

FUNDELA

Boletín Científico 50

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

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

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

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

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

● **PROYECTO EUROPEO MinE:**
www.projectmine.com

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

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

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

● **BOLETIN CIENTIFICO**

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

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

Para realizar donaciones económicas pedimos suscribirse en nuestra página web:
<http://www.fundela.es/colabora/donar/>

COMIDA ANIVERSARIO 2014

Sábado 27 de Septiembre de 2014

Para conmemorar nuestro 12 aniversario, celebraremos una comida en Madrid. Los fondos recaudados serán utilizados para llevar a cabo los objetivos de la fundación.

Precio: 45 Euros

Hora: 14:00 horas

Lugar: Restaurante SANTA CRUZ:

www.restaurantesantacruz.com

Parque de los castillos, s/n

Alcorcón, Madrid

Teléfono: 916 108 759

Esperamos contar con tu asistencia!

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

Más información: fundela@fundela.es



Colaboradores voluntarios de este número:

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

Dra. Elena Rodríguez García (Bioquímica - Voluntaria FUNDELA)

Dña. Gabriela Atencia Cibreiro (Investigadora, Unidad de ELA - Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid)

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

Dr. Javier Mascías (Neurólogo, Unidad de ELA - Hospital Carlos III/Hospital Universitarios La Paz)

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

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

RESÚMENES DE ARTICULOS CIENTÍFICOS

INVESTIGACIÓN CLÍNICA

11 LA PATOLOGÍA DIFUSA DE LA MATERIA GRIS CEREBRAL DOMINA EL MRI LONGITUDINAL Y EL PANORAMA CLÍNICO EN LA ELA

ENSAYOS CLÍNICOS

INVESTIGACIÓN BÁSICA

30 ANÁLISIS COMPLETO DEL GENOMA (GWAS) PARA LA CONFIRMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD DE LA ELA

04 LA ALTERACIÓN PSEUDOBULBAR ES COMÚN EN LOS PACIENTES DE MAYOR EDAD CON ELA

12 LOS NIVELES DE TAU EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO PODRÍAN AYUDAR A DIAGNOSTICAR LA ELA

16 UN COMPUESTO DE COBRE AUMENTA LA VIDA ÚTIL EN RATONES CON ELA

20 FASES DE LA PATOLOGÍA DE PTDP-43 EN LA ELA

32 NOTICIAS

05 TROMBOEMBOLISMO VENOSO EN ELA

13 LA VARIANTE P.R47H DE TREM2 COMO FACTOR DE RIESGO PARA LA ELA

17 SE HA INSCRITO EL PRIMER PACIENTE EN EL ENSAYO FASE II DE CELULAS MADRE EN ELA

21 MAM: PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA ELA ROMPEN LAS UNIONES MITOCONDRIA-RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

06 NUTRICIÓN ENTERAL HIPERCALÓRICA EN PACIENTES CON ELA: ENSAYO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO, CONTROLADO CON PLACEBO EN FASE II

15 LOS NIVELES SÉRICOS DE ANGIOTENSINA II SE ENCUENTRAN ELEVADOS EN LA ELA Y NO EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

18 GENERVON COMPLETA CON ÉXITO LA FASE IIA DEL ENSAYO CLÍNICO PARA LA ELA

22 LAS NEURONAS Y LAS CÉLULAS CANCEROSAS COMPARTEN TÁCTICAS DE SUPERVIVENCIA

07 LOS ÁCIDOS GRASOS SALUDABLES PARA EL CORAZÓN PODRÍAN RETRASAR LA ELA

15 EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE NUEVOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON ELA MUESTRA NIVELES ANORMALES DE ESPECIES DE SELENIO INCLUYENDO UN ELEVADO NIVEL DE SELENITO

18 CIENTÍFICOS DE HARVARD DESCUBREN UN TRATAMIENTO POTENCIAL PARA LA ELA BASADO EN CÉLULAS MADRE

24 CÉLULAS QUE SE HAN DEJADO PASAR POR ALTO POSEEN LA CLAVE PARA LA ORGANIZACIÓN DEL CEREBRO Y LAS ENFERMEDADES

BIOMARCADORES

15 LOS DATOS DE BIOMARCADORES DE UN ENSAYO REALIZADO POR GENERVON APOYAN A UN FÁRMACO COMO TERAPIA PROMETEDORA PARA LA ELA

19 CYTOKINETICS ANUNCIA RESULTADOS DEL ENSAYO FASE IIB DE TIRASEMTIV EN ELA

25 DESPUÉS DEL DAÑO EN EL ADN, LA FOSFORILACIÓN DE FUS ENVÍA ESTA PROTEÍNA NUCLEAR AL CITOPLASMA

08 SEGUIR ADELANTE EN EL DESARROLLO DE BIOMARCADORES PARA ACELERAR LOS ENSAYOS CLÍNICOS

26 UNA MUTACIÓN MITOCONDRIAL ASOCIADA A UN SÍNDROME CON CARACTERÍSTICAS DE ELA-DFT.

09 EL VALOR DE LA TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES CON FLUORDESOXIGLUCOSA EN ELA - UN ESTUDIO PROSPECTIVO

28 NUEVOS HALLAZGOS DE REPETICIONES EN LA EXPANSIÓN EN C9orf72 ¿CAUSA DE NUEVAS ENFERMEDADES O COINCIDENCIA?

A continuación informamos de la Comida Anual Benéfica de FUNDELA, realizada conjuntamente con la colaboración de la asociación de pacientes ELA/EMN. El objetivo de la misma es continuar con nuestra misión que es fomentar la investigación biomédica de la ELA y sus afines de la Motoneurona, con el fin de encontrar métodos terapéuticos para vencerla.

