

FUNDELA

Boletín Científico 44

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

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

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

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



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

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

● **ESTUDIOS DE LOS GENES SOD1, ANG, SENATAXINA, RA, TARDBP Y FUS-TLS**

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

● **BOLETIN CIENTIFICO**

Actualmente contamos con subvenciones de SEALED AIR BUÑOL, Fundación MUPITI y FRANHUR, La Caixa y aportaciones particulares de pacientes y familiares que sufren la ELA.

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

Para realizar donaciones económicas pedimos suscribirse en nuestra página web:

<http://www.fundela.es/captaBanco.php>

Colaboradores voluntarios de este número:

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

Dr. Miguel González-Muñoz (Bioquímico – Hospital Carlos III)

Dra. Tatiana Mezquita e Silva (Fisioterapeuta–ABRELA - Brasil)

Da. Fernanda Aparecida Maggi (Fisioterapeuta–ABRELA Brasil)

Da. Celiana Figueireda Viana (Fisioterapeuta–ABRELA–Brasil)

Dra. Sara Feldman (Fisioterapeuta – MDA/ALS Center of Hope at Drexel University)

Dra. María Teresa Solas (Bióloga, Universidad Complutense)

Dra. Teresa Salas (Psicóloga, Unidad de ELA - Hospital Carlos III)

Dra. María Luisa Fajardo (Epidemióloga – Delegación Provincial de Salud de Huelva, Junta de Andalucía)

Da. María Isabel Gutiérrez Cobos (Voluntaria FUNDELA)

Dr. Jesús S. Mora Pardina (Neurólogo, Director Unidad de ELA - Hospital Carlos III)

Sumario

03 ----->

EDITORIAL

RESUMENES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS EN EL 23º CONGRESO INTERNACIONAL DE ELA EN CHICAGO (EEUU) DIC 2012

04 ----->

ENSAYOS CLINICOS

06 ----->

MULTIDISCIPLINARIEDAD.

07 ----->

CALIDAD DE VIDA DEL PACIENTE.

12 ----->

LOS NIÑOS EN LA FAMILIA DE LOS PACIENTES CON ELA.

INVESTIGACION BASICA.

OTROS ARTÍCULOS DE INTERES

26 ----->

ELIMINAR LA BASURA PROTEICA EN LAS CÉLULAS NERVIOSAS PODRÍA AYUDAR A CONTROLAR 2 ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.

27 ----->

INVESTIGACIONES DEMUESTRAN LA INFLUENCIA DE UNA REGIÓN GÉNICA EN LA EDAD EN LA QUE LOS AFECTADOS DESARROLLAN ELA.

EDITORIAL

Como miembro de la junta directiva de la Alianza Internacional de ELA, desde el 2011, os informo a continuación los puntos tratados en la Reunión de la Asamblea Anual Internacional de Asociaciones de ELA/EMN, con el objetivo de compartir iniciativas y desarrollar estrategias para la lucha contra esta enfermedad, llevada a cabo del 1 al 3 de diciembre, donde asistieron 47 representantes de 26 organizaciones miembros.

Las presentaciones se organizaron de acuerdo a los siguientes temas:

Reunión de la Junta Directiva.

Promoción de la investigación en las Asociaciones Miembros.

- Comunicación de lo bueno, lo malo y la fea verdad desde la ciencia a la no ciencia a las personas que tienen inclinación a participar en estos seudos estudios. ALS TDI - EEUU.
- Ensayos Clínicos de Células madre - Esperanza o frustración. IsrALS - Israel.
- La recaudación de fondos para la investigación de la ELA en Australia: Comunicación, Información, Participación. MND Australia.

Las presentaciones introductorias de los nuevos miembros de la Alianza.

- Fundación Rusa en ELA. Russian Charity ALS Foundation - Rusia.
- Por un mundo sin ELA. ELA Perú.

Actualización de las actividades de las Asociaciones Miembros.

- La ELA en Italia: Donde estamos y a dónde vamos. AISLA - Italia.
- Programa para pacientes recién diagnosticados. IsrALS - Israel.
- ALS Liga 2012 & Sus proyectos. ALS Liga Belgie - Bélgica.

Asociaciones y Cooperación.

- Planta una semilla - Crecerá un árbol: ¿Cómo una bola de nieve puede iniciar una avalancha en la comunidad mundial de la ELA? Algonquin College - Canadá.
- Alcances en el exterior - Desarrollo de Alianzas y Colaboraciones en la Región Asiática del Pacífico. MND Australia.

El apoyo a los familiares de pacientes con ELA.

- Si usted vive con ELA, también lo hace su familia. Hope Loves Company - USA.
- Ustedes son mis alas: Cómo utilizar los recursos locales para apoyar a las personas con ELA y sus familias. Taiwán MNDA - Taiwán.
- Una persona o dos en uno. MND Society of Iceland - Islandia.

La incorporación de los pacientes en la defensa, educación, recaudación de fondos y decisiones de financiación.

- La incorporación de los pacientes y familias en la defensa: Estatutos de la ELA. MNDA of England, Wales & N. Ireland.
- Día internacional de la ELA en Brasil. ABRELA - Brasil.
- Plan de Seguro Nacional de Discapacidad y cómo hemos involucrado a nuestros miembros en la campaña de defensa del mismo. MND Victoria - Australia.
- Un largo Nado: Recaudación de fondos y conciencia para la investigación en ELA. Les Turner Foundation - USA.

Varios

- Introducción: Organización para las personas con necesidades especiales. Motus Vita - Letonia.
- Esclarecer la ELA. Duke University - Alemania.
- Presentación Biogen IDEC.
- Presentación Reunión Internacional Alianza, Symposium Internacional of ALS en Milán 2013.

Esta reunión precede al Allied Professionals Forum y al 23º Symposium Internacional sobre ELA, cuyos resúmenes os presentamos a continuación.

Teresa Salas.

RESUMENES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS EN EL 23º CONGRESO INTERNACIONAL DE ELA EN CHICAGO (EEUU) DIC 2012

ENSAYOS CLINICOS

- **BIOGEN INFORMÓ EN UN COMUNICADO QUE EL ENSAYO EN FASE III CON DEXPRAMIPEXOL PARA PACIENTES CON ELA, NO HA RESULTADO POSITIVO.**

Biogen Idec anunció el día 3 de enero de este año, que los resultados del ensayo EMPOWER no ha resultado positivo. El análisis de los datos del estudio ha mostrado que el dextramipexol no ha alcanzado el objetivo primario, mejorar la valoración combinada de supervivencia y funcionalidad a los 12 meses de tratamiento. Los componentes de esta valoración, la funcionalidad medida mediante la escala ALSFRS-r y la supervivencia medida como tiempo hasta el fallecimiento, no han mostrado diferencias entre el grupo placebo y el tratado con dextramipexol. Las tasas de mortalidad y de deterioro de la ALSFRS-r del grupo placebo fueron las esperadas. No hubo diferencias entre grupos en las variables secundarias de eficacia. Las características basales fueron similares entre los dos grupos. Ninguno de los múltiples análisis de subgrupos demostró diferencias entre el grupo placebo y el tratado con dextramipexol. De forma global los eventos adversos, su gravedad y la tasa de retiradas debido a ellos fueron comparables entre ambos grupos. A pesar de que los resultados no son los esperados el ensayo EMPOWER representa una contribución significativa a la investigación en la ELA. Ha sido uno de los ensayos más exhaustivos llevados a cabo, ha creado una importante base de datos para futuras investigaciones y ha establecido una novedosa medida de eficacia para los ensayos en ELA combinando supervivencia y funcionalidad. Biogen Idec continúa comprometida para trabajar con los investigadores de todo el mundo para comprender las causas de la ELA e intentar encontrar nuevos tratamientos para esta enfermedad. Tenemos varios programas en curso para identificar y evaluar otros potenciales compuestos para la ELA. Compartimos la desilusión por los resultados del estudio, dada la imperiosa necesidad de nuevos tratamientos para la ELA. Estamos profundamente agradecidos por la colaboración de los pacientes y sus cuidadores que han participado en esta importante investigación clínica así como por el compromiso de los investigadores y sus equipos para llevar a cabo este desafiante ensayo clínico. Nuestra pasión por los pacientes es nuestra inspiración.

Referencias:

Douglas Kerr, MD, PhD. Medical Director, Neurodegeneration - Clinical Development
Miembros del comité científico conductor:

Merit Cudkowicz, Massachusetts General Hospital University Harvard, Boston. Leonard van den Berg, University de Utrecht, Utrecht, Países Bajos. Jesús S. Mora, Hospital Carlos III, Madrid, Spain. Jeremy Shefner, University del Estado de Nueva York. Albany, NY
Northeast Amyotrophic Lateral Sclerosis (NEALS) - [3 enero 2013]3/1/03
http://www.alsconsortium.org/news_press_release_biogen.php

- **CYTOKINETICS SE PREPARA PARA INICIAR EL PROGRAMA DE REGISTRO DE TIRASEMTIV (CK-2017357).**

Cytokinetics, Incorporated (Nasdaq: CYTK) anunció que va a iniciar un ensayo clínico internacional en Fase III, aleatorio, doble-ciego, placebo-control, diseñado para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de tirasemtiv (anteriormente CK-2017357) en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (ELA). La compañía planea comenzar el ensayo clínico, conocido como CY 4026, a primeros del año 2013.

En meses anteriores, Cytokinetics presentó el protocolo de CY 4026 a la U.S. Food and Drug Administration (FDA) y cumpliendo también con la European Medicines Agency (EMA) Scientific Advice Working Party solicitaron la recomendación y el protocolo de asistencia para incluir a países europeos en CY 4026. Tras la aceptación de estos trámites, la empresa se está preparando para iniciar el ensayo con CY 4029. Este ensayo clínico está diseñado para incluir aproximadamente 400 pacientes para recibir tirasemtiv o placebo durante 3 meses. Los pacientes recibirán dosis de tirasemtiv o placebo dos veces al día, los pacientes que estén tomando riluzole en el momento del registro, y que hayan sido elegidos aleatoriamente para recibir tirasemtiv, recibirán riluzole en una dosis reducida de 50mg diariamente.

“Estamos satisfechos de realizar una evaluación adicional con tirasemtiv en pacientes con ELA, diseñada a partir de nuestras anteriores experiencias clínicas de ensayos de más corta duración”, afirmó Andrew A. Wolff, MD, FACC, Cytokinetics’ Senior Vice President of Clinical Research and Development y Chief Medical Officer”.

Nuestros trámites recientes con las autoridades reguladoras en USA y Europa han informado del progreso de la siguiente etapa del desarrollo clínico para tirasemtiv.

Estado de desarrollo de Tirasemtiv

Tirasemtiv (anteriormente CK-2017357) está actualmente en Fase II del programa de desarrollo de ensayos clínicos y le ha sido concedida la

designación de fármaco huérfano y el estado de "vía rápida" por la FDA junto con la designación de producto médico huérfano por la EMA para el tratamiento potencial de ELA.

Como se publicó previamente, los datos de dos ensayos clínicos en Fase II completamente aleatorios, placebo-control, múltiple dosis fueron presentados en el Congreso Anual de la American Academy of Neurology (AAN) de Abril 2012. En uno de esos ensayos tirasemtiv parecía ser totalmente seguro y se toleraba bien cuando se administraba diariamente durante 2 semanas 125, 250, o 375mg, primero en una cohorte de pacientes que no recibían riluzole, y después en una cohorte de pacientes que recibían riluzole a una dosis reducida de 50mg diarios. Los efectos adversos y las valoraciones clínicas durante el tratamiento con tirasemtiv parecían similares con o sin la coadministración de riluzole. Aunque el ensayo no se diseñó o no tenía la potencia para analizar estadísticamente el efecto de tirasemtiv en los parámetros que se evaluaban durante el estudio, un análisis combinado de pacientes de dos cohortes separadas sugiere fuertemente la tendencia en el aumento en la magnitud de ALSFRS-R y la Capacidad Vital Respiratoria relacionada con la dosis y potencialmente clínicamente significativa. En el otro ensayo clínico en Fase II, en régimen de dos dosis diarias de tirasemtiv también parecía ser segura y tolerarse bien. La mayor parte de los pacientes toleraron con éxito niveles de dosis de 250mg dos veces al día. Aunque este ensayo no esté diseñado o no tenga poder para una evaluación estadística, los efectos de tirasemtiv sobre varias de las medidas analizadas que fueron investigadas durante el estudio muestran incrementos en ALSFRS-R y en la Capacidad Vital Respiratoria, similares en dirección y magnitud a los observados en el ensayo mencionado anteriormente.

Los datos de un ensayo clínico en Fase II que evaluaba dosis únicas de tirasemtiv fueron presentados en el 21er Simposio Internacional de ELA/MND en Orlando. En los tres ensayos clínicos en Fase II anteriores, tirasemtiv parecía ser seguro, se toleraba bien, demostrando una tendencia favorable de mejoría en las capacidades funcionales de los pacientes.

Tirasemtiv es actualmente el objeto de los ensayos clínicos en Fase II y ha obtenido la designación de fármaco huérfano y el estado de "vía rápida" por la U.S. Food and Drug Administration y la designación por la European Medicines Agency para el potencial tratamiento de la ELA. Información sobre Cytokinetics puede obtenerse en www.cytokinetics.com.

Referencias

<http://www.reuters.com/article/2012/09/10/idUS103803+10-Sep-2012+HUG2012091>

• NEURALSTEM COMPLETA LA FASE II DE UN ENSAYO CLÍNICO EN ELA CON CÉLULAS MADRES.

Neuralstem Inc (NYSE MKT:CUR) anunció la finalización de la Fase II de un ensayo que utiliza células madres NSI-566 del cordón nervioso de la médula espinal para el tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), con el decimotavo paciente tratado. La Fase I del ensayo actualmente diseñado se prevé que concluya 6 meses después de la cirugía final.

"Estamos encantados de haber completado la Fase I en este ensayo pionero, el primero aprobado por la FDA para testar células madre en pacientes con ELA", dijo Karl Johe, PhD, Chairman of Neuralstem's Board of Directors y Chief Scientific Officer.

