebral a cerca de los 700 investigadores, científicos, investigadores y pacientes reunidos. Los asistentes a la conferencia vieron un video de un paciente (el primero que hacía eso) deletreando su primera palabra sin emplear su cuerpo, usando un comunicador conectado a su mente, con una salida monocal no invasiva. Low había desarrollado otras tecnologías usando el monitor para probarlo en pacientes en varias fases de la ELA.

Fattah quien habló antes en la conferencia, felicitó a Low por su innovadora investigación y su compromiso con los millones de pacientes en América y el resto del mundo, que sufren enfermedades y trastornos cerebrales.

“El Dr Low está realizando un trabajo realmente remarcable dentro del campo de la neurociencia y estoy entusiasmado de que podamos asociarnos para traer el futuro a ensayos clínicos a Philadelphia”, dijo Fattah. “No sólo tenemos grupos de los investigadores de primera clase, doctores y científicos en nuestro distrito, sino que también tenemos la división más destacada de la ALS Association y la ALS Hope Foundation, en Philadelphia”.

“Estamos comenzando un centro ELA en la NASA para trabajar con personas que tienen patologías, vamos a continuar el ensayo clínico en Philadelphia. Nos complace trabajar con el Congresista Fattah y el Presidente (Obama) en la iniciativa BRAIN”, dijo el Dr. Low en sus observaciones. “Y estamos trabajando para crear un grupo de neurotecnología que nos permitirá trabajar juntos – si estamos en EE.UU., Israel, o en cualquier lugar del mundo”.

El laboratorio de investigación satélite operará en el NASA's Research Park en Mountain View, California, y permitirá al Dr. Low continuar desarrollando tecnologías de asistencia antes de empezar los ensayos para esta nueva tecnología. Low creó el iBrain – un dispositivo portátil que monitoriza y diagnostica trastornos cerebrales – anteriormente empleado en ensayos clínicos en su investigación en la Drexel University en Philadelphia. Como el líder demócrata de la Comisión de Apropiedades de

la Cámara de Representantes de Comercio, Justicia y Ciencia y organizaciones relacionadas, que incluyen la supervisión de la financiación de la NASA – el congresista Fattah ha elevado la investigación en neurociencia a prioridad nacional.

También es el artífice de la Fattah Neuroscience Initiative (FNI), creada con el apoyo de la Casa Blanca. FNI es una iniciativa política innovadora que busca lograr resultados pioneros en la comprensión del cerebro humano a través de estrategias de colaboración investigadora.

Referencia:

“New Brain Technology to Assist ALS Patients Will Launch Clinical Trials in Philadelphia.” PRNewswire. 17 de Octubre de 2013.

http://www.digitaljournal.com/pr/1531907?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+95&utm_campaign=ALS+Forum+Newsletter&utm_medium=email

PRIZE4LIFE ANUNCIÓ EL LANZAMIENTO DE LA ACTUALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO EN ELA DOTADO CON UN MILLÓN DE DÓLARES

En Octubre de 2010, Prize4Life cerró las inscripciones para el “\$1M ALS Treatment Prize4Life”, que fue anunciado en 2008 y que tenía como objetivo conseguir proyectos de desarrollo de fármacos con promesas terapéuticas alentando a los investigadores a prolongar la vida de modelos de ratones con ELA en un 25%. Hoy en día, ningún compuesto analizado en modelos de

ratones ELA SOD1mt, bajo rigurosas condiciones experimentales, ha demostrado la capacidad de prolongar la vida media en estos animales en un 10%. Esta ausencia de efectos en animales se ha correlacionado en la ausencia de efecto en pacientes y en los últimos 7 años la comunidad de ELA ha tenido que soportar la decepción de numerosos ensayos clínicos fallidos. Mientras el 25% de nivel seleccionado por Prize4Life era ciertamente alto, este nivel de eficacia sigue siendo la mayor esperanza para identificar un nuevo tratamiento para la ELA y el llamamiento a la comunidad científica encargada del desarrollo de fármacos.

Durante la primera ronda de competición abierta, el premio reclutó 33 equipos de universidades y de la industria y atrajo a 17 nuevos grupos para la investigación en ELA y desarrollo de fármacos.

Habían decidido re-abrir la competición dado la necesidad continua de un tratamiento efectivo para la ELA. Los criterios revisados tenían en cuenta los cambios en el panorama en los últimos cuatro años desde que se convocó el primer premio. Pensamos que existe una oportunidad para el lanzamiento de la actualización del Prize4Life para el tratamiento de la ELA de un millón de dólares para acelerar al máximo la investigación con el fin de encontrar un tratamiento efectivo.

Abierto oficialmente el plazo el 6 de Junio de 2012, la actualización del "\$1M ALS Treatment Prize4Life", busca reclutar nuevas mentes e ideas para la investigación en ELA y fomentar la generación de sólidos datos preclínicos. A través de la iniciativa del premio y los programas de apoyo

con infraestructuras, como The ALS Forum y el Prize4Life SOD1 Mouse Colony, se pueden infundir los avances necesarios en los lentos proyectos de desarrollo de un fármaco e identificar un candidato terapéutico potente digno en el avance de los análisis clínicos en pacientes con ELA. Incentivando investigaciones en ELA nuevas e investigadores con experiencia, y procurándoles el acceso a recursos esenciales, el "\$1M ALS Treatment Prize4Life" acelerará el descubrimiento y desarrollo de los tratamientos de miles de pacientes y familias que necesitan ayuda urgente.

Referencia:

Prize4Life. "Prize4Life announces the launch of the updated \$1M ALS Treatment Prize4Life, opening June 6th, 2012."

RILUZOL GENÉRICO... YA EN EL MERCADO!

La FDA (Food and Drug Administration) concedió el 18 de Junio de 2013 la autorización a tres empresas farmacéuticas, para comercializar 3 versiones genéricas del fármaco para la ELA, el riluzol.

Las empresas farmacéuticas son: Apotex Corp., Glenmark Generics y Sun Pharmaceuticals Industries. Riluzol (marca comercial Rilutek) – que fue desarrollado basado en la investigación financiada por la MDA (Muscular Dystrophy Administration) sobre el neurotransmisor glutamato, es el único fármaco aprobado para su venta en EE.UU. por la FDA para tratar la esclerosis lateral amiotrófica.

Riluzol, que se sabe que interfiere con la homeostasis

del glutamato, es el único fármaco aprobado por la FDA para tratar la ELA y se asocia a un modesto aumento en el tiempo de supervivencia. Los investigadores piensan que la excesiva señalización por el glutamato, un neurotransmisor del sistema nervioso central, puede desempeñar un papel en enfermedades neurodegenerativas como la ELA, mediante un mecanismo denominado excitotoxicidad. Sanofi recibió la aprobación de la FDA para comercializar riluzol bajo la marca de Rilutek en diciembre de 1995. La empresa patentó el fármaco, teniendo la comercialización exclusiva en los EE.UU. que expiró el 18 de Junio de 2013. Covis Pharmaceuticals actualmente está vendiendo Rilutek en los EE.UU. por que adquirió los derechos para comercializar el fármaco en abril de 2013.

El 19 de Junio de 2013, en un comunicado de prensa, Glenmar Generics comentó que empezará a vender riluzol genérico inmediatamente. Apotex ha introducido en las listas de su página web a riluzol como "nuevo producto lanzado". Aunque Sun Pharmaceuticals todavía no ha actualizado la lista de fármacos de su página web.

Referencia:

MDA Clinic Connect. "Generic Riluzole on the Market". Agosto de 2013.