Para las personas e instituciones que quieran colaborar y no puedan asistir, pueden hacerlo mediante donaciones a la "FILA CERO" en las cuentas de

Bankia: ES49 2038 1101 70 6000986247

Caixabank: ES09 2100 5884 07 0200010872

Bankinter: ES53 0128 0290 4601 0002 3087

Solicitamos vuestra colaboración, invirtiendo dinero en investigación en ELA, se permitirá que la situación cambie, confiamos que algún día podamos erradicar esta enfermedad.

Saludos cordiales

Maite Solas

www.fundela.es

COMIDA ANIVERSARIO 2014

Sábado 27 de Septiembre de 2014

Para conmemorar nuestro 12 aniversario, celebraremos una comida en Madrid. Los fondos recaudados serán utilizados para llevar a cabo los objetivos de la fundación.

Precio: 45 Euros

Hora: 14:00 horas

Lugar: Restaurante SANTA CRUZ:

www.restaurantesantacruz.com

Parque de los castillos, s/n

Alcorcón, Madrid

Teléfono: 916 108 759

Esperamos contar con tu asistencia!

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

Más información: fundela@fundela.es



INVESTIGACIÓN CLÍNICA

LA ALTERACIÓN PSEUDOBULBAR ES COMÚN EN LOS PACIENTES DE MAYOR EDAD CON ELA

Los estallidos incontrolables de llanto y risa en los trastornos neurológicos se denominan trastornos pseudobulbares (PBA). Se cree que los PBA se producen debido a una lesión de las vías que regulan la expresión emocional y son una consecuencia secundaria de varios trastornos neurológicos. En el mayor estudio de registro de pacientes con PBA (PRISM), dirigido por David Crumacker del Centro Médico de la Universidad de Baylor - Dallas, se mostró que esta alteración es más común de lo que se pensaba. El estudio, publicado en la reunión anual de la American Association for Geriatric Psychiatry, analizó 5.290 pacientes con una de estas seis enfermedades neurológicas: ELA, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, derrame cerebral y lesión traumática cerebral. Se estudió la presencia de síntomas de PBA en los pacientes empleando la escala de labilidad neurológica del Sistema Nervioso Central validada (CNS-LS). Una puntuación de 13 o más se consideró positiva, en base a su buen valor predictivo demostrado para el diagnóstico médico de PBA en pacientes con ELA.

La CNS-LS es una prueba sencilla que se puede ser llevada a cabo rápidamente por el paciente o cuidador. La prueba es muy adecuada para su uso rutinario en la práctica clínica.

La prevalencia global de síntomas PBA entre los participantes PRISM 3.048 de 65 años o más fue de 27,4%, con la tasa más alta observada en pacientes con ELA. Por el contrario, la prevalencia de síntomas de PBA en los pacientes menores de 65 años fue de 49,5%, con la tasa más alta - 56,9% - observada en pacientes con lesión cerebral traumática. Sin embargo, el impacto adverso de los síntomas de PBA en la calidad de vida fue mayor en los ancianos.

Se pidió a los pacientes o cuidadores que evaluaran en una escala de 0-10 el impacto que su enfermedad neurológica primaria había tenido en su calidad de vida. Los pacientes mayores de 65 años con síntomas de PBA informaron sobre un significativo impacto negativo mayor que aquellos sin síntomas PBA, con puntuaciones medias en la escala de impacto de calidad de vida de 6,3 frente a 4,6. Las diferencias en calidad de vida entre aquellos con síntomas de PBA y los que no fue significativa para los pacientes con

cada una de las enfermedades neurológicas, excepto para la ELA.

Otra posible medida de los efectos adversos de tener síntomas de PBA, fue el que al 56% de los pacientes mayores afectados se les administró al menos algún antipsicótico o antidepresivo, en comparación con el 35% de los pacientes de edad avanzada que no tenían síntomas de PBA.

En una entrevista, el Dr. Crumacker dijo que el PBA está infradiagnosticado en gran medida, diagnosticando, a menudo, erróneamente como depresión.

Los síntomas son extremadamente perturbadores para los demás y los pacientes son muy conscientes de eso - Les digo a mis amigos en neurología, que es la patología psiquiátrica que causa más problemas en la vida de la gente. Nadie se divorcia por la patología neurológica, se divorcia más por la patología psiquiátrica. No es, "Me divorcié porque tuve un derrame cerebral. Es "nos divorciamos porque él tuvo un derrame cerebral y cambió su personalidad; él era una persona diferente y yo no podía estar con él nunca más", comentó el psiquiatra.