"Han habido muchas primeras veces en este ensayo, incluidas las primeras inyecciones intra-espinales lumbares, las primeras inyecciones en la región cervical y primera cohorte de pacientes que recibieron ambas", dijo Jonathan D. Glass, MD, Director del Emory ALS Center. "Ha requerido un esfuerzo increíble de los médicos del Emory y del equipo de apoyo y deseo expresar mis agradecimientos a todos ellos, así como reconocer la generosidad y el coraje de los pacientes y sus familias".

"Hemos encontrado el procedimiento extremadamente seguro", dijo Eva Feldman, MD, PhD, Investigador Principal del ensayo, Director del A. Alfred Taubman Medical Research Institute y Director of Research del ALS Clinic en la University of Michigan Health System. "En algunos pacientes, parece que la enfermedad no está avanzando mucho, pero es demasiado pronto para saber si los resultados son significativos en este pequeño número de pacientes".

Sobre el ensayo

La Fase I del ensayo, para comprobar la seguridad de las células madre NSI-566 del cordón nervioso de Neuralstem y el método de trasplante intraespinal en pacientes con ELA, se puso en marcha en 2010. El ensayo se diseñó para incluir a 18 pacientes, los últimos acababan de ser tratados. Los primeros 12 pacientes fueron trasplantados en la región lumbar de la médula espinal, comenzando con pacientes no ambulatorios y

continuando con cohortes ambulatorias. El ensayo entonces avanzó al trasplante en la región cervical (espalda) de la médula. La primera cohorte de 3 sólo fue tratada en la región cervical. La última cohorte de 3 recibió inyecciones en ambas regiones, cervical y lumbar de la médula espinal. Los 18 pacientes del ensayo al completo concluyeron 6 meses después de la cirugía final.

Sobre Neuralstem

La tecnología patentada por Neuralstem posibilita la capacidad de producir células madre neuronales de cerebro y cordón nervioso en cantidades comerciales y la posibilidad de controlar la diferenciación de estas células a células maduras, neuronas humanas y glía relevantes fisiológicamente. Neuralstem está en un ensayo clínico seguro en Fase I aprobado por la FDA para la ELA y le ha sido concedida la designación de medicamento huérfano por la FDA.

Referencias:

<http://investor.neuralstem.com/phoenix.zhtml?c=203908&p=irol-newsArticle&ID=1728766&highlight=www.neuralstem.com>

- **NEURALTUS PHARMA PONE EN MARCHA LA FASE II EN UN ENSAYO DE UN FÁRMACO PARA ELA SIN HABER ALCANZADO ALGUNOS OBJETIVOS EN LA FASE ANTERIOR.**

A pesar de no haber alcanzado los objetivos en el ensayo en Fase II, Neuraltus Pharmaceuticals tienen suficientes evidencias, de la eficacia de un fármaco experimental en pacientes con la enfermedad de Lou Gehrig (ELA), para poner en marcha el estudio en una fase posterior. La decisión de empezar el programa de la Fase III el año que viene subraya la necesidad crítica de nuevas terapias contra la enfermedad incapacitante del músculo. CA-based biotech de Palo Alto (California) comentó que no existían al final del estudio grandes diferencias significativas en 136 pacientes con ELA. Sin embargo un análisis posterior del ensayo mostró que el 27% de los pacientes con las dosis más altas o con doble dosis del fármaco candidato de la compañía, NP001, no habían tenido progresión de la enfermedad durante 6 meses. La empresa volvió a analizar los datos del estudio con las respuestas relevantes en el placebo, de esta forma la eficacia en pacientes con estas dosis alcanzó significancia estadística.

Los resultados de este estudio con NP001 son sumamente alentadores, disminuir la tasa de progresión de la enfermedad, en un subgrupo de pacientes, tal y como sugiere este estudio, podría traducirse en unos claros beneficios clínicos para estos pacientes”, dijo Dr. Robert Miller, investigador principal del estudio.

Terapias con beneficios modestos o no probados se demandan en pacientes con ELA. De hecho este año, asociaciones independientes continuaron estudios de una versión de NP001 incluso cuando los médicos rechazaron realizar acciones para evitar una sanción. A la vista de las pocas opciones a corto plazo, los pacientes se enfrentan con investigaciones desesperadas hacia nuevas terapias. Todavía, Neuraltus quiere apostar a que NP001 ganará en Fase III basándose en un conjunto variado de datos. Aunque se presenta como una oportunidad para obtener nuevos tratamientos, es una propuesta arriesgada entrar en el desarrollo de estadios posteriores de un estudio después de una Fase II con algunos fallos. Incluso la compañía, cuyos objetivos son empezar el programa de Fase III en la segunda mitad de 2013, admite que los análisis posteriores realizados pueden ofrecer resultados sesgados.

Referencias:

FierceBiotech. "Neuraltus Pharma eyes PhIII after missing endpoints in trial for ALS drug - FierceBiotech".

<http://www.fiercebiotech.com/story/neuraltus-pharma-eyes-phiii-after-missing-endpoints-trial-als-drug/2012-10-30>

MULTIDISCIPLINARIEDAD.

En este Congreso Internacional de ELA/EMN, se ha abordado con mucha frecuencia el tema del trabajo interdisciplinario, como instrumento principal que presta un servicio global, para lograr unos objetivos comunes, innovadores y de alta calidad que incluye: la atención de los cuidadores, Cuidados Paliativos, mejora en la calidad de vida (relaciones interpersonales, autonomía, decisiones al final de la vida), los niños en familias con ELA, consejo genético para ELAs familiares, intervenciones puntuales con pacientes que sufren daño cognitivo, tecnologías de comunicación, ayudas técnicas y fisioterapia. La Asociación Australiana, presentó un estudio interesante, consistente en un Programa de entrenamiento para personas implicadas en la

atención del paciente que sufre ELA. El Programa pretende estimular la comprensión y empatía hacia los pacientes y sus familiares/cuidadores, a través del aprendizaje sobre la progresión y el impacto que produce la enfermedad y los recursos efectivos para responder las necesidades de los pacientes.

El objetivo del estudio es poner de manifiesto la importancia de la coordinación de los servicios y de la multidisciplinariedad de los cuidados para la consecución de la calidad de vida de personas que día a día se están enfrentando a una enfermedad grave y dura.

El entrenamiento ha aportado conocimientos sobre la ELA (signos y síntomas), calidad de vida, apoyo a las necesidades, coordinación de los cuidados, planificación de las necesidades futuras, cuidados del final de la vida, con la finalidad de que este aprendizaje se aplique al trabajo diario y que también sirva para que los propios profesionales aprendan a cuidarse, evitando el burnout. Como método utilizaron casos clínicos y las experiencias de los profesionales. Los resultados finales del estudio serán presentados a finales del 2013.

Los especialistas señalan que los profesionales deben recibir apoyo y supervisión constante, el manejo sintomático del paciente debe ser parte de la formación de todo el equipo sanitario que vaya a intervenir con pacientes de ELA.

CALIDAD DE VIDA DEL PACIENTE.

La calidad de vida, según la organización Mundial de la Salud, reconoce seis aspectos principales: bienestar físico, psicológico, material y social (relaciones familiares y profesionales), el entorno, nivel de independencia y en el caso de personas que sufren una enfermedad se incluyen a los cuidadores y el sufrimiento por la enfermedad.

Al final de la vida, la calidad de vida se basa en conseguir la mejora de la angustia existencial y el aumento del significado y bienestar espiritual. En una persona enferma, al valorar la calidad de vida, se tiene que considerar la diferencia que existe entre la esperanza y ambiciones de la persona y la realidad actual. La realidad y las expectativas fluctúan y cuanto mayor es la diferencia entre ambas menor es la calidad de vida, si se reduce la diferencia, aumenta la percepción de calidad de vida. Las formas de mejorar la calidad de vida son reducir las expectativas o

aumentar las actividades que logran objetivos. Respecto a este punto, tan discutido últimamente, se presentaron los siguientes estudios, relacionados con las necesidades del paciente, su autonomía, sus miedos, su afrontamiento y sus relaciones interpersonales:

- Un grupo americano de pacientes ha creado un espacio llamado "los pacientes como yo", cuyo propósito es fomentar entre los pacientes que compartan aspectos de su enfermedad, como lo viven, que significa para ellos, cuáles son sus necesidades. Estos datos ayudan a aprender de ellos, utilizándose esta información para realizar debates con profesionales y mejorar la asistencia que se les ofrece.
- Otro estudio interesante presentado Al-Chalabi y col., sobre bienestar psicológico indicó que este factor puede ser un predictor de supervivencia. Se analizaron datos obtenidos con pruebas de bienestar psicológico, función cognitiva y nivel de discapacidad física. Las conclusiones fueron: las puntuaciones altas en bienestar psicológico tienen relación directa con una mejor aceptación del proceso de la enfermedad y los cambios ocurridos, mayor disfrute de la vida a pesar del dolor y la fatiga. Las personas con relaciones duraderas y estables, se enfrentan mejor a la enfermedad.
- En un estudio sobre los temores más comunes en ELA familiar, Levitzky (Rusia) señaló que los casos estudiados presentaban una fobia específica relacionada con el sentimiento obsesivo de sentir fasciculaciones musculares generalizadas. Los pacientes presentan un trastorno de auto-análisis obsesivo de la progresión de los síntomas; un temor acusado y persistente excesivo e irracional, desencadenado por el miedo anticipado a tener nuevos síntomas y una necesidad imperiosa de aprender sobre el curso de la enfermedad. Esta exposición al estímulo fóbico les provoca casi invariablemente respuestas de ansiedad, que puede tomar la forma de una crisis de angustia situacional, depresión y problemas de insomnio. Los malestares provocados por la situación temida van a interferir acusadamente con la rutina normal de la persona, perjudicando seriamente su calidad de vida.

● SOPORTE RESPIRATORIO

Merece una atención especial los estudios presentados sobre el papel que juega la función ventilatoria en los pacientes con ELA, ya que sus complicaciones e incapacidad respiratoria son las principales causas de muerte en estos pacientes. Lechtzin y colaboradores hicieron una larga descripción de este síntoma en la ELA. La disnea es el síntoma más grave y difícil de manejar en los pacientes con ELA. La ventilación intermitente no invasiva mediante mascarilla y con respiradores volumétricos es eficaz para aliviar los síntomas de hipoventilación, e incluso puede prolongar el tiempo de vida del paciente. Los pacientes pueden también presentar problemas derivados de un drenaje de secreciones ineficaz, lo cual es muy frecuente cuando sobreviene afectación bulbar progresiva. Los métodos de tos asistida y drenaje eficaz de secreciones son fundamentales para asegurar el éxito de una ventilación no invasiva. Sin embargo, pocos profesionales conocen estas técnicas. Las técnicas de tos asistida pueden ser optimizadas haciéndolas preceder de una hiperinsuflación profunda. Un aparato de insuflación-exsuflación o equipos de IPPB (hiperinsuflaciones periódicas intermitentes) pueden ser de ayuda. Cuando el paciente tiene ya el ventilador en su domicilio, se puede realizar hiperinsuflaciones con él, aumentando el volumen corriente al máximo, pretendiendo insuflar en una inspiración al menos el 80 % de la capacidad vital teórica del paciente. Aunque la clínica puede ayudar a pensar que el paciente presenta ya compromiso respiratorio (disnea, ortopnea, hipersomnias, alteraciones del sueño), generalmente es bastante inespecífica. Se puede detectar disnea sólo en decúbito o apreciar la presencia de movimientos respiratorios paradójicos de la pared abdominal. En general, con una espirometría, determinación de presiones musculares máximas inspiratorias y espiratorias y una gasometría arterial, podemos hacernos una idea del grado de afectación respiratoria que presenta el paciente. Se ha demostrado que hay una clara correlación entre el tiempo de fonación (tiempo que el paciente puede mantener la pronunciación de la vocal "a" tras una inspiración profunda) y la capacidad vital (CV). Así, en pacientes con ELA, un tiempo de fonación mayor de 10 segundos sugiere una CV superior a 1 litro. Igualmente, puede objetivarse severa disminución de las presiones musculares máximas inspiratoria y espiratoria, cuando otros parámetros aún no

han sido alterados, siendo por ello un test útil para la detección precoz de la afectación muscular respiratoria. Recientemente se ha descrito el índice tensión-tiempo de los músculos inspiratorios, que permite analizar de una forma no invasiva la fatigabilidad de dichos músculos, teniendo una buena correlación con el índice tensión-tiempo del diafragma.

La gasometría arterial, como suele suceder en otras enfermedades neuromusculares, se afecta tardíamente y no resulta un buen parámetro de seguimiento. Ante la sospecha de alteraciones respiratorias durante el sueño, que pueden aparecer aún antes de que detectemos alteraciones de los parámetros funcionales diurnos, deberemos realizar una pulsioximetría nocturna. En el curso de la ELA podremos considerar indicado el comienzo de la Ventilación Mecánica Domiciliaria (VMD) cuando se presenten alguna de estas situaciones: insuficiencia respiratoria, hipoventilación nocturna, episodio de fallo respiratorio agudo e incluso, como medida preventiva en enfermos aún sin problemas respiratorios, pero con elevado riesgo de insuficiencia respiratoria (CV menor de 1 litro o presiones musculares menores de del 30 %).

La fisioterapia respiratoria es de gran ayuda, sobre todo al inicio de la enfermedad y de los síntomas respiratorios.

Los métodos no invasivos deben ser ensayados cuando: el paciente está consciente y es capaz de toser eficazmente; conserva al menos cierto grado de autonomía respiratoria; los problemas de falsas rutas no existen, son mínimos o pueden ser controlados; el paciente coopera y está motivado y el equipo profesional tiene buena experiencia en este tipo de ventilación. Si no se cumplen estas condiciones, la traqueostomía pasa a ser el método de elección. No obstante se puede realizar un ensayo de VMD no invasiva, reservando la traqueostomía para aquellos pacientes en los que no se alcancen los resultados esperados. Recientemente se ha propuesto como una intervención terapéutica, la técnica de marcapasos diafragmática NeurRx DPS®. Su uso se aprobó en 2011 para tratar problemas respiratorios en la ELA, esta técnica es muy joven y se siguen realizando estudios que muestren su eficacia en el retraso del fallo respiratorio. Hay pocas descripciones en la literatura acerca de la función diafragmática en los pacientes con ELA, Onders R y colaboradores presentaron un estudio en el congreso.

Cada vez hay más estudios sobre la importancia de que un paciente esté ventilado, pero

hay pocos estudios sobre la percepción de los pacientes en relación a la ventilación no invasiva durante largos periodos de tiempo. Ando H. y colaboradores presentaron un estudio con el objetivo de analizar la experiencia de los pacientes ventilados. Los resultados mostraron que hay dos preocupaciones para los pacientes con ELA: el manejo de los síntomas y el pronóstico fatal de la enfermedad. El estudio concluye que el uso de la VNI no sólo se limita a mitigar los síntomas respiratorios, sino que mejora los aspectos psicológicos (disminución de la ansiedad) y bienestar del paciente, inclusive en las fases finales.

El uso de la VNI debe discutirse con el paciente y su familia, hay que informar al paciente acerca de la naturaleza temporal de la medida. Martín NH y colaboradores realizaron un estudio comparativo entre las actitudes de los pacientes a aceptar VNI y Gastrostomía. El estudio muestra la toma de decisiones en el curso de su enfermedad con respecto a la indicación de estas intervenciones; así, dentro de la muestra hubo pacientes que inclusive solicitaban estas intervenciones antes de que fueran necesarias. El 19% de los pacientes aceptó la gastrostomía y el 24% la ventilación. La gastrostomía fue la primera decisión tomada, ya que normalmente la ventilación es ofrecida más tarde, cuando la enfermedad está más evolucionada.

• LA TECNOLOGÍA EN LA COMUNICACIÓN

La mala articulación de la palabra, las alteraciones anatómicas o las dificultades respiratorias pueden entorpecer que los pacientes con ELA expresen sus mensajes con éxito. La incapacidad del paciente para comunicarse, requiere de un dispositivo que aumente o ayude la comunicación, debiendo elaborar un plan de comunicación a largo plazo. Se puede empezar por una pizarra, un block de notas, una tablet, a la vez que se va empezando a fomentar el uso del paciente y sus cuidadores de programas informáticos que maximicen su función, aumenten la comodidad y mejoren su calidad de vida, mediante la educación en estos sistemas. Hay varias opciones para facilitar el acceso al ordenador tanto en el sistema operativo Windows XP y Mac. Los accesorios del ordenador, como el teclado y los ratones, actualmente permiten personalizar a las necesidades y capacidades específicas de cada usuario, permitiendo un acceso adecuado al ordenador y sus actividades o simplemente buscando las opciones que nos dan los sistemas operativos (teclados virtua-

les, sintetizador de voz, conmutadores, acceso por voz, acceso con la mirada, pantallas táctiles, licornios y punteros), o eligiendo la opción de alta tecnología que consiste en equipos de comunicación con la mirada. Las tecnologías de la comunicación actualmente ofrecen un potencial inmenso para las personas que padecen ELA, por su elevado coste no son tan fáciles de conseguir, sin embargo es importante asesorarse con especialistas en este tema (logopedas, ingenieros, terapeutas ocupacionales), para seleccionar los más adecuados y accesibles, existe un amplio abanico de soluciones.

Kim Rusten de la Universidad de Sídney, realizó un estudio muy apropiado, que tiene como objetivo observar primeramente, en qué medida los pacientes utilizaban las tecnologías relacionadas con la comunicación, analizó los aparatos y recursos online que se usan, el nivel de conocimiento tecnológico del usuario y el deseo que tienen en usar este tipo de tecnologías como los Ipad, el email y el Skype. Los resultados obtenidos fueron que los pacientes desean utilizar estos medios, pero hay dificultad en el manejo de estos instrumentos por su elevada tecnología. Otro resultado que arroja el estudio, es que la necesidad de usar estas herramientas varía mucho entre un paciente y otro. Un dato muy interesante que recogió el estudio fue que a nivel psicológico, existe problemas de aceptación de la enfermedad, lo que hace que se retrase el uso de la ayuda técnica, esperando hasta la pérdida total de la funcionalidad, cuando la necesidad comunicativa es urgente y no se ha adquirido el aprendizaje correspondiente para su uso. Dentro de este estudio, se observó que los comunicadores dinámicos mejor valorados son los Ipad, ya que no sólo van a permitir al usuario la comunicación, sino que va a disponer de un amplio vocabulario ordenado en diferentes pantallas por las cuales puede navegar, además de actividades recreativas y de consulta. El uso de internet lo hacen, sobretodo, con el fin de aprender más acerca de su enfermedad. La recomendación que hace el autor, es implementar estas tecnologías en fases tempranas de la enfermedad, para que el paciente se familiarice con las tecnologías y puedan acceder a servicios de Tele Salud, conferencias vía web o tener información segura y adecuada online.

Dos especialistas en sistemas de apoyo a la comunicación sugieren que no sólo es importante enseñar a los pacientes y sus familiares, sino también a los profesionales que van a intervenir en el cuidado de estos pacientes, de

tal forma que puedan aplicarlo en su práctica diaria, ya que los pacientes esperan de los profesionales esta información, para solucionar sus problemas de accesibilidad a los sistemas alternativos de comunicación.

“La situación de discapacidad es impensable sin la tecnología”, sin embargo, “la tecnología sólo se puede usar cuando es accesible a todos!”

● FISIOTERAPIA

La rehabilitación se abordó desde el punto de vista de la necesidad, evaluación y programación de la fisioterapia y la hidroterapia.

En un estudio sobre la medición cuantitativa de la fuerza muscular, el autor afirma que la medición de la fuerza es un marcador sensible de la progresión de la enfermedad y está muy relacionada con la pérdida de motoneuronas, la fuerza cambia linealmente a lo largo de la progresión de la enfermedad. A través de una prueba de medición cuantitativa de la fuerza isométrica, es posible controlar el desarrollo de la pérdida de fuerza muscular y detectar los primeros cambios funcionales, lo que nos va a permitir realizar un plan de intervención temprana en fisioterapia y terapia ocupacional.

En el foro de Allied Professionals, Margaret McGovern presentó un estudio sobre la conveniencia de que el paciente continúe realizando ejercicio físico. Se conocen los beneficios del estiramiento y ejercicios pasivos en la ELA, con reducción y prevención de escaras, disminución de los síntomas de dolor y capsulitis adhesiva (hombro), así como mejora de la expansión del pecho, función respiratoria y facilitación de las actividades de la vida diaria (transferencias, baño etc.). Sin embargo, no se conocen suficientemente los efectos del ejercicio en la ELA, por lo tanto, no sabemos la cantidad de ejercicios de resistencia que los pacientes pueden realizar. Tampoco se tiene un conocimiento adecuado si los ejercicios aeróbicos benefician o no. En los programas de rehabilitación se deben tener en cuenta los síntomas de fatiga respiratoria, dolor y cansancio después del ejercicio, revisar la función respiratoria/capacidad vital forzada del paciente, aparición de calambres musculares, fatiga muscular y el estado nutricional, con especial atención a la estructura natural del metabolismo hiperactivo causado por la ELA. De esta manera, se creó una guía para la realización de ejercicios en enfermedades de la neurona motora: individualizar plan de ejercicios, detener el ejercicio antes de la fatiga, reducir el tiempo que normalmente se utiliza,

realizar ejercicios repetidos, reevaluar diariamente la frecuencia y la intensidad del ejercicio propuesto, establecer con el paciente lo que es “demasiado” para él, así como preparar un programa supervisado y otro para el domicilio, educar a los pacientes acerca de los ejercicios. Los factores a considerar en el programa de ejercicios son: la fuerza, nivel funcional, dolor musculoesquelético y el estado respiratorio. Lewis en su estudio sobre “El ejercicio y la ELA”, concluye que hay algunas variaciones en la prescripción del ejercicio, sin embargo, todos sugieren que existe una necesidad de un programa individual y personalizado, de acuerdo con el ejercicio que sea más cómodo para el paciente, relacionado con la fatiga, pérdida de peso y función respiratoria. La mayoría de los profesionales estuvieron de acuerdo que el ejercicio puede ser una causa que produzca fatiga en esta población, sin embargo, cuando se realiza correctamente, mantiene la fuerza muscular durante un período más largo.

Silva y otros autores brasileños, han realizado un estudio sobre los “Efectos del programa de fisioterapia acuática para los pacientes con ELA”. A pesar de la necesidad reconocida de un programa de terapia física para personas con ELA, el acceso a estos servicios se retrasa a menudo. El objetivo de la terapia física acuática en estos pacientes es mantener la funcionalidad y la calidad de vida, así como reducir la fatiga. Los pacientes participaron en un programa de 12 semanas, con 24 sesiones de terapia física acuática en una piscina climatizada a 33°C, dos veces por semana, durante 45 minutos cada sesión. Se evaluó a los pacientes antes y después del período de 12 semanas de tratamiento. Los resultados revelaron que los grupos musculares fueron capaces de mantener su fuerza, no hubo deterioro físico, los pacientes manifestaron que había disminuido el dolor y la fatiga y la percepción de la calidad de vida mejoró con respecto a los datos iniciales.

● CUIDADOS PALIATIVOS

Los cuidados paliativos en el tratamiento de los pacientes con ELA cubren la atención de todos los síntomas, mejorando el bienestar y la calidad de vida del paciente. Los especialistas de Inglaterra (Oliver), Italia (Bastianello) y Dinamarca (Gredal), coincidieron en sus presentaciones en este simposium, en los siguientes aspectos: 1- Los cuidados paliativos deberían comenzar en el momento del diagnóstico, totalmente diferente a enfermedades como el cáncer, en

donde estos cuidados se van a proporcionar en estadios muy avanzados.

2- Se requiere un abordaje coordinado, interdisciplinar y multidisciplinar con atención especial a las cuestiones psicosociales y espirituales.

3- Los pacientes deben tener acceso a los cuidados paliativos, a una adecuada, temprana, clara y abierta comunicación entre pacientes y sus familias, que incluyan decisiones, últimas voluntades y opciones de intervenciones (PEG, Ventilación Mecánica asistida, cuidados al final de la vida y lugar de la muerte), atención temprana, planificación de cuidados, evaluación física y psicosocial para la reducción de crisis, atención constante a los cuidadores antes, durante y después de la muerte.

Aunque los cuidados paliativos existen desde hace muchos años, casi siempre dirigidos hacia el cáncer, la investigación es escasa. Hay muy poco conocimiento acerca de los cuidados al final de la vida en los pacientes con ELA y sobre si la atención brindada ha cubierto las necesidades del paciente y sus familiares. Los datos recogidos en el estudio de Gredal indican que los sentimientos más frecuentes durante la fase terminal son la inseguridad y la ansiedad. El paciente prefiere morir en su casa, consiguiéndolo en un 85% de los casos estudiados. Un 1/3 de los pacientes murieron de forma inesperada, donde raramente estuvo el médico. Más del 90% de los pacientes con ELA mueren en paz, en su mayoría durante el sueño. El "ahogamiento hasta la muerte" es raro. Sin la ventilación artificial, el proceso de la muerte comienza generalmente durante el sueño y evoluciona hasta el coma debido a una hipercapnia progresiva.

Un estudio presentado por profesionales daneses explicaron que en Dinamarca los pacientes son atendidos en unidades altamente especializadas y con equipos interdisciplinarios que proporcionan una asistencia global al coordinar las contribuciones de disciplinas profesionales diferentes.

• EL CUIDADO DE LOS CUIDADORES

Stephens realizó un estudio denominado "Análisis cualitativo del impacto de cuidar, en la vida de los cuidadores de ELA". Este estudio longitudinal y prospectivo, tuvo como objetivo examinar los cambios en el estilo de vida y establecer el rol del cuidador. Se pasó un cuestionario que incluía preguntas sobre actividades de apoyo, habilidades personales (entereza, fuerza), recompensas del cuidado y preocupaciones. Concluyó que se producen cambios en el estilo de

vida, en la espontaneidad, viajes (sobre todo por falta de tiempo), incapacidad para comprometerse con otras actividades, reducción de las relaciones sociales, preocupación por el futuro. Sin embargo, el tiempo dedicado al paciente es recompensado con el placer de cuidar.

Kimbal et al, realizó el estudio "¿Cómo podemos apoyar la calidad de vida de los cuidadores y a su vez la de los pacientes con ELA?". El objetivo del estudio fue analizar cuáles son los factores que afectan la calidad de vida de los cuidadores y los pacientes. Se aplicó un cuestionario de medición de la funcionalidad del paciente, calidad de vida, salud mental y otros factores. Concluyó que existe en los cuidadores, sobre todo en los jóvenes, una gran necesidad de apoyo psicoterapéutico temprano y de conocimientos sobre el manejo de la enfermedad. Las intervenciones deben estar centradas en la evaluación periódica de las necesidades físicas, mentales y el acceso a recursos que puedan aliviar la carga del cuidador.

También este estudio señala que los cuidadores de más edad están dispuestos a pagar por los cuidados de su paciente. La calidad de vida de los cuidadores mejora si reciben un mejor salario por el trabajo realizado. Por el contrario, a mayor discapacidad del paciente menor calidad de vida del cuidador. La satisfacción de las necesidades espirituales y un mejor estado mental están asociados a una mejor calidad de vida del cuidador.

Walsh et al, señala en su estudio que los cuidadores de pacientes con daño cognitivo, representan un desafío para todos los involucrados, ya que su atención, tratamiento y toma de decisiones se hace más difícil. La calidad de vida en los cuidadores, es peor y tienen una idea equivocada, confusa y escasa sobre la sintomatología en este tipo de pacientes. En este sentido, se desarrolló un proyecto piloto de intervención psicoterapéutica y educativa, con el objetivo de implementar estrategias de manejo del comportamiento del paciente, proveer apoyo puntual, informar adecuadamente sobre la enfermedad y formar en resolución de problemas. El autor encontró que, después del proceso de intervención formativa, el manejo en la enfermedad mejoró significativamente, pero no se apreció cambios en la calidad de vida, ni en la carga del cuidador. Los cuidadores recomendaron incluir oportunidades de compartir situaciones individuales y complicadas.