El desarrollo de NUEDEXTA como único medicamento indicado para PBA fue accidental, de acuerdo con el Dr. Crumacker. El PBA se convirtió en un trastorno diagnosticable con su propio código ICD-9, a pesar de que no se podía hacer un diagnóstico en ausencia de una patología neurológica, a instancias de la FDA (Administración Oficial de Alimentos y Fármacos). El impulso fue el descubrimiento de un tratamiento eficaz, HBr dextrometorfano y sulfato de quinidina (Nuedexta), que recibió la aprobación de la FDA para la PBA hace 3 años. El desarrollo de Nuedexta como único tratamiento para el PBA sería una excepción.

"El fármaco se estaba probando en la enfermedad de Alzheimer. Cuando el jurado aún estaba deliberando sobre si era beneficioso o no, las familias de los participantes en el estudio regresan diciendo, '¿Sabes esas cosas que papá solía hacer.?' El llanto, la risa inapropiada, la ira, ahora ya no hace ese tipo de cosas, recordó el Dr. Crumacker.

REF: Jancin, B. "Pseudobulbar affect: More common than you'd think". *Clinical Psychiatry News Digital Network*. 18 de Marzo de 2014. <http://www.clinicalpsychiatrynews.com/news/geriatric-psychiatry/single-article/pseudobulbar-affect-more-common-than-you-d-think/016bca90a8ba5ebb1215a43592804251.html>
Pseudobulbar Affect is Common in Older ALS Patients. *The ALS Forum*. 18 de Marzo de 2014. http://www.researchals.org/page/4746/12979/?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+101&utm_campaign=ALS+Forum+Newsletter+99&utm_medium=email

TROMBOEMBOLISMO VENOSO EN ELA

El tromboembolismo venoso, que consiste en una trombosis venosa profunda y embolismo pulmonar, es una enfermedad común con una morbilidad, mortalidad y demanda de recursos considerable.

Las enfermedades neurológicas que afectan a la función de extremidades inferiores se describen como factores de riesgo de tromboembolismo venoso. Los pacientes con ELA presentan múltiples factores de riesgo de tromboembolismo venoso, incluidos una movilidad reducida, una edad avanzada y un progresivo fallo respiratorio. Dos estudios retrospectivos han mostrado un aumento en la incidencia de los síntomas de trombosis venosa, sin embargo, no existe ningún estudio prospectivo que evalúe las tasas de tromboembolismo venoso sintomático y asintomático en pacientes con ELA.

El objetivo del estudio publicado en la revista *Neurology* en mayo por Gladman y sus colaboradores del Centro de Ciencias de la Salud Sunnybrook de la Universidad de Toronto en Canadá fue evaluar prospectivamente la incidencia de la importancia clínica del tromboembolismo venoso en pacientes con ELA e identificar los factores de riesgo potenciales.

Para ello, se reclutaron 55 pacientes ambulatorios con ELA evaluando mediante ultrasonografía duplex venosa bilateral de las venas proximales de las piernas en el momento del reclutamiento y a los 6 y 12 meses. Las medidas de los resultados primarios clínicamente importantes de tromboembolismo venoso permitieron definir trombosis venosa proximal profunda asintomática evaluada mediante ultrasonografía, trombosis venosa profunda sintomática o embolismo pulmonar o embolismo pulmonar mortal. Para cada paciente, se registró el seguimiento diario desde el reclutamiento hasta el día del diagnóstico de VTE, muerte, pérdida del seguimiento o visita final a los 12 meses.

Durante el primer año del período de seguimiento, se detectó tromboembolismo venoso en 4 pacientes (1 trombosis venosa profunda sintomática, 1 embolismo pulmonar sintomático y 2 trombosis venosas proximales profundas asintomáticas) sobre 13,01 seguimientos diarios, representando un 11.2% de incidencia anual. Los sujetos con ELA de inicio en piernas o debilidad significativa de piernas tuvieron una incidencia anual de tromboembolismo venoso de 35.8% y 35.5%, respectivamente. El riesgo de tromboembolismo venoso aumentó significativamente en aquellos pacientes con una subpuntuación

disminuida en la escala de Calificación Funcional Revisada de la ELA (ALSFRS-r) en las extremidades inferiores ($p=0.02$) y una disminución de la media de la puntuación en la escala del Consejo de Investigación Médica en las extremidades inferiores ($p=0.03$).

Estos resultados sugieren una asociación entre la debilidad muscular y el aumento del riesgo de tromboembolismo venoso consistente con estudios previos. La edad avanzada y la duración de la enfermedad también fueron identificadas como factores de riesgo con una importancia similar. El tromboembolismo venoso se ha estudiado en otras enfermedades neurológicas que limitan la movilidad, como accidentes isquémicos y daño en médula espinal, donde un tratamiento anticoagulante profiláctico a corto plazo se emplea de forma rutinaria en estas enfermedades. Tratamiento disponible, efectivo, seguro y barato mediante anticoagulantes orales.