LOS NIÑOS EN LA FAMILIA DE LOS PACIENTES CON ELA.

“Cuando un padre o una madre de un niño es diagnosticado con ELA, su vida cambiará para siempre y con frecuencia se sienten diferentes de otros amigos ...”. Este fue el enfoque de Fieldman. Su estudio, tuvo como objetivo presentar las intervenciones terapéuticas para ayudar a niños y familias y destacó cinco mandamientos necesarios a este respecto: siempre decir la verdad, ser afectivo con el niño, mantener la normalidad, tener en cuenta sus sentimientos y hablar con sus profesores. De otros estudios, podemos deducir que los niños van a reaccionar ante un diagnóstico de ELA en alguno de sus padres, en función de cómo este sobrelleve su crisis, los niños aprenden de las conductas de sus padres. La ayuda adecuada puede lograr que toda la familia afronte bien la situación. Los padres tienden a proteger a los hijos, temen que sufran, pero hay que considerar que los niños tienen una perspectiva de la vida muy distinta a la de los padres, por lo que es muy probable que un niño no reaccione de la misma manera que un adulto ante la misma crisis. Es imposible mantener la enfermedad en secreto, empieza el deterioro del progenitor, el niño lo ve, pero nadie habla del tema, el niño empieza a atemorizarse y a creer lo peor si no se le proporciona la información necesaria, por lo que deberíamos tener en cuenta los siguientes aspectos: hay que normalizar las emociones, proteger su derecho a permanecer infantil, facilitar la expresión verbal y afectiva, decir siempre la verdad, ayudar a entender las actitudes del entorno, escuchar, observar y respetar durante el diálogo, guiarse por las palabras y conductas del niño, emplear su lenguaje, aclarar que la enfermedad no es el resultado de malos comportamientos, emplear dibujos, canciones, cuentos etc., transmitir esperanza realista.

Los temas a tratar con los niños, deben girar sobre la explicación de la enfermedad (¿por qué se coge esta enfermedad?, ¿los síntomas empeorarán?, ¿se cura?, ¿hay algún culpable?, ¿se contagia?), y cuáles son sus sentimientos, porque se dan, diversidad de los mismos (tristeza, alegría, ira, todos son posibles, son suyos y adecuados; evitaremos la sentimientos de culpa). No deben dejar de lado a sus amigos, no tienen por qué alejarse, pueden seguir viniendo a casa, es bueno

para ellos y para la familia el no interrumpir la vida cotidiana. Otro detalle es involucrarlos en el proceso de la enfermedad, siempre pueden ayudar, hay formas en que todos los miembros de la familia van a poder participar. Y por último y muy importante hablarles, en el momento adecuado, de la pérdida inminente.

INVESTIGACION BASICA.

SESION: “Papel de las células no neuronales”

En los últimos años, se ha hecho cada vez más evidente que las células no neuronales en el sistema nervioso central juega un papel clave en la ELA. Estas células, incluyendo las células llamadas astrocitos, por lo general proporcionan soporte metabólico para las neuronas, eliminan sustancias tóxicas y proporcionan factores de crecimiento. Pero, por razones que aún se desconocen, pueden comenzar a dañar las neuronas motoras, lo que lleva a la disfunción y la muerte. En esta sesión los trabajos aportan nuevos datos sobre la implicación de los astrocitos en la patogénesis de la ELA. También hay una comunicación que sobre otro tipo de células implicadas en inflamación y que infiltran tejido nervioso en modelos de ELA: los linfocitos.

- **EL PERFIL DE EXPRESIÓN GÉNICA DE LOS ASTROCITOS EN DIFERENTES ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD EN EL MODELO MURINO SOD1G93A DE ELA REVELA PERTURBACIONES EN LA FUNCIÓN LISOSOMAL Y EN EL METABOLISMO DEL COLESTEROL**

Los astrocitos desempeñan un papel importante en la progresión de la ELA en el modelo de ratón transgénico SOD1G93A y muestran una toxicidad selectiva para las neuronas motoras, pero el factor tóxico no se ha identificado. Análisis publicados anteriormente de neuronas motoras (MN) de los modelos de ratones transgénicos de la ELA SOD1G93A y Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF), que reveló que el metabolismo de hidratos de carbono y de lípidos estaban alterados en el modelo SOD1G93A y una disminución en la biosíntesis del colesterol en el modelo VEGF. Se ha publicado datos a partir de astrocitos de ratones SOD1G93A en fase pre-sintomática pre-sintomática (día 60) que

demuestran que el metabolismo del lactato y la señalización mediada por los receptores proNGF-p75 (NGF: Factor de Crecimiento Nervioso; p75: receptor de neurotrofina) están alterados. Métodos: Los astrocitos fueron aislados de la médula espinal de ratones SOD1G93A y ratones no transgénicos sintomáticos (día 90) y fase tardía (día 120). Se analizaron el perfil de expresión génica con microarrays.

Resultados: 266 y 1834 genes fueron expresados diferencialmente en los estadios sintomáticos y finales de la enfermedad. El análisis mostró un aumento en la expresión de muchos genes implicados en vías inflamatorias y en genes lisosomales como la catepsina D y Laptm5. En los astrocitos de la etapa final hay una regulación negativa de múltiples genes de la biosíntesis del colesterol y esteroides y de la captura de colesterol (LDL y lipoprotein lipasa).

Conclusiones: Hay evidencias de alteración de la función lisosomal en astrocitos SOD1G93A en las fases sintomáticas y finales de la enfermedad. Hay un incremento de la expresión de Catepsina D en la médula espinal de los ratones SOD1G93A. Además, la sobreexpresión de Laptm5 aumenta la permeabilidad de la membrana lisosomal, por lo que se aumenta la salida de catepsina D desde el lisosoma al citoplasma, y aumenta la muerte celular no dependiente de caspasas. Los niveles de colesterol están incrementados en la médula espinal de ratones SOD1G93A en los estadios pre-sintomático y final así como en la médula espinal de pacientes con ELA. El exceso de colesterol es tóxico para la MN y una alteración del metabolismo del colesterol se observa en la MN en la etapa final en los ratones SOD1G93A y VEGF. Creemos que, al igual que en otras enfermedades neurodegenerativas de inicio tardío, las alteraciones en el transporte de colesterol puede contribuir a la lesión de la MN en la ELA y que los astrocitos juegan un papel clave en este proceso.

Referencias:

Blackburn D, Baker D, Ferraiuolo L, Heath PR, Kirby J, Shaw P.

- **LOS ASTROCITOS DE PACIENTES CON ELA FAMILIAR Y ESPORÁDICA SON TÓXICOS PARA LA NEURONA MOTORA**

La ELA es una enfermedad de la neurona motora (MN) con los astrocitos implicados como un contribuyente significativo en la muerte

de la MN en ELA familiar (ELAf). Sin embargo, estas conclusiones, en parte, se derivan de modelos de roedores de ELAf basados en mutaciones dominantes en el gen de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) que representan menos del 2% de todos los casos de ELA. Los estudios realizados en modelos de ratones FALS han implicado a las células no neuronales, tales como microglia y astrocitos en la progresión de ELAf. En particular, en sistemas in vitro de co-cultivo han demostrado que los MNs mueren en presencia de astrocitos que albergan mutaciones en SOD1. Sin embargo, todos estos estudios in vitro e in vivo se han llevado a cabo usando modelos que sobreexpresan SOD1 mutado y puede que no mimeticen completamente la enfermedad real.

Objetivos: Determinar si los astrocitos de pacientes con ELA también son tóxicos para la MN in vitro y determinar el papel de SOD1 en los casos de ELA esporádica (ELAE).

Métodos: Se generan astrocitos a partir del tejido de médula espinal post-mortem tanto de pacientes con ELAf como ELAE. La expresión de SOD1 en los astrocitos purificados y cultivados se bloquea por transducción con lentivirus que expresan secuencias de siRNA. Además, los lentivirus se utilizaron para sobreexpresar SOD1 humana salvaje y las formas mutadas SOD1G93A o SOD1A4V. Para evaluar los niveles de SOD1 se utilizó un inmuno ensayo (ELISA).

Resultados: Los astrocitos derivados de ambos grupos de pacientes (ELAf y ELAE) son igualmente tóxicos para las MNs. Además, mostramos que SOD1 es una diana viable para ELAE, ya que su inhibición atenúa significativamente la toxicidad de las MN mediada por los astrocitos.

Conclusiones: Los datos destacan a los astrocitos como un componente celular no autónomo en ELAE y proporcionan el primer modelo in vitro para investigar los mecanismos comunes de enfermedades y evaluar las terapias potenciales para ELAE y ELAf.

Referencias:

Meyer K, Haidet-Phillips A, Hester M, Miranda C, Braun L, Mendell J, Burghes A, Kaspar B.

- **LOS ASTROCITOS QUE EXPRESAN EL TRANSGEN HUMANO TDP43 A315T NO SON TÓXICOS PARA LAS NEURONAS-MOTORAS SALVAJES**

Estudios recientes han puesto de relieve el

papel de no sólo las neuronas, sino también de las células gliales en la patogénesis de la ELA. El gen más caracterizado ligado a la ELA es la superóxido dismutasa 1 (SOD1) y la mayoría de los estudios que implican a las glia se han centrado en modelos de ratones transgénicos de expresión de SOD1 mutado. Recientemente, se han relacionado mutaciones en la proteína TDP43 que une ARN con ELA y se han creado ratones transgénicos que expresan la mutación humana TDP43A315T. Aunque la TDP43 mutada se expresa tanto en las neuronas como en las células gliales en estos ratones, la contribución de la glia que expresan TDP43A315T en la degeneración neuronal no se ha investigado.

Objetivo: Determinar si los astrocitos derivados del modelo de ratón TDP43A315T causan daño a las motoneuronas (MN) salvajes.

Métodos: Se aislaron precursores gliales de ratones TDP43A315T, SOD1G93A, o de tipo salvaje (WT) y se diferenciaron a astrocitos in vitro o se trasplantaron a la médula espinal de ratas wt para la diferenciación de astrocitos in vivo. Los efectos de los astrocitos en la supervivencia de las MNwt se determinaron in vitro utilizando un sistema de co-cultivo o in vivo mediante el examen de los MNs hospedadoras a los tres meses del trasplante.

Resultados: Para verificar que los astrocitos expresaban el transgen de TDP43, los niveles de TDP43 humanos se midieron y se observó una expresión comparable en los astrocitos en comparación con las neuronas aisladas de ratones TDP43A315T. Los astrocitos TDP43A315T exhibían un incremento de TDP43 en el citoplasma en comparación a los ratones wt, sin embargo, ninguna diferencia se observó en la morfología o la capacidad de diferenciación de los astrocitos. A continuación, los astrocitos se cultivaron conjuntamente con MNwt y se observó una disminución de la supervivencia de las MN con astrocitos SOD1G93A, pero no con astrocitos wt o TDP43A315T. Respecto a los ensayos de trasplante, las ratas que recibieron astrocitos SOD1G93A mostraron una disminución marcada de la fuerza de agarre de la extremidad anterior a lo largo del tiempo que se correlacionaba con una pérdida de MN cervicales. Sin embargo, no se detectaron pérdida de MN ni déficit en el comportamiento después del trasplante de astrocitos wt o TDP43A315T

Conclusiones: Los resultados muestran que los astrocitos TDP43A315T de este modelo de ratón no poseen la misma toxicidad MN in

vitro o in vivo como se ha demostrado para los astrocitos con la SOD1 mutada. El daño producido por la TDP43 mutada puede ocurrir únicamente dentro de las neuronas o provenir de otros compartimentos celulares gliales además de los astrocitos en este modelo, lo que sugiere que el daño de las MN derivado de los astrocitos puede que no sea una vía compartida para todas las formas de ELA.

Referencias:

Haidet-Phillips A, Williams T, Gross S, Tuteja A, Sherman A, KO M, Kim A, Maragakis N.

• INMUNOMODULACIÓN COMO ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA LA ELA

La ELA es un trastorno neurológico progresivo donde el mecanismo preciso del inicio y la progresión de la enfermedad sigue siendo poco clara. Sin embargo varios estudios han demostrado que hay una respuesta inmune humoral antes de la aparición de síntomas clínicos graves. Recientemente, elegantes estudios genéticos murinos, cruzando ratones SOD1G93A con ratones RAG2 (- / -) o CD4 (- / -), han proporcionado pruebas de que poblaciones de células T infiltrantes son neuroprotectores y no citotóxicos. Recientemente hemos informado de que la vía co-estimuladora se activa en la médula espinal, músculo esquelético, y el nervio ciático durante la progresión de la enfermedad en ratones SOD1G93A. El tratamiento de ratones SOD1G93A con anticuerpos bloqueantes de CD40L (MR1) mejoran varios parámetros patofisiológicos asociados al inicio y progresión de la enfermedad. El tratamiento con MR1 mejoraba la supervivencia, retrasaba la progresión y mejoraba la supervivencia de las motoneuronas, disminuía la astrocitosis y la acumulación de células inmunes en los nervios periféricos de los ratones SOD1G93A.

Objetivos: para ampliar estos hallazgos, hemos examinado otros moduladores inmunes que afectan a subpoblaciones de células T, como así como ciertos tratamientos inmunosupresores tradicionales, en un esfuerzo para entender el mecanismo terapéutico de la acción de los tratamientos inmunomoduladores en ratones SOD1G93A. Se ha probado estrategias de tratamiento que han demostrado eficacia en modelos preclínicos de trasplante de tejidos y autoinmunidad, incluyendo los compuestos que ahora han sido aprobados por la FDA para su uso en enfermedades

autoinmunes humanas. Se muestra el impacto del tratamiento con rapamicina, FK506, anticuerpos anti-CD3 para eliminar las células T, anticuerpos anti-CD8 para eliminar las células T CD8+, anticuerpos anti-CD40L, FK506/rapamicina combinados, o fingolimod en el modelo animal SOD1G93A.