Las limitaciones del presente estudio incluyen el pequeño tamaño de la muestra y el número de tromboembolismos venosos. Además, el seguimiento se limitó a 1 año y una proporción importante de la cohorte murió antes de completarse el estudio. El 40% de los sujetos presentaba una enfermedad de inicio en piernas, lo que es superior a lo que se esperaba y podría resultar en una sobreestimación del riesgo de tromboembolismo venoso en la población con ELA. La generalización se limita a pacientes ambulatorios de ELA que reciben cuidados terciarios. Además, mientras participen más hombres que mujeres, el tamaño de la muestra será demasiado pequeño para determinar si el sexo es un factor de riesgo para el tromboembolismo venoso. Aunque los pacientes con cáncer activo o con cirugías importantes recientes se excluyeron, otros factores como el estado de hidratación, traumas por caídas o alguna neoplasia oculta podrían haber contribuido. Estos datos sugieren que el tromboembolismo venoso clínicamente importante es común en pacientes con ELA, particularmente aquellos con debilidad en las piernas y movilidad reducida. Obtenidos estos resultados, los potenciales beneficios de un análisis rutinario de tromboembolismo venoso y una profilaxis primaria en pacientes de ELA de alto riesgo con debilidad muscular deberían ser examinados en estudios futuros. Mientras tanto, los médicos deberían tener un umbral más bajo para considerar tromboembolismo venoso en pacientes con ELA y con debilidad en piernas.

REF: Gladman M, et al. "Venous thromboembolism in amyotrophic lateral sclerosis: A prospective study". *Neurology*. 2014 May 13;82(19):1674-7.

NUTRICIÓN ENTERAL HIPERCALÓRICA EN PACIENTES CON ELA: ENSAYO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO, CONTROLADO CON PLACEBO EN FASE II

La pérdida de masa muscular y grasa es un síntoma común en la ELA y se hipotetiza con que es el resultado de la disminución de la ingesta debido a la disfagia, la depresión, anorexia y dificultad con los mecanismos de alimentación, así como el aumento del gasto energético provocado por un estado hipermetabólico. La nutrición enteral por gastrostomía endoscópica percutánea (PEG) o gastrostomía insertada radiológicamente (RIG) se recomienda a los pacientes una vez que han perdido el 10% del peso premórbido (previo a padecer la enfermedad) y antes de que se incremente el riesgo de una intubación endotraqueal como resultado del procedimiento de la gastrostomía. Para los pacientes con ELA que necesitan ser alimentados mediante una sonda, no se dispone de ninguna pauta nutricional o recomendaciones para una nutrición enteral adecuada.

En dos estudios prospectivos se ha asociado el índice de masa corporal y la supervivencia en pacientes con ELA, encontrándose menos riesgos en personas que tenían sobrepeso u obesidad. Además la utilización de dietas hipercalóricas en modelos de ratones ELA aumentaba la supervivencia. En vista de estos datos epidemiológicos y preclínicos Wills del Instituto de Investigación Clínica Neurológica de Boston, Massachusetts y sus colaboradores diseñaron un ensayo clínico de fase II en el que tuvieron como objetivo valorar la seguridad y la tolerabilidad de dos dietas hipercalóricas en pacientes con ELA que recibían nutrición enteral y cuyos resultados se publicaron en la revista *Lancet* el 14 de Junio.

En este ensayo clínico doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo de fase II, se inscribió a pacientes con ELA de los centros participantes en EE.UU. Los participantes elegibles fueron mayores de 18 años o más sin antecedentes de diabetes, enfermedades del hígado, o enfermedad cardiovascular y que ya estaban recibiendo nutrición enteral percutánea. Se asignó aleatoriamente a los participantes utilizando una lista generada de números al azar por computadora a cada una de las intervenciones dietéticas: calorías de sustitución usando una dieta isocalórica (control), una dieta hipercalórica con un alto

contenido de carbohidratos (HC/HC), o una dieta hipercalórica rica en grasas (HF/HC) todas diseñadas para la alimentación por sonda. Los participantes recibieron las dietas de intervención durante 4 meses y se realizó un seguimiento durante un total de 5 meses. Los resultados iniciales fueron sobre seguridad y tolerabilidad, analizados en todos los pacientes que habían iniciado la dieta del estudio. Este ensayo se registró en *ClinicalTrials.gov*, con el número NCT00983983.

Entre el 14 de diciembre 2009 y el 2 de noviembre 2012, se reclutó a 24 participantes, de los cuales 20 iniciaron su dieta del estudio (seis en el grupo control, ocho en el grupo HC/HC y seis en el grupo HF/HC). Un paciente en el grupo de control, uno en el grupo HC / HC y dos en el grupo HF / HC retiraron su consentimiento antes de recibir la intervención. Los participantes que recibieron la dieta HC/HC tuvieron un menor número total de eventos adversos que aquellos de otros grupos (23 en el grupo HC/HC vs 42 en el grupo control frente a 48 en el grupo HC/HC; globalmente, $p = 0,06$; HC/HC vs control, $p = 0,06$) y significativamente menos eventos adversos graves que aquellos que recibieron la dieta control (ninguno vs nueve; $p = 0,0005$). Menos pacientes en el grupo HC/HC interrumpieron su dieta del estudio debido a eventos adversos (ninguno [0%] de ocho en el grupo HC/HC vs tres [50%] de los seis en el grupo control). Durante los 5 meses de seguimiento, no se produjeron muertes en los nueve pacientes asignados a la dieta HC/HC en comparación con tres muertes (43%) en los siete pacientes asignados a la dieta control (log-rank $p = 0,03$). Los eventos adversos, la tolerabilidad, muertes y progresión de la enfermedad no difirieron significativamente entre el grupo HF/HC y el grupo control.

Los resultados del ensayo proporcionan una evidencia preliminar de que la nutrición enteral hipercalórica es segura y tolerable en pacientes con ELA pudiéndose convertir en una intervención no farmacológica potencialmente sólida, de bajo coste y bajo riesgo para esta enfermedad mortal. Estos resultados también apoyan la idea de que la ELA es una enfermedad sistémica multiorgánica caracterizada por una disfunción metabólica. A pesar de ello deben ser interpretados con precaución debido al pequeño tamaño de la muestra, aunque apoyen la realización de estudios de intervenciones nutricionales en ensayos controlados aleatorios de mayor tamaño en las etapas

tempranas de la enfermedad. Como los investigadores sugieren realizar un ensayo mayor de fase III para examinar la supervivencia con cada una de las tres dietas y realizarlo en una etapa inicial de la enfermedad sería esencial. Desafortunadamente, un estudio así sería difícil de llevar a cabo debido a que los pacientes podrían realizar los cambios nutricionales por sí mismos sin necesidad de prescripción médica como resultado de estos hallazgos, por lo que un grupo control podría no estar garantizado.

REF: Al-Chalabi A. "High-calorie diets in amyotrophic lateral sclerosis". *Lancet* 2014 Jun 14;383(9934):2028-30.
Wills AM, et al. "Hypercaloric enteral nutrition in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial". *Lancet*. 2014 Jun 14;383(9934):2065-72.

LOS ÁCIDOS GRASOS SALUDABLES PARA EL CORAZÓN PODRÍAN RETRASAR LA ELA

El beneficio para la salud cardiovascular ofrece una razón para saborear alimentos ricos en ácidos grasos omega-3. Un artículo publicado en la revista JAMA Neurology online añade otra: los mismos compuestos reducen el riesgo de desarrollar ELA en una persona. Investigadores de la Harvard School of Public Health determinaron entre una muestra masiva de un millón de personas, que los que comieron más alimentos ricos en omega 3 como el salmón, la linaza, las nueces y tenían dos tercios menos de riesgo de desarrollar ELA que aquellos que comían menos. En este estudio retrospectivo observacional no se puede determinar la causa y el efecto, según comentó Kathryn Fitzgerald, primera autora del trabajo, aunque se sospecha que estos ácidos grasos insaturados, que forman parte de las membranas celulares en el cerebro, podrían proteger a las neuronas contra el estrés oxidativo o la inflamación. El resultado es convincente y consistente con algunos estudios anteriores. A diferencia de un trabajo previo, que examinó las dietas de las personas después de haber sido diagnosticados con ELA, el presente estudio analizó los datos recopilados antes de que cualquier individuo desarrollase la enfermedad. A pesar de encontrar que la dieta ayuda, el hecho de comer más ácidos grasos omega-3

sería poco probable que ayudase en el caso de las personas con alto riesgo a padecer ELA debido a mutaciones familiares. Dado que la incidencia de la ELA es muchísimo más baja en comparación con las enfermedades cardiovasculares, las personas sanas deben centrarse más en que el consumo de ácidos grasos omega-3 es una dieta saludable para el corazón.

Los investigadores de la enfermedad de Alzheimer han estado estudiando este tipo de grasas durante mucho tiempo. En un estudio aleatorizado, controlado con placebo, la introducción de ácidos grasos omega-3 después del diagnóstico no logró mejorar los síntomas en personas con enfermedad de Alzheimer y esto debe hacernos escépticos sobre el uso de ácidos grasos omega-3 para el tratamiento de la ELA. El panorama para la prevención de la enfermedad de Alzheimer sigue permaneciendo incompleto. A pesar de ello, un estudio encontró que las personas que comieron pescado semanalmente eran menos propensas a desarrollar enfermedad de Alzheimer.

Debido a que la inflamación y el estrés oxidativo se han implicado en la ELA, los autores del artículo sospecharon que los ácidos grasos omega-3 podrían tener un efecto beneficioso. Afortunadamente, los datos para responder a su pregunta estaban disponibles. Obtuvieron la información dietética y de la enfermedad a partir de cinco estudios prospectivos longitudinales. En conjunto, estas cohortes incluyeron más de un millón de participantes. De ellos, casi 1.000 desarrollaron ELA durante los periodos de recogida de datos en ocho a 24 años, dependiendo de la cohorte.

Los estudios con los datos sobre el consumo de ácidos grasos omega-3, se basaban en cuestionarios dietéticos completados por los individuos. Se dividieron a los participantes en cinco quintiles, de los que comían más alimentos con omega-3 a los que comían menos. Los que estaban en el quintil más alto tenían un riesgo 34 por ciento menor de desarrollar ELA que los de los más bajos. La ingesta de otros tipos de grasas no influyó en el riesgo de ELA. Aunque un físico delgado ha sido asociado con la ELA, Fitzgerald encontró que las ventajas de los ácidos grasos omega-3 se mantuvieron incluso si se controlaba el índice de masa corporal.