Métodos: Con el fin de probar cada uno de estos compuestos en los ratones SOD1G93A se realizaron estudios farmacocinéticos (pk) y farmacodinámicos (pd) estudios para optimizar la selección de las dosis. Basado en los estudios de pk y pd se realizaron experimentos de administración crónica en los ratones SOD1G93A para evaluar el impacto del tratamiento en la aparición de la enfermedad, la progresión, el mantenimiento del peso corporal, la supervivencia, y los marcadores de la inflamación en el sistema nervioso central y periférico.

Resultados y discusión: Si bien algunos de estos tratamientos mejoraban la patofisiología de la enfermedad mejorado y la supervivencia (Fk506/rapamycin, fingolimod), otros agudizaban la enfermedad (rapamicina). Se demuestra cómo estos compuestos impactan en las vías neuroinflamatorias en el sistema nervioso central utilizando análisis de perfil genómico con microarrays. Además de los efectos sobre la inflamación del sistema nervioso central, también se ve afectada la regulación de las poblaciones de linfocitos periféricos y el ataque mediado por macrófagos de los nervios periféricos. El tratamiento de los ratones SOD1G93A con anti-CD40L o fingolimod tiene efectos significativos en la reducción de la acumulación de los macrófagos CD68+ en los axones periféricos del músculo esquelético. Estos estudios son particularmente importantes ya que consideramos trasladar las estrategias inmunomoduladoras a terapias con potencial clínico para los pacientes de ELA. Además, muchos de estas estrategias inmunomoduladoras puede ser utilizadas conjuntamente con otros tratamientos potenciales, tales como terapias celulares para la ELA.

Referencias:

Perrin S, Gill A, Lincecum J, Vieira F, Dezutter J, Wang M, Thompson K, Moreno A, Kidd J, Jiang Y.

- **SESION: "Mecanismos de estrés celular"**

En esta sesión hubo una serie de comunicaciones que trataron diferentes aspectos del mal funcionamiento celular que se observa en diferentes enfermedades degenerativas. Los

nuevos datos aportados procedían de estudios sobre la autofagia, el transporte intracelular de proteínas desde el retículo endoplásmico al aparato de Golgi y la propagación de SOD-1 mal plegado de unas células a otras.

- **DEGRADACIÓN POR AUTOFAGIA SELECTIVA DE PROTEÍNAS CON TENDENCIA A AGREGARSE.**

La autofagia es un mecanismo catabólico de la célula que permite reciclaje de los orgánulos citoplasmáticos y macromoléculas a través de su secuestro en vesículas de membrana doble denominadas autofagosomas, que se fusionan con lisosomas, lo que lleva a la degradación de las biomoléculas secuestradas al encontrarse en el interior ácido del lisosoma. La autofagia se consideró al principio un proceso no selectivo inducido en respuesta a la inanición celular, la autofagia ha emergido ahora como un mecanismo de control de calidad altamente selectivo cuya actividad basal es importante para permitir que las células rápidamente puedan eliminar grandes estructuras no deseadas tales como agregados proteicos aberrantes, orgánulos deteriorados, y patógenos invasores. Apenas estamos comenzando a develar la regulación y mecanismos de estos tipos selectivos de la autofagia, pero lo que ya está surgiendo claramente es que las estructuras que van a ser destruidas son envueltas por los autofagosomas mediante unos receptores y moléculas adaptadoras específicas. La proteína que une ubiquitina p62/SQSTM1 se ha identificado como un receptor de carga específico implicado en la degradación selectiva por autofagia de proteínas intracelulares ubiquitinadas que tienen tendencia a agregarse. El proceso de degradación selectiva de agregados proteicos por autofagia se denomina agregofagia. La proteína p62 interactúa con la proteína Atg8 / LC3 de la membrana del autofagosoma y de ese modo dirige a las proteínas ubiquitinadas para su degradación por autofagia. Recientemente se ha descubierto que ALFY (proteína FYVE ligada a la autofagia), una proteína grande que une PI3P, es fundamental para esta selectividad. ALFY es reclutado por inclusiones intracelulares y forma un complejo que contiene p62 y los efectores de autofagia Atg5 y GABARAP. La reducción de niveles de ALFY inhibe la eliminación de los agregados de huntingtina, mientras que la sobreexpresión de ALFY disminuye el número de inclusiones y conduce

a la neuroprotección en un modelo neuronal y de *Drosophila* de la Enfermedad de Huntington, indicando que Alfy media la autofagia selectiva de proteínas agregadas. Antes de la fusión con los lisosomas, los autofagosomas se fusionan con vesículas endocíticas y se ha demostrado que los complejos de ordenación de los endosomas requeridos para el transporte, denominados ESCRTs, son requeridos para la degradación por autofagia de las proteínas con tendencia a agregarse. Curiosamente, las mutaciones en la subunidad CHMP2B del ESCRT-III se asocian con demencia frontotemporal y esclerosis lateral amiotrófica, lo que indica que la disfunción en la autofagia puede ser la base del fenotipo neurodegenerativo observado en pacientes con CHMP2B mutaciones.

Referencias:

Simonsen A

- **EL TRANSPORTE RE-GOLGI ES UN MECANISMO COMÚN DE TOXICIDAD COMPARTIDO POR SOD1, TDP43 Y FUS EN LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA.**

Los mecanismos patogénicos provocados por TDP-43 y FUS en la ELA son poco conocidos. Previamente se ha demostrado que las formas mutadas de TDP43 y FUS desencadenan un estrés del retículo endoplásmico (RE) en modelos celulares de ELA. La inducción de estrés del RE por lo general requiere la acumulación de proteínas dentro de la ER. Sin embargo, tanto TDP-43 como FUS carecen de una señal peptídica para localizarse en el RE y por lo tanto, no deberían entrar en el RE. Sin embargo, la alteración en el transporte entre el RE y el aparato de Golgi también puede provocar estrés en el RE, debido a la acumulación de proteínas secretoras dentro del RE. El transporte RE-Golgi es impulsado por una serie de proteínas entre las que están COPII, Rab1 y dineína, que cuando se deterioran, se inhibe el transporte RE-Golgi. Se ha demostrado que la SOD1 mutada inhibe el transporte RE-Golgi, provocando estrés en el RE, posiblemente por una interacción aberrante con COPII y dineína. Los objetivos de este estudio fueron determinar si TDP-43 mutada y FUS mutada pueden también afectar el transporte de proteínas de secreción entre el RE y el Golgi, y en consecuencia, induciendo estrés en el RE. También se examinó si TDP43 mutada o FUS mutada también interactúan con las proteínas involu-

cradas en el transporte RE-Golgi.

Métodos: Se visualizó el transporte RE-Golgi en células neuronales (Neuro2a) vivas usando una glicoproteína viral (VSVG ts045) unida a otra proteína que al emitir fluorescencia permite la localización de VSVG ts045 por microscopía. El transporte RE-Golgi se estudió en Neuro2a transfectadas con las formas mutadas de TDP-43 o FUS. La interacción de TDP-43 o FUS con las proteínas de transporte se examinaron por inmunoprecipitación, western blotting e inmunocitoquímica.

Resultados: Tanto la TDP-43 mutada como FUS mutada inhibían el transporte RE-Golgi en las células Neuro2a. Esta inhibición del transporte se produjo antes de la inducción de estrés del RE y fue uno de los primeros eventos celulares que se detectó después de la transfección. La TDP-43 mutada interactuaba físicamente y se localizaba con Rab1 y dineína, mientras que la FUS mutada se encontró que interactuaba físicamente y se localizaba con Rab1 y COPII, pero no con dineína. Estos hallazgos sugieren que el mecanismo común de toxicidad desencadenado por los SOD1, TDP-43 y FUS mutados es la inhibición del transporte RE-Golgi. La interacción física entre los mutantes SOD1, TDP-43 y FUS con las proteínas implicadas en el transporte RE-Golgi, como Rab1, podría ser el mecanismo por el cual se produce esta inhibición. Además, la sobreexpresión de Rab1 resuelve el estrés del RE y la translocación citoplásmica de los mutantes FUS y TDP-4, lo que demuestra una conexión más con la enfermedad.

Discusión y Conclusiones: Estos hallazgos muestran que la disfunción del transporte RE-Golgi es un mecanismo patogénico común y temprano desencadenado por SOD1, TDP-43 y FUS en la ELA. Los mutantes SOD1, TDP-43 y FUS se unían a varias proteínas implicadas en el transporte RE-Golgi, incluyendo Rab1, la única proteína de las que se analizaron que se unía a los tres. Estos datos sugieren que Rab1 desempeña un papel clave en el fracaso del transporte RE-Golgi y en la patogénesis de la ELA.

Referencias:

Soo KY, Farg M, Walker A, Sundaramoorthy V, Horne M, Atkin J.

- **LA DISMINUCIÓN DE LA PROTEÍNA DE AUTOFAGIA, BECLINA 1, ACELERA LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD Y CONDUCE A LA ACUMULACIÓN DE AGREGADOS DE SOD1 MUTADO EN UN MODELO MURINO DE ELA**

Una de las principales causas conocidas en ELA es las mutaciones en el gen que codifica la superóxido dismutasa cobre / zinc (SOD1). Los rasgos distintivos de la ELA causados por SOD1 mutado son las inclusiones y agregados de SOD1. Para mantener la calidad de las proteínas en la célula, hay dos vías celulares principales para la degradación de proteínas mal plegadas: el sistema ubiquitina-proteasoma y el sistema autofagia-lisosoma. Varios estudios in vitro han demostrado que los agregados de SOD1 mutado puede ser degradados por autofagia. Sin embargo, la importancia funcional de la autofagia en la eliminación de los agregados de SOD1 no se ha probado in vivo.

El objetivo del presente estudio fue abordar si la autofagia protege de la SOD1 mutado que está relacionada con la ELA.

Métodos: Teniendo en cuenta que Beclina 1 es una proteína crucial en la autofagia, SOD1G93A ratones hemocigotos se cruzaron con ratones hemocigotos Beclina 1 knockout para generar ratones doble hemocigotos. El inicio de la enfermedad fue definida como el momento en que los ratones alcanzaron el peso máximo antes del declive. La variable de evaluación fue definida como la edad en que un ratón no podía enderezarse por sí mismo a los 5 segundos después de ser empujado hacia un lado. La progresión de la enfermedad se definió como el período desde el inicio de la enfermedad hasta la observación de la variable de evaluación. El estado de la autofagia se evaluó como el nivel de expresión de LC3-II, un marcador de la inducción de la autofagia. Para dilucidar los efectos de la autofagia en los agregados de SOD1, las médulas espinales de los ratones terminales se fraccionaron por solubilización en detergente. Las fracciones se analizaron por Western blot, utilizando anticuerpos que reconocen la SOD1 humana.

Resultados: El tiempo de inicio no estaba alterado en los ratones doble hemocigotos en comparación con los ratones hemocigotos SOD1G93A. Sin embargo, la esperanza de vida fue significativamente reducida de $172 \pm 6,1$ días a $152 \pm 5,8$ días, lo que representa una disminución de 8,7%. La reducción en Beclina 1 aceleró la progresión de la enfermedad en un 35% desde $49 \pm 2,2$ días a $31 \pm 4,8$ días. Había también

una significativa disminución del nivel de LC3-II. Notablemente, se observó más acumulación de agregados de SOD1 en las médulas espinales de los ratones SOD1G93A con la expresión reducida de Beclina 1.

Conclusión: la autofagia dependiente de Beclina 1 protege de la progresión de la enfermedad y regula la degradación de los agregados de SOD1 mutado.

Referencias:

Tokuda E, Andersen PM, Brännström T, Marklund S.

- **EL FRACASO EN LA FORMACIÓN DE AUTOLISOSOMAS CONDUCE A UN DETE-RIORO DE LA AUTOFAGIA EN LA ELA-DFT LIGADA A UBQLN2**

Las mutaciones en UBQLN2 (ubiquilina 2, proteína del tipo ubiquitina) causan ELA y ELA con demencia del lóbulo frontotemporal (ELA-DFT). Las inclusiones patológicas que contienen UBQLN2 son una característica común en un amplio espectro de ELA y ELA-DFT, incluyendo ELA vinculada a SOD1. Hallazgos recientes han relacionado alteraciones en UBQLN2 a defectos en la degradación de proteínas a través del sistema ubiquitina-proteasoma (UPS), a la agregación de proteínas anormales y a la neurodegeneración. UBQLN2 se encuentra en la encrucijada de la degradación de proteínas a través del UPS y la degradación lisosomal por autofagia. El recambio continuo de los componentes intracelulares por autofagia es esencial para preservar la homeostasis neuronal. Se ha propuesto que las alteraciones en la autofagia contribuyen a la patogenia en varias enfermedades neurodegenerativas incluyendo ELA. Aunque se ha sugerido que un UPS defectuoso produce agregados de proteínas asociados a ELA, estudios recientes han revelado un papel destacado de la autofagia. Sin embargo, el mecanismo preciso que está detrás del mal funcionamiento de la autofagia en la ELA es poco entendido. Objetivos: explorar más a fondo el mecanismo patogénico de UBQLN2 que media la ELA y la ELA-DFT y el efecto de UBQLN2 mutado en la autofagia.

Métodos: Para estudiar el efecto de las mutaciones UBQLN2 en la autofagia, células neuro-2a fueron transfectadas transitoriamente con vectores de expresión que contienen UBQLN2 de tipo salvaje o UBQLN2 mutada. Las células fueron co-transfectadas con un marcador de autofagosoma (GFP-LC3) para los estudios con citometría de flujo y los estudios de imagen. El análisis del recambio de LC3 y p62 celulares

se realizó mediante Western Blot. Se utilizaron fibroblastos de la piel derivados de los pacientes con ELA-DFT para confirmar nuestros hallazgos. Resultados: usando modelos celulares y células derivadas de pacientes con ELA-DFT, se encontró que las células que expresan UBQLN2 mutado acumulan autofagosomas y precursores de autofagosomas. La expresión de UBQLN2 mutado conduce a una acumulación de las proteínas asociadas a autofagosomas, LC3 y p62. Después de la inducción de autofagia, los autofagosomas en las células que expresan la UBQLN2 mutado no maduran en autolisosomas y no degrada LC3 y p62.