El siguiente paso lógico sería el estudio en ratones, dijo Quinn, que de hecho ya se ha hecho un estudio. Los investigadores intentaron tratar modelos de ratones con ELA con ácidos grasos omega-3 y encontraron que el curso de la

enfermedad se aceleró, en lugar de reducirse. Eso podría deberse a que los investigadores utilizaron ácidos grasos derivados de mariscos y Fitzgerald vio que los ácidos grasos producidos por plantas eran más beneficiosos. Este estudio de Big-Data sugiere que al menos el 20 por ciento de la población de EE.UU. podría estar en riesgo de ELA debido a una insuficiente ingesta de omega-3. Parece dudoso que algún tipo de protección implique un mecanismo de ELA específico, siendo más probable un efecto neuroprotector general o un mecanismo antiinflamatorio. El estudio carece de la medida de los niveles sanguíneos de ácidos grasos omega-3, aunque los cuestionarios dietéticos estén razonablemente bien validados. Fitzgerald espera examinar cómo los biomarcadores sanguíneos de ácidos grasos se correlacionan con la incidencia de ELA en un estudio de seguimiento. Demostrar el beneficio de los ácidos grasos experimentalmente es difícil. Desafortunadamente, para decidir si sería útil aumentar la ingesta de ácidos grasos omega-3 si alguien porta una mutación relacionada con la ELA se requeriría un ensayo clínico muy grande, largo y costoso.

REF: *National Institute of Neurological Disorders and Stroke, The Journal of Neuroscience*

BIOMARCADORES

SEGUIR ADELANTE EN EL DESARROLLO DE BIOMARCADORES PARA ACELERAR LOS ENSAYOS CLÍNICOS

Dos docenas de investigadores de la academia, el gobierno, la industria biotecnológica y farmacéutica se reunieron recientemente para discutir la manera de seguir adelante con el desarrollo de biomarcadores para acelerar los ensayos clínicos en la ELA. La reunión de un día terminó con nuevos compromisos para mejorar la infraestructura y estandarizar la recogida de muestras biológicas, la apreciación de lo lejos que se ha llegado en este campo y lo mucho que queda por hacer para desarrollar marcadores robustos para la ELA, aunque se esté acercando a la solución de este importante problema. Un biomarcador es una cantidad medible, como el colesterol en la sangre o el brillo de un punto

en una placa de rayos X, que se correlaciona con algún aspecto de un proceso patológico. El uso de biomarcadores tiene el potencial de permitir que los ensayos clínicos sean más reducidos y más seguros, permitiendo que se ensayen nuevas terapias de forma más rápida.

Tipos de biomarcadores y subtipos de enfermedades

Un reto importante en la ELA es la diversidad de la propia enfermedad. Existen 35 genes que pueden causar o aumentar el riesgo de ELA y varios subtipos clínicos diferentes. Todo esto sugiere que puede haber diferentes procesos de la enfermedad que funcionen en diferentes individuos. Sería valioso contar con biomarcadores para cada uno de esos procesos.

La existencia de subtipos en la ELA es una posible razón por la que los ensayos clínicos tienen tanta dificultad para demostrar los beneficios de los nuevos tratamientos. Si un tratamiento es beneficioso en sólo un subtipo, pero en el ensayo se inscriben todos los subtipos, la señal beneficiosa se puede diluir y el resultado global no será positivo. Los biomarcadores para los subtipos de ELA, especialmente los vinculados a los diferentes procesos de la enfermedad, serían muy valiosos para la estratificación de los individuos en un ensayo, para medir el efecto del tratamiento en cada grupo.

Se han hecho algunos avances. Recientemente algunos grupos que compiten por el desafío Prize4Life en la ELA mostraron que la tasa de progresión de la enfermedad podría predecirse a partir de un pequeño conjunto de marcadores sanguíneos. El uso de los mismos en ensayos futuros debería permitir a los investigadores analizar con más precisión si el tratamiento reduce la progresión en comparación con lo que se hubiera esperado para cada persona individual, en función de su nivel de referencia para estos marcadores. El mayor temor es que están faltando tratamientos eficaces en subpoblaciones.

Los biomarcadores que determinan si un medicamento está "alcanzando su objetivo" en el sistema nervioso central también son valiosos. Dos nuevos ensayos, uno del antiinflamatorio tocilizumab y otro del antiepiléptico retigabina, van a utilizar estos tipos de biomarcadores. Otros marcadores biológicos relacionados con el proceso patológico que implican inflamación se discutieron en la reunión, incluidos los candidatos recién descubiertos presentados por varios investigadores. Estos prometen desarrollos que serán explorados con más detalle en el laboratorio con el fin de evaluar su utilidad en ensa-

yos clínicos.

La estimación del número de unidades motoras (MUNE) mide las propiedades eléctricas de la interacción músculo-nervio para determinar el grado de pérdida de las neuronas motoras, una medida directa del proceso de la enfermedad. La medida de MUNE se puede realizar fácilmente en la clínica y es indolora para el sujeto. Está menos sujeta a la fluctuación de la Escala de Calificación Funcional de la ELA "ALSFRS-r", medida utilizada normalmente en los ensayos clínicos para seguir la progresión de la enfermedad. Se ha utilizado la MUNE en ensayos y puede llegar a emplearse de forma más amplia. Además, la EIM, o miografía de impedancia eléctrica, es una medida emergente que reúne los atributos necesarios para seguir la progresión de la enfermedad, incluida una excelente reproducibilidad y una fácil medición, así como un claro patrón de cambio con el estado de la enfermedad.

Varios miembros del grupo hablaron sobre los esfuerzos en marcha en otras enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson. Gran parte de los esfuerzos se centran en las imágenes cerebrales, empleando marcadores para la acumulación de proteínas tóxicas en el cerebro. Una necesidad no satisfecha en la ELA es el desarrollo de un marcador para la acumulación de la proteína TDP-43, que se agrega en la mayoría de las personas con ELA, y que podría ser útil para seguir la progresión de la enfermedad.

La importancia de las muestras biológicas

En la reunión se acordó que los actuales esfuerzos en la recogida de muestras biológicas de los pacientes con ELA se deben continuar y reforzar. Las muestras, como por ejemplo la sangre y el líquido cefalorraquídeo recogidas durante un ensayo pueden ser analizadas, incluso mucho después del final del ensayo, para determinar si algún aspecto del proceso de la enfermedad se vio alterado por el tratamiento. El Consorcio del Noreste de EE.UU. de ELA (NEALS), un consorcio de ensayos clínicos, está estandarizando los procedimientos de recogida de muestras biológicas, una parte crítica del proceso para asegurarse de que las muestras se conservan de la misma manera en diferentes centros. Conjuntamente con estos esfuerzos, el NEALS a través de su iniciativa NeuroBank, ha desarrollado un sistema de identificación del paciente con sede en la web, por lo que las muestras individuales recogidas en diferentes

momentos de la misma persona pueden ser correlacionadas, aunque las muestras se encuentren en diferentes centros y se recojan en diferentes ensayos.

El líquido cefalorraquídeo (LCR) ha dado probablemente los mejores biomarcadores caracterizados de la ELA. Los neurofilamentos, que son parte del esqueleto estructural de la célula, también se pueden estudiar en el LCR. La cantidad y los tipos de neurofilamentos específicos en el LCR son característicos de la ELA y pueden emplearse en el diagnóstico precoz y pronóstico temprano.

Cooperación y orientaciones para el futuro

Los asistentes a la reunión acordaron que una mayor cooperación podría acelerar el desarrollo de múltiples iniciativas. La estandarización de los procedimientos operativos en la recogida de la muestra biológica será una de las partes a desarrollar por los miembros del grupo. También será útil la armonización en la recopilación de datos durante los estudios, ya que permitirá el análisis de grandes conjuntos de datos en el futuro. Existen posibilidades de que los fondos federales puedan acelerar estos esfuerzos. Este es un momento extraordinario en la ELA, con avances en genética y en el desarrollo de biomarcadores.

REF: "Moving Forward on Biomarker Development to Speed Clinical Trials". ALS Association. 29 de Mayo de 2014.

<http://www.alsa.org/news/archive/moving-forward-on-biomarkers.html#.U4daqhFsYso.facebook>

EL VALOR DE LA TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES CON FLUORDESOXIGLUCOSA EN ELA – UN ESTUDIO PROSPECTIVO

Las enfermedades de neurona motora (ENM) se componen de un grupo de enfermedades en que se ven afectadas preferentemente las neuronas motoras superiores (NMS) y/o las neuronas motoras inferiores (NMI). En la madurez, el espectro clínico de ENMs es extenso, oscilando desde una implicación simultánea de NMS y NMIs (ELA clásica, alrededor del 90% de los casos de ENM), un síndrome puro de NMS (esclerosis lateral primaria – ELP) y una implicación aislada de NMI (atrofia muscular progresiva – AMP). Todavía no se ha establecido si estas dos últimas constituyen

entidades independientes de la ELA porque un número considerable de pacientes ELP y AMP progresan a ELA.

El diagnóstico de ELA se basa predominantemente en la interpretación de síntomas y signos clínicos, con el uso de tests secundarios para excluir otras causas. Actualmente se emplean los criterios revisados de El Escorial, o criterios diagnósticos de Awaji-Shima, más sensibles a la hora de definir la enfermedad de forma temprana.

Mientras la presencia de una degeneración de NMI puede confirmarse por pruebas electrodiagnósticas, no existe ningún biomarcador aceptado para la afectación de NMI. Sin embargo, la utilización de biomarcadores seguros son críticos para el diagnóstico temprano, la monitorización de la progresión de la enfermedad, la prognosis, y la estratificación de los pacientes para los ensayos clínicos. Aunque las imágenes por resonancia magnética (IMR) del cerebro y de la médula espinal constituyen la más útil de las técnicas de neuroimagen en ELA, únicamente excluyen algunos síndromes que mimetizan la ELA. La morfometría basada en voxels revela atrofia regional y la espectroscopia por resonancia magnética y la resonancia magnética por tensor de difusión pueden detectar lesiones córtico-espinales. Sin embargo, debido a la poca sensibilidad y especificidad, estas técnicas actualmente son inadecuadas para su uso como herramienta diagnóstica en pacientes individuales.