Conclusiones y discusión: Estos datos arrojan luz sobre el posible mecanismo a través del cual la UBQLN2 mutado puede ser patógena, poniendo de relieve un efecto sobre la vía de la autofagia. Colectivamente, estos datos implican a UBQLN2 en la autofagia, y sugieren que la autofagia alterada debido a la insuficiente formación de autolisosomas es fundamental para la patogénesis de la ELA y la ELA-DFT ligada a UBQLN2 y puede explicar la patología vista en los pacientes con ELA y DFT. Este mecanismo podría acelerar la acumulación de los agregados proteicos tóxicos en la ELA, y perjudicar funciones esenciales de regulación de la autofagia y del UPS. Por lo tanto, la autofagia representa un objetivo atractivo para el diseño de terapias para la ELA y DFT.

Referencias:

Fecto F, Esengul VT, Deng H-X, Siddique T.

- **PROPAGACIÓN DEL MAL PLEGAMIENTO DE SOD1 EN LA ELA FAMILIAR Y ESPORÁDICA**

La ELA esporádica sin mutación genética conocida es clínicamente idéntica a ELA familiar, en la que la causa son las mutaciones en la superóxido dismutasa 1 (SOD1), TDP43 y FUS. Una consecuencia de la mutación y/o la oxidación de SOD1 es una propensión de las proteínas a plegarse mal y a agregarse. Se sabe que la SOD1 humana de tipo salvaje (wt) se agrega con la SOD1 mutado en la ELA familiar (ELAf), en modelos de ratón doble transgénicos y en sistemas de cultivo celular. Sin embargo, la capacidad de los wtSOD1 para participar en una actividad como si fueran priones no está claro, así como el origen del mal plegamiento de wtSOD1 en la ELA asociada a TDP43 o FUS ALS y la relevancia potencial de este proceso para la ELA esporádica (ELAe).

Objetivos: diseccionar molecularmente los efectos de las formas mal plegadas de SOD1, ya sea mutada o salvaje, sobre la wtSOD1 con estructura nativa; determinar si el TDP43 o FUS citoplasmático se asociaban con SOD1 mal plegada; y cuantificar wtSOD1 mal plegada en ELAf y ELAe.

Métodos y resultados: se producía mal plegamiento de SOD1wt con estructura nativa cuando se introducía SOD1 con las mutaciones encontradas en la ELAf en líneas celulares neuronales y mesenquimales humanas. TDP-43 y FUS mutadas que se encuentran deslocalizadas en el citoplasma estaban asociadas con la SOD1 mal plegada. Los medios de cultivo de las células transfectadas, tanto con la SOD1wt como con la mutada, eran capaces de inducir mal plegamiento de SOD1 endógeno al ser añadido a cultivos de células de neuroblastoma y este proceso se propagaba de forma estable a lo largo de los pases de cultivo. El agente responsable de la inducción del mal plegamiento era los agregados de SOD1 mal plegados. El SOD1wt mal plegado constituía un 5% del SOD1 total en muestras de médula espinal tanto de ELAf como de ELAe.

Discusión y conclusiones: el mal plegamiento de wtSOD1 puede propagarse dentro y entre las células, realizando la misma actividad de tipo prion que la SOD1 mutada. wtSOD1 mal plegada puede ser causa o consecuencia de la deslocalización citoplásmica de TDP43/FUS mutados o de wtTDP43. Una proporción sorprendentemente grande

de wtSOD1 en ELAe se encontró que estaba mal plegada. Estos datos apoyan la hipótesis de que la propagación del mal plegamiento de SOD1 participa en la patogénesis de todos los tipos de ELA.

Referencias:

Grad L., Guest W, Pokrishevsky E, O'Neill M, Cashman N

- **LAS INCLUSIONES DE ARN OFRECEN ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA ELA**

Nadie conoce aún la función del gen C9orf72 en la ELA, o el modo exacto de cómo da lugar a enfermedad de motoneurona. En cualquier caso, en estos momentos varios grupos de investigación están acelerando el desarrollo y la prueba de una terapia potencial en relación a las mutaciones halladas en este gen. La comunidad científica de ELA, aún con gran expectación tras el descubrimiento del gen en 2011, permaneci-

mos muy atentos al escuchar los informes sobre el progreso de 2 colaboraciones independientes que persiguen el uso de oligonucleótidos antisentido de este gen como terapia en la ELA.

El tratamiento se basa en la teoría sobre las inclusiones tóxicas formadas por los ARNm de los alelos mutantes de C9orf72, y por lo tanto, los oligonucleótidos antisentido deberían disolver esos acúmulos nucleicos venenosos.

Michael Baughn de la Universidad de California en San Diego (California), y Jeffrey Rothstein de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore (Maryland), describieron sus respectivos desarrollos metodológicos en un póster y en una presentación oral.

Ambos concluían que los resultados preliminares parecían muy prometedores, con los oligos destruyendo las inclusiones y corrigiendo la expresión anormal del gen causada por la expansión de la repetición GGGGCC en el ADN de C9orf72.

Confirmación de la inclusiones...

La primera cuestión, según Baughn, era confirmar que las inclusiones de ARNm de C9orf72 existen. Los investigadores que descubrieron la asociación genética con la ELA publicaron la presencia de focos nucleares de ARN mensajero de C9orf72 (Dejesus-Hernandez et al., 2011), pero otros grupos de investigación no llegaron a repetir este hallazgo. El reto consiste en la secuencia de la repetición "GGGGCC", pues las regiones ricas en GC son complejas de marcar y localizar por que las sondas dirigidas a ellas marcarán de forma inespecífica otras zonas que contengan GCs también.

Baughn, que trabaja en el laboratorio de John Ravits en la UCSD, ideó un método que marca de forma específica los focos de C9orf72 en colaboración con Clotilde Lagier-Tourenne en el laboratorio de Don Cleveland, también en la misma institución. El truco fue utilizar una sonda de ácido nucleico bloqueado. Esta sonda está hecha de ADN con puentes metileno para estabilizar la estructura en la conformación adecuada para el enganche correcto con la secuencia GGGGCC de C9orf72. "Es básicamente una base abrazadera de ADN," dijo Baughn. Esta abrazadera aumenta la afinidad y especificidad por la diana de interés. Los investigadores que intentan silenciar la repetición de la expansión en la enfermedad de Huntington utilizan una técnica similar.

Con una sonda de ácido nucleico bloqueado consistente en repeticiones de 3 hexanucleótidos, Baughn y Lagier-Tourenne detectaron correctamente las inclusiones de C9orf72. Los focos se disolvieron en presencia de ARNasa y además

fueron resistentes a ARNasa. Las inclusiones aparecieron en cultivos celulares primarios, incluyendo fibroblastos, linfoblastos, neuronas, y glía, todos aislados de gente que tenían ELA. No aparecieron en células control de tejidos sanos o de gente que tenía ELA esporádica, ELA familiar debida a mutaciones diferentes de C9orf72 o de gente con enfermedad de Parkinson.

Los focus eran principalmente nucleares, típicamente uno o 2 por célula, aunque ocasionalmente estaban empaquetados con otras inclusiones, según Baughn. Él y Lagier-Tourenne no han terminado la caracterización de la frecuencia de células con focos en su interior, pero Baughn dijo que del 9 al 45 por ciento de los fibroblastos y entre el 22 y 33 por ciento de las neuronas exhibían la presencia de focos, dependiendo de la línea celular examinada.

La confirmación de la presencia de los focos de ARN de C9orf72 es un hallazgo muy excitante, pues su presencia sólo en las células que portan la repetición nos confirma la teoría de que las inclusiones son realmente tóxicas.

"No sólo existen los focos, y además están compuestos de ARN, sino que también son realmente bastante comunes" concluía Baughn. A pesar de tener la expansión y la presencia de focos de C9orf72, las líneas celulares se presentan bastante saludables, aunque algunas crecen muy despacio.

... Y negación.

Para su parte, Rothstein, coautor de una de las publicaciones en que se descubría C9orf72 y su relación con la ELA (Renton et al., 2011), dijo que él y sus colaboradores comenzaron su proyecto antisentido el día que se presentó el manuscrito a la revista Neuron. Ellos basaron su idea, en parte, en resultados iniciales con oligonucleótidos antisentido en fibroblastos y mioblastos de gente con distrofia miotónica de tipo 1, otra enfermedad de expansiones.

El grupo de Rothstein se benefició de un modelo para examinar los beneficios del tratamiento. El y otros investigadores habían estado construyendo una colección de células pluripotentes inducidas (iPS) procedentes de pacientes con ELA, y descubrieron con suerte que una de sus líneas, procedente de un caso aparentemente esporádico, portaba la expansión de la repetición C9orf72. Los investigadores generaron neuronas motoras y astrocitos procedentes de las células iPS. Como Baughn y Lagier-Tourenne, Rothstein encontró que las inclusiones de ARN estaban presentes, pero apenas afectaban en la salud de las células. Mediante el estudio

del perfil de transcripción (transcriptomas) de sus líneas celulares, los investigadores identificaron unos 20 genes codificantes de proteínas secretoras que estaban de forma fiable o sobre o infra expresados en los cultivos de C9orf72. Esta característica podría finalmente dar lugar a un biomarcador para una terapia dirigida a C9orf72, dijo Rothstein.

Tanto los grupos de Cleveland-Ravits como de Rothstein unieron fuerzas con Isis Pharmaceuticals de Carlsbad, California, que generó oligonucleótidos antisentido candidatos para tratar potencialmente la ELA fundada en C9orf72. Isis persigue la generación de terapias antisentido para varias enfermedades neurodegenerativas. La compañía ya está trabajando en otros tratamientos antisentido para la ELA, dirigidos al gen superóxido dismutasa 1 (SOD1) en la actualidad. Los investigadores intentaron oligonucleótidos que se unen a todas las formas de procesamiento del gen C9orf72. Además, el grupo de Baughn también dirigía secuencias que únicamente aparecen en la isoforma expandida. Varios de los oligonucleótidos redujeron la frecuencia de los focos de ARN, y aparentemente también estabilizaron la expresión del gen. Estas evidencias con el marcaje de los focos y los estudios antisentido apoyan la teoría sobre el modelo de agregados tóxicos. Aunque no eliminan otros posibles mecanismos para la enfermedad basada en C9orf72. Las células que portan la repetición pueden sufrir haploinsuficiencia. Por esta razón, Baughn y Cooper-Knock están particularmente interesados en esos oligonucleótidos antisentido que derribarían la transcripción anómala y expandida y en cambio dejaría en niveles normales el ARNm de C9orf72 de longitud apropiada.

Sin duda, el siguiente paso, que llevará un largo tiempo, será conseguir una administración efectiva y dirigida de estos oligonucleótidos antisentido, exactamente igual que en el resto de las enfermedades neurodegenerativas. Y llegar a esta terapia llevará varios años... aún queda mucho esfuerzo por delante, y todos los pasos deben darse con cautela para que los esfuerzos no se queden por el camino.

- **REPETICIONES DINÁMICAS: C9ORF72 SE EXPANDE Y CONTRAE EN ELA.**

Desde hace años, los científicos nos encontramos a la caza y captura de la mutación en el cromosoma 9 que causa ELA y el descubrimiento posterior del misterioso C9orf72 fue apenas el final del hallazgo. En el congreso, los investi-

gadores analizamos el hecho de tener que enfrentarnos a una expansión de nucleótidos que varía de tamaño no sólo de una persona a otra sino también en distintos tejidos en la misma persona.

Presentado por Mariela Dejesus-Hernandez de la Clínica Mayo en Jacksonville, Florida, este hallazgo podría complicar tanto el diagnóstico como la generación de modelos de la enfermedad. Los estudios realizados en linfocitos (muestras de sangre), por ejemplo, pueden no exhibir la extensión completa de la mutación en el sistema nervioso. Este fenómeno es un tema ya familiar en las enfermedades de repeticiones, por ejemplo, en la distrofia miotónica de tipo 1 y en el síndrome de X frágil aparecen repeticiones variables de tamaño. Las personas sanas poseen hasta unas 30 repeticiones en C9orf72. Las personas con demencia frontotemporal o ELA tienen cientos o miles de repeticiones. Desde su descubrimiento en 2011, ha habido indicios de diferentes longitudes de la repetición en distintos tejidos de la misma persona.

Dejesus-Hernandez describió datos de 3 personas de las que se realizó una autopsia. Dos habían fallecido con ELA clásica y una tenía demencia frontotemporal lobular y enfermedad de neurona motora inferior (segunda motoneurona – atrofia muscular progresiva). Ella examinó el ADN procedente de la sangre, el bazo, corazón, músculo, hígado, médula espinal y tejido cerebral, incluyendo las cortezas frontal, temporal, parietal y occipital así como el cerebelo. Dentro de la misma persona, el tamaño de la repetición de C9orf72 oscilaba desde tan sólo 3 hasta 10 Kb. La persona con enfermedad cerebral y espinal tenía repeticiones de 80-100 Kb en la sangre y más de 1000 en el cerebelo. Incluso dentro de tejidos individuales hay mosaicismos. Los Southern blot (técnica que estudia el tamaño de fragmentos de ADN – genes – extraído de tejidos) revelaban manchas continuas o escalonadas mejor que bandas definidas, que indicarían un tamaño de gen fijo. El sistema nervioso central tiende a mostrar las repeticiones más grandes. Lo mismo ocurre en otras enfermedades de repetición. Johnanthan Cooper-Knock de la Universidad de Sheffield en el Reino Unido dijo que ellos vieron un patrón similar en sus estudios de C9orf72. En aproximadamente 1 de 15 pacientes, la longitud de la repetición en células sanguíneas eran 10 veces más pequeñas que en el cerebro.

“Eso va a complicar enormemente las cosas, porque tendemos a extraer sangre (para muchos análisis),” comentó Michael Van Es del centro médico de la Universidad de Utrecht en

Holanda. El denominó al hallazgo "intrigante y terrible al mismo tiempo". Rosa Rademarkers, en cuyo laboratorio trabaja Dejesus-Hernández, especuló que los científicos y los clínicos podrían perder personas con expansiones en C9orf72 si sus sangres no reflejan las largas repeticiones del sistema nervioso. Enfatizando que aún no existen evidencias de este tipo de resultados negativos, Rademarkers dijo que sería complejo determinar que produce tal fallo diagnóstico, puesto que requeriría el estudio de biopsias de tejido cerebral. Sin embargo, la pérdida de expansiones de C9orf72 en el cerebro no sólo confunde el diagnóstico en la práctica clínica. Podría también confundir los estudios que tratan de caracterizar los síntomas de la enfermedad producida por C9orf72, y/o la correlación del fenotipo con la longitud de la repetición. Cooper-Knock recomendó que los científicos que generan modelos celulares procedentes de pacientes no utilicen células sanguíneas de personas que tienen sólo un centenar de repeticiones en sangre, puesto que no garantiza un suficiente número de repeticiones en cerebro que causarían patología.