En este sentido, los objetivos del estudio presentado por Van Laere del Hospital Universitario de Lovaina en Bélgica y sus colaboradores en mayo en la revista *JAMA Neurology*, para evaluar el uso de la tomografía de emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa como marcador de la ELA fueron tres. En primer lugar evaluar el metabolismo de la glucosa en un grupo grande de pacientes con ELA y otros con ELP, comparándolos con participantes control sanos divididos por grupos de edad para evaluar el valor diagnóstico de la clasificación basada en voxels. Segundo, estudiar el impacto metabólico de la mutación *C9orf72* en pacientes con ELA. Y tercero, relacionar la supervivencia de los pacientes con ELA asociada con la presencia de hipometabolismo frontotemporal.

En total, se investigaron prospectivamente 81 pacientes con un diagnóstico sospechoso de ELA del Hospital Universitario de Lovaina. Todos se sometieron a cuidadosos exámenes neurológicos y electrodiagnósticos y pruebas

genéticas para las principales causas genéticas conocidas de ELA (*C9orf72*, *SOD1*, *TARDBP*, y *FUS*). Se realizó un diagnóstico de ELA en 70 de los 81 pacientes. De estos, 11 eran *C9orf72* positivos. En 7 pacientes se llegó a un diagnóstico de esclerosis lateral primaria y 4 pacientes mostraron atrofia muscular progresiva. Los datos de la tomografía por emisión de positrones se normalizaron y analizaron espacialmente empleando un volumen de interés predefinido y un análisis basado en voxel. El análisis discriminatorio se realizó basándose en volúmenes de interés y en voxel empleando una máquina de vectores de soporte.

Comparando con los participantes control, la FDG-PET mostraba un hipometabolismo perirrolándico y prefrontal en la mayoría de los pacientes. Los pacientes con esclerosis lateral primaria mostraron un patrón similar. Los pacientes ELA *C9orf72* positivos mostraban un relativo hipometabolismo en el tálamo y en el cingulado posterior comparando con los pacientes *C9orf72* negativos. Un análisis discriminatorio posterior fue capaz de clasificar correctamente un 95% de los casos de ELA y un 71% de los casos de esclerosis lateral primaria. Por otro lado, el hipometabolismo prefrontal se asoció con un menor funcionamiento clínico (Escala de Calificación Funcional de la ELA – ALSFRS-r). El hipometabolismo en las áreas prefrontales y temporal anterior estaba presente en el 10% de los pacientes y se asociaba con una supervivencia significativamente menor como factor independiente ($n=63$, $P<0.001$). Los pacientes que fueron *C9orf72* positivos no diferían en supervivencia con aquellos que eran *C9orf72* negativos. A la vista de estos resultados, este estudio muestra como promesa a un marcador metabólico PET efectivo que tiene valor en un diagnóstico temprano y diferencial en la ELA y en la caracterización de ELA *C9orf72* positivos. También aporta información pronóstica, al relacionar un descenso en el metabolismo frontotemporal y una supervivencia menor.

REF: Van Laere K, et al. "Value of 18Fluorodeoxyglucose-Positron-Emission Tomography in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Prospective Study". *JAMA Neurol.* 2014 May 1; 71 (5) :553-61.

LA PATOLOGÍA DIFUSA DE LA MATERIA GRIS CEREBRAL DOMINA EL MRI LONGITUDINAL Y EL PANORAMA CLÍNICO EN LA ELA

La heterogeneidad clínica, junto con el engañoso inicio de los síntomas en la ELA, contribuyen al transcurso de un periodo mayor de un año de media, desde el inicio de los síntomas al diagnóstico en la ELA. La heterogeneidad fenotípica de la ELA, incluyendo el deterioro cognitivo extramotor se conoce perfectamente, sin embargo, no existen biomarcadores plenamente validados aunque estén apareciendo candidatos en el campo de la neuroimagen, los fluidos corporales y neurofisiología.

Hasta la fecha, los biomarcadores candidatos han mostrado una sensibilidad y especificidad variable y los estudios se han realizado principalmente sólo de forma transversal (estudiando un conjunto de pacientes, no a lo largo del progreso de la enfermedad). Mientras tanto, el diagnóstico, la estratificación y el seguimiento de la progresión de la enfermedad en la ELA se basan en la historia clínica y la exploración, particularmente en el marco de un ensayo terapéutico. El cerebro aparece normal en estudios clínicos rutinarios mediante imagen por resonancia magnética (MRI) en ELA. Sin embargo, los avances alcanzados en las aplicaciones de MRI han mostrado patrones de cambios funcionales y estructurales en el cerebro (y médula espinal) de pacientes con ELA, aunque se ha realizado