C9orf72 es la primera enfermedad de repeticiones que muestra este tipo de inestabilidad. En la distrofia miotónica de tipo 1, que se produce por una repetición de una expansión en la proteína kinasa 1 de distrofia miotónica (DMPK1), tanto los acortamientos como las expansiones de la repetición aparecen en los experimentos de cultivos celulares. En los animales las repeticiones tienden al crecimiento. En el caso de C9orf72, Rademarkers dijo que aún no se sabe si las personas comienzan con una repetición más bien corta que crece con el tiempo, o si se producen también contracciones. John Hardy de la Universidad Collage en Londres, comentó que si las personas con expansiones C9orf72 tienen diferentes longitudes en distintos tejidos, esto podría explicar por qué tienen tan variados fenotipos de enfermedad. La gente con la repetición C9orf72 puede exhibir tanto síntomas de ELA, como de demencia frontotemporal, o ambos. Rademarkers especuló que las personas con repeticiones más grandes podrían sufrir un inicio de la enfermedad más temprano.

Un mecanismo turbio

¿Cómo podrían crecer y contraerse las expansiones? Los científicos estamos de acuerdo en que las secuencias de repetición podrían causar que las enzimas de reparación y replicación del ADN se "enganchen", añadiendo o eliminando secciones según continúan su funcionamiento, sin embar-

go, el mecanismo preciso por el cual se producen estas repeticiones o acortamientos aún permanece en controversia. Algunos investigadores creen que el cambio de tamaño debe ocurrir en las fases tempranas del desarrollo, mientras que otros argumentan que el gen podría continuar estirándose y contrayéndose en los individuos adultos. El cambio del tamaño ocurre durante la replicación del ADN, según razonó Michael Baughn de la Universidad de California en San Diego. "Las polimerasas que copia el ADN tienen un arduo trabajo con las secuencias repetitivas," dijo. Puesto que las neuronas no se dividen, las repeticiones neuronales deben aparecer durante el desarrollo temprano, cuando los precursores aún se estén dividiendo. ¿Por qué, entonces, tendrían las células que no se dividen –las neuronas– repeticiones más grandes que los tipos celulares mitóticos tales como las células sanguíneas? En qué punto del desarrollo se producen las expansiones, podría explicar la distribución de las expansiones en los diferentes tejidos.

Dejesus-Hernandez presentó las evidencias preliminares en que la longitud de las repeticiones correlacionaba, holgadamente, con el origen embrionario de cada tejido. En un paciente, las repeticiones eran las más cortas en células derivadas de mesodermo como el bazo y la sangre, la longitud media aparecía en tejidos derivados de endodermo como el hígado y las más largas en el tejido nervioso derivado del ectodermo. Uno esperaría este patrón si el tamaño de C9orf72 se fijara de manera temprana en el desarrollo embrionario, dijo Baughn. "En este momento es tan sólo una observación" advertía Rademarkers. Su laboratorio reunirá el máximo número de tipos de tejidos del mayor número posible de sujetos para caracterizar mejor el tamaño de las repeticiones, el rango de las mismas y el punto de corte entre los individuos sanos y enfermos.

Cooper sugirió una explicación plausible para cuándo las expansiones deberían cambiar. "Mientras que la replicación del ADN no ocurre en las neuronas, lo que sí ocurre en todas las células es la reparación del ADN" dijo. Las repeticiones podrían confundir las enzimas de reparación, haciéndolas añadirse a la expansión. En la distrofia miotónica de tipo 1 las biopsias musculares en adultos muestran que la expansión de DMPK crece a lo largo del tiempo. De manera similar, las repeticiones en huntingtina aumentan en el modelo murino de la enfermedad de Huntington a lo largo de los años. Dos procesos celulares reclutan enzimas de reparación en secuencias de repetición. Uno es

la transcripción, que descubre y separa las bandas de ADN. Esto permite que las repeticiones formen estructuras tales como horquillas, que la maquinaria de reparación del ADN reconoce como anormales e intenta reparar. La formación de horquillas por las repeticiones CAG, como las halladas en la enfermedad de Huntington, y CGG en X frágil, se consideran hace tiempo un factor en la expansión. Apoyando esta teoría, la delección de algunas proteínas de reparación estabiliza la longitud de las repeticiones de trinucleótidos.

La segunda posibilidad es que la concentración elevada de oxígeno en el cerebro dañe el ADN. Eso, también, secuestraría las enzimas de reparación y activaría al sistema para alterar el número de repeticiones.

Rademakers sugirió que múltiples mecanismos deberían desestabilizar las repeticiones.

La última palabra para este mecanismo aún se encuentra lejana en el tiempo. Uno de los más fascinantes aspectos de todas estas enfermedades de repetición es el patrón de las expansiones en diferentes tejidos. Pero es increíblemente complejo. Por ahora, la heterogeneidad de las repeticiones es un factor importante para que los investigadores que estudiamos C9orf72 tengamos en cuenta, dijo Dejesus-Hernández.

- **UN DÚO ENDIABLADO: DOS MUTACIONES QUE SE SUMAN PARA DAR LUGAR A ELA FAMILIAR.**

Como si las bases genéticas de la ELA no fueran bastante complicadas, en el congreso escuchamos otra vuelta de tuerca para este tema. Michael Van Es, del centro médico universitario de Utrecht, en Holanda, propuso que en ciertos casos familiares, no uno sino dos de los genes de riesgo principales en ELA contribuyen a la enfermedad. Tras el cribado de familias para el hallazgo de mutaciones conocidas, Van Es y sus colegas descubrieron mayor número de dobles mutantes que los que esperaban haber hallado de forma casual. Mutaciones en un gen, un segundo, o ambos deberían explicar por qué portadores en la misma familia a menudo se presentan con diferentes fenotipos o escapan juntos de la aparición de la enfermedad, sugirió Van Es. El mecanismo tras la patología de dual genética permanece sin aclarar y algunos científicos dudan incluso que los pares de mutaciones actúen de forma conjunta.

Los genetistas han explicado típicamente la variable de edad de inicio, velocidad de progresión, y distintos síntomas de las personas con la

misma mutación de ELA, mediante la hipótesis de que otros factores en sus genomas, quizá muchas variantes, influyen en la enfermedad. La hipótesis del grupo de Utrecht "oligogénica" no es tal. Echa la culpa de los fenotipos de ELA a dos coprotagonistas genéticos, en lugar de un único actor y un casting de apoyo de actores de reparto.

La compañera de Van Es, Marka van Blitterswijk encabezó el estudio antes de trasladarse al laboratorio de Rosa Rademakers en la Clínica Mayo de Jacksonville, Florida. Según ella, los genetistas se dieron cuenta de que la gente portaba dos alelos de riesgo para la ELA cuando se disponían a realizar los estudios de secuenciación completa del exoma y del genoma de los pacientes con ELA Familiar. Lo que hicieron fue verificar sus muestras para la búsqueda de genes conocidos que portan susceptiblemente mutaciones relacionadas con la ELA y de este modo descubrieron que 5 de sus 97 familias portaban pares de mutaciones. La variante de angiogenina K17I apareció con FUS-R521C o con TARDBP-N352S, variante esta última del gen que codifica por la proteína TDP-43. Las expansiones en C9orf72 aparecieron junto con TARDBP-N352S, SOD1-D90A, o FUS-Q210H. En un estudio posterior publicado el mes pasado, Van Blitterswijk informaba sobre la aparición del dúo VAPB-V234I junto con la expansión en C9orf72.

En genomas de controles sanos, las variantes conocidas en genes de ELA sólo aparecían en un 0,5% de las muestras estudiadas y nunca más que una en la misma persona. Los investigadores calcularon que la frecuencia de las dobles mutaciones en familias con ELA estaba bastante por encima del rango del que debería aparecer al producirse de forma casual.

Sin embargo, la interpretación oligogénica es compleja por el hecho de que no todas las variantes implicadas está confirmado que sean mutaciones patogénicas. Por ejemplo, FUS-Q210H y angiogenin-K17I también aparecieron individualmente en sujetos control. En este sentido, podrían no ser mutaciones que causen la enfermedad, pero sí podría considerarse que representan un factor de riesgo o modificadores de la enfermedad.

Los investigadores debaten el verdadero papel de la angiogenina como factor de riesgo en la ELA, pero en cuanto al resto de las mutaciones han aparecido de forma espontánea en casos publicados previamente. Esto incluye tanto a FUS-R521C como a TARDBP-N352S, que además era bastante común entre los pedigrees

del grupo de Blitterswijk. Las expansiones en C9orf72, recientemente descritas como factor de riesgo que ha sido buscado durante varios años, son prevalentes en estos casos también. Y SOD1-D9oA está entre las mutaciones causales de la ELA más frecuentes y estudiadas últimamente.

Otros investigadores también han publicado casos con dobles mutaciones. Van Es dijo que no está seguro sobre cuán comunes serán los pares de mutaciones globalmente. El hipotetizó que los efectos aditivos de 2 alelos de riesgo genético causan una ELA completamente definida en algunas familias, mientras que un alelo mutante sencillo puede generar diferentes fenotipos de ELA o demencia frontotemporal, que se puede manifestar además con un inicio tardío de la enfermedad o una progresión más lenta. "La razón de la aparición de un fenotipo en la ELA se debe más a la suma de varias mutaciones, que a las mutaciones individuales como se ha intentado describir y estudiar hasta la fecha", dijo Van Es. Aunque es importante destacar que esto no quiere decir que todos los casos hereditarios de ELA resulten de un doble contratiempo genético, esto sería tan sólo posible en algunas familias, según comentaba Blitterswijk.

Van Blitterswijk ha dado un paso hacia delante en su nueva posición. El grupo de Rademakers estudia demencia frontotemporal (DFT), que comparte varios genes causales y algunas características con la ELA. Como se remarca en un póster en la reunión de Chicago, ella examinó el ADN de personas con mutaciones conocidas en genes de ELA y DFT, como por ejemplo tau y progranulina, para la búsqueda de la presencia de la nueva expansión descubierta en C9orf72. De nuevo, ella observó un inesperado alto grado de dobles mutantes – de 218 familias, 3 tuvieron variantes en progranulina y una en tau. Las mutaciones en progranulina incluyeron 2 cambios en la secuencia de lectura y una sustitución de finalización temprana de la traducción R493X; mientras que la de tau fue la P301L. Todas estas se hallaban ligadas a DFT previamente más allá de dudas, según escribe Van Blitterswijk. "Esto confirma la patogénesis oligogénica que no sólo es específica de ELA; sino que también se puede detectar en DFT", según palabras de Van Blitterswijk.

La reacción de la comunidad científica ha sido variada. No todos han aceptado la hipótesis. Rademakers dijo que ella misma era inicialmente escéptica, pero ahora que ha visto que la frecuencia de mutaciones dobles realmente coocurre, está de acuerdo que los pares cons-

tituyen un fenómeno real.

Guy Rouleau, de la Universidad McGill en Montreal, Canadá, lo ve de manera diferente. Argumenta que una de las 2 mutaciones no es patogénica, sino sencillamente una variante benigna. Sólo porque los polimorfismos estén presentes esto no quiere decir que contribuyan a la enfermedad, apuntando que el genoma de cada persona está contaminado con multitud de variantes que no causan problemas.

La presencia de 2 mutaciones en tantas familias con ELA y DFT tiene aún mayores implicaciones tanto para los investigadores como para las familias. Los científicos a menudo eliminan portadores de genes conocidos de los nuevos análisis genéticos a realizar, pero eso sería un error si esos portadores tienen más mutaciones importantes vagando por sus genomas.

Nosotros advertimos que incluimos en cualquier nuevo cribado de mutaciones las anteriormente descubiertas, siempre con la finalidad de encontrar dobles mutantes. Hasta ahora sólo hemos encontrado un caso entre los pacientes españoles (datos no publicados).

Las dobles mutaciones complicarán en el futuro, sin duda, el consejo genético y la predicción del riesgo para familias que porten los genes de riesgo. "Realmente no sabemos bien en la actualidad cómo vamos a lidiar con esta información en la práctica clínica", según palabras de Van Es. "No sabemos qué decir exactamente a partir de ahora".

- **LA PROTEÍNA SOD1 SE PERFILA COMO UN PATRÓN GENÉRICO DE LA ENFERMEDAD.**

Neil Cashman, de la Universidad de la Columbia Británica en Vancouver, Canadá, nos relató la historia sobre cómo la ELA podría viajar desde una neurona a la siguiente mediante un patrón de pérdida de plegamiento proteico, similar a lo que ocurre en los priones.

La idea de la expansión de la patología proteínica de molécula a molécula está floreciendo en todo el espectro de enfermedades neurodegenerativas. Tanto tau como β -amiloide, por ejemplo, sufren un mal plegamiento y actúan como plantillas para inducir posteriormente un caos conformacional a su alrededor. Cashman argumentaba que el gen de la ELA SOD1 produce una proteína que puede actuar de patrón de plegamiento erróneo incluso sobre su propia forma natural en estado nativo. Describió cómo SOD1 puede transmitir su mal plegamiento patológico de célula a célula, a través de un medio líqui-

do. Y los datos iniciales indican que la proteína utiliza 2 para desplazarse: como proteína libre agregada o como pasajero en los exosomas (vesículas que se externalizan en las células para viajar hacia otras).

Cashman cree que SOD1 se comporta como un prión. Para que una proteína se prione, debe cumplir 2 condiciones. La primera, la naturaleza infecciosa de la partícula debería pasar de una molécula a otra. Él y Les Grad –anteriormente compañero de Cashman en el laboratorio y ahora trabajador de PrioNet Canada, una red de investigación con sede en Vancouver– mostraron la transferencia intermolecular de SOD1 erróneamente plegada en el 2011. Y en segundo lugar, la proteína erróneamente plegada debe pasar de una célula a otra e incluso de región a región. La patología de la ELA parece comenzar en una localización anatómica y se extiende a través del sistema nervioso, y Cashman demostró que SOD1 realmente se transfiere de célula a célula.

Un prión auténtico debe ser transmisible entre individuos. Según Cashman, nadie sugiere que la ELA u otra patología neurodegenerativa no priónica sea contagiosa. De hecho, muchos investigadores prefieren el término “establecimiento de proteína con plegamiento erróneo” para distinguir la propagación de las proteínas amiloidogénicas de los prios realmente infecciosos que causan la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la encefalitis espongiforme bovina, y el scrapie en ovejas.

Grad y sus colaboradores dirigieron el estudio de transmisión célula-célula con un experimento de transferencia de medios. Introdujeron el gen mutante SOD1 en células de riñón embrionarias humanas HEK293FT y después transfirieron el medio de cultivo de dichas células a cultivos que expresaban sólo la proteína nativa sin mutaciones. Los investigadores utilizaron anticuerpos específicos contra la proteína mal plegada para detectar la conversión. El equipo fue capaz de transmitir de forma seriada la conformación mal plegada de cultivo a cultivo, mediante el uso de los medios de cultivo previos, de forma indefinida, según nos contó Cashman.

Una explicación posible de la transmisión podría ser que la SOD1 mutante salta por sí misma de cultivo a cultivo, dejando la proteína nativa intacta. Esto parece improbable puesto que la proteína mutante se diluiría a lo largo del tiempo, pero los investigadores querían probar de forma definitiva que la proteína nativa transmitiría la forma patológica. De este modo, silenciaron la expresión de SOD1 en las células utili-

zando ARN de interferencia y así mostraron que la SOD1 nativa era necesaria como material de partida para la transmisión del plegamiento erróneo.

El equipo aún tenía que probar que la mala conformación de SOD1 por sí misma y no por otros factores que se encuentren en el medio de cultivo, era la responsable del plegamiento erróneo en las células receptoras. Lo demostraron mediante la incubación del medio con anticuerpos para SOD1 y de este modo separar la proteína, lo que eliminaba la capacidad de transmisión del plegamiento erróneo por parte del medio de cultivo. “La partícula transmisible debe contener SOD1 mal plegada. No hay otra explicación más que un mecanismo de tipo priónico” dijo Cashman.

Los investigadores nos hemos focalizado en los genes de ELA y en las mutaciones desde hace mucho tiempo, pero la presentación de Cashman sugiere que es hora de prestar más atención a los mecanismos de enfermedad basados en proteína, incluso los concernientes a proteínas no mutadas.

Portadores de SOD1

¿Cómo podría la SOD1 enmarañada viajar de una célula a la siguiente?

El equipo investigó esta cuestión en la línea celular NSC-34 de neurona motora procedente de ratón. Otro trabajo sugiere que las células receptoras pueden engullir los agregados de SOD1 mutante mediante macropinocitosis, en que la célula envuelve algo del líquido que hay a su alrededor.

El grupo de Cashman estudió cómo las células donantes podrían liberar esos agregados, hipotetizando que las inclusiones de SOD1 mal plegadas se escapan de las células en proceso de degeneración. Justin Yerbury de la Universidad de Wollongong, en Australia, observó mediante microscopía de fluorescencia que las neuronas transfectadas de manera transitoria, tanto si portan la SOD1 nativa como la mutante, liberan agregados de tamaño de micras al degenerar. Mientras los agregados se liberan de una célula muerta podrían infectar las células vecinas, pero Cashman sospecha que no es el principal mecanismo para la propagación del plegamiento erróneo, porque la patología de la ELA parece extenderse más rápido que la muerte de las neuronas.

Buscó por tanto un mecanismo que explicaría la transmisión desde células vivas donantes. Puesto que los priones se ha demostrado que se propagan vía exosomas, Cashman colaboró con un experto en exosomas, Bradley Turner de la Universidad de Melbourne, en Australia, para

comprobar si la SOD1 se extiende mediante el mismo camino. Mediante microscopía electrónica, Turner observó que la SOD1 mal plegada se colocalizaba con marcadores de exosomas en pequeñas vesículas extracelulares.

Cashman sospecha que existen otros factores para el plegamiento erróneo de la SOD1 a parte de las mutaciones halladas en los casos de ELA Familiar. Esto se debe a que la proteína nativa, también, puede infectar las células vecinas si adopta la conformación enmarañada. De hecho, Cashman y otros investigadores han observado mal plegamiento, de agregados SOD1 nativos en casos de ELA Esporádica.

¿Qué causa que la SOD1 normal se pliegue de modo erróneo en ausencia de mutaciones?

En Chicago Cashman presentó evidencias que la deslocalización patológica de las proteínas TDP-43 y FUS ligadas a ELA inclina a la SOD1 normal hacia la conformación mal plegada. Los agregados de SOD1 se aparecieron en tejido de médula espinal de personas con ELA causados por mutantes FUS o con la expansión en C9orf72, o de ELAs esporádicas ligadas a inclusiones con TDP-43.

La transfección de líneas de neuroblastoma humanas SH-SY5Y en cultivo con el mutante FUS, o con el mutante de TDP-43 o su estructura nativa, también produjo plegamiento erróneo de SOD1. Este trabajo sugiere que TDP-43, FUS, SOD1, y otras mutaciones no caigan en distintos cajones, puesto que son todos "jugadores del mismo equipo". El grupo de Cashman no ha encontrado la vía existente entre FUS/TDP-43 y el mal plegamiento de SOD1, pero es probablemente indirecto, porque los agregados de SOD1 no se colocalizan con los agregados de las otras 2 proteínas.

"Creo que la SOD1 es la causa de la mayoría, sino todos, los tipos de ELA" propuso Cashman.

"La propagación del plegamiento erróneo de la SOD1 es el mecanismo fundamental."

Si este modelo es correcto, entonces el bloque de la transferencia intercelular podría detener la extensión de la neurodegeneración.

Biogen Idec de Cambridge, Massachusetts, planea una nueva terapia mediante el uso de anticuerpos contra SOD1 mal plegada generados en los laboratorios de Cashman y Jean-Pierre Julian de la Universidad Laval en Quebec, Canadá.

ELIMINAR LA BASURA PROTEICA EN LAS CÉLULAS NERVIOSAS PODRÍA AYUDAR A CONTROLAR 2 ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.

Neurocientíficos del Georgetown University Medical Center dicen que tienen nuevas evidencias sobre los desafíos científicos en torno a las creencias acerca de 2 enfermedades neurodegenerativas mortales – esclerosis lateral amiotrófica (ELA), y demencia frontotemporal (DFT) – y que, en el proceso, han descubierto una posible diana terapéutica así como una nueva estrategia para tratar ambas enfermedades.

El estudio, publicado online en el Journal of Biological Chemistry, encontró que el problema en ambas enfermedades es la imposibilidad del sistema celular para eliminar los desechos proteicos, para retirar y eliminar TDP-43, un poderoso, a veces gen que al mutar produce cantidades excesivas de proteína dentro del núcleo de la célula nerviosa, o neurona. “Estos hallazgos sugieren que si se fuese capaz de acelerar la maquinaria de extracción y se ayudase a la célula a deshacerse de los malos actores, sería posible reducir o enlentecer el desarrollo de la ELA y de la DFT,” dijo el investigador que dirige el estudio, el neurocientífico Charbel E-H Moussa, MB, PhD. “El potencial del avance mencionado es muy atractivo.” Sin embargo, advierte que determinar que la estrategia es posible en humanos podría llevar muchos años e implicar a muchos equipos de investigadores. La vía para acelerar la eliminación de la proteína sería añadir parkina – las unidades naturales de eliminación de la célula – a las células cerebrales. En el estudio, Moussa y sus compañeros demostraron en dos modelos animales de experimentación que la liberación de genes de la parkina en las neuronas disminuían las patologías de la ELA asociada a TDP-43.”

Moussa comentó que este estudio demuestra además que los grupos conocidos como “inclusiones” de la proteína TDP43 encontrados dentro de los cuerpos neuronales en ambas enfermedades no promueven estas enfermedades, como algunos investigadores había argumentado.

Lo que ocurre en ambas enfermedades es que la proteína, que es un potente regulador de cientos de genes, abandona el núcleo y se acumula en el interior del citoplasma gelatinoso de la neurona. En la ELA, también conocida como enfermedad de Lou Gehrig, esto ocurre en la neurona motora, afectando el movimiento, en la DFT, esto ocurre en el lóbulo frontal del cerebro, ocasionando demencia.

“En ambas enfermedades, TDP-43 está sobreexpresada o mutada, y el debate científico ha sido

que si es la pérdida de TDP-43 en el núcleo o es la ganancia de TDP-43 en el citoplasma el problema,” dijo Moussa.

“Nuestro estudio sugiere que TDP-43 se deposita en el citoplasma celular para ser eliminado – sin contribuir a la enfermedad – y que TDP-43 en el núcleo está causando el daño,” explicó. “Debido a que se está produciendo demasiada proteína, la célula no puede mantener la eliminación de estas partículas tóxicas en el núcleo y las abandona en el citoplasma. Debería haber una vía para reparar este problema.”

Moussa ha estudiado durante mucho tiempo la parkina, una molécula mejor conocida, cuando está mutada e inactiva, y su papel en la forma familiar de la enfermedad de Parkinson. La ha estudiado en la enfermedad de Alzheimer y otras formas de demencia. Su hipótesis, que ha sido demostrada en varios estudios recientemente publicados, es que la parkina podría eliminar fragmentos tóxicos de la proteína beta amiloide que se acumula en el cerebro y en los pacientes con la enfermedad de Alzheimer.

Además, desarrolló un método para eliminar esta proteína beta amiloide cuando empezaba a acumularse en las neuronas – una estrategia de terapia génica que ha visto que funciona en roedores. El trabajo continua con esta terapia potencial.

En este trabajo, Moussa encontró que la parkina “etiqueta” a la proteína TDP-43 en el núcleo con una molécula que la lleva del núcleo al citoplasma celular.” “Esto es bueno. Si TDP-43 estuviese en el citoplasma, esto prevendría además el daño nuclear y la desregulación del material genético que determina la identidad de la proteína,” comentó.

“Este descubrimiento cambia la creencia de que la acumulación de TDP-43 en el citoplasma es mala,” dijo Moussa. “Pensamos que la parkina está etiquetando proteínas en el núcleo para su destrucción, pero no existe la suficiente parkina en circulación – en comparación con la sobreproducción de TDP-43 – para hacer el todo el trabajo.”

Moussa piensa que el siguiente paso en la investigación será inyectar un fármaco que activa la parkina para ver si puede prolongar la vida media y reducir los defectos motores en ratones con ELA.

Este trabajo ha sido financiado gracias a una beca (AG30378) del National Institutes of Health y a los fondos de la Georgetown University.

Referencias:

“Removing protein ‘garbage’ in nerve cells may help control 2 neurodegenerative diseases” EurekaAlert. 20 de Diciembre de 2012.

http://www.eurekaalert.org/pub_releases/2012-12/gumc-rp121712.php

INVESTIGACIONES DEMUESTRAN LA INFLUENCIA DE UNA REGIÓN GÉNICA EN LA EDAD EN LA QUE LOS AFECTADOS DESARROLLAN ELA.

The ALS Association comunicaron el 7 de Septiembre de 2012 que un consorcio internacional consolidado de investigadores ha identificado una región en el cromosoma 1 que influye fuertemente en la edad en la que los individuos desarrollan la ELA. En un primer lugar, los científicos encontraron que las personas con ELA, con una específica firma genética en esa región del cromosoma 1, tenían una edad de inicio que era aproximadamente dos años y medio anterior que aquellos sin ella. El estudio fue patrocinado en parte por The ALS Association y publicado en *Neurobiology of Aging*.

“El descubrimiento de una región o centro genético en el cromosoma 1 que influye en la edad en la que la persona desarrolla ELA es crucial para entender el proceso de la enfermedad”, comentó Lucie Brujin, Ph.D, científico jefe de The ALS Association. “Existen muchas vías que conducen a la ELA, y este nuevo descubrimiento sugiere que deben haber factores comunes a todas estas rutas, que podrían permitir a los investigadores desarrollar nuevos tratamientos que ayuden a ralentizar o parar la enfermedad”.

En el estudio se examinó el ADN de más de 4000 pacientes con ELA y 5000 personas control de origen caucasiano. Los investigadores encontraron que los individuos con una específica firma genética dentro de una región en el cromosoma 1 tenían aproximadamente una edad de inicio de dos años y medio más temprana (56.5 años) que aquellos sin ella (59 años). Además, el estudio confirma la existencia de riesgos genéticos conocidos para la ELA y sugiere regiones nuevas que merecen más estudios.

“Aunque el retraso de dos años y medio en el inicio en la ELA pueda no parecer demasiado tiempo, es muy importante si lo comparamos con la media de supervivencia una vez que se diagnostica la enfermedad. El hecho de que esté asociado con un cambio significativo en la edad de inicio del ELA da a entender un papel en la velocidad de progresión hacia un aceleramiento de la enfermedad”, indicó el Dr. Langefeld. “La consistencia del efecto de este locus a lo largo de 13 cohortes caucásicas es extraordinaria y subraya la extensión del impacto”.

Esta nueva investigación fue dirigida por The International Consortium on Amyotrophic Lateral Sclerosis Genetics (ALSGEN), y analizada

por Carl Langefeld, Ph.D., de Wake Forest Baptist Medical Center en Winston-Salem, Carolina del Norte. El trabajo fue financiado por The ALS Association, the Packard Center for ALS Research y Johns Hopkins University, Microsoft Research. Este trabajo fue también financiado en parte por el Intramural Research Program de la NIA y de NINDS. El análisis y los recursos informáticos fueron proporcionados por el Wake Forest School of Medicine Center for Public Health Genomics.

Referencias:

<http://www.alsa.org/news/archive/researchers-find-genetic.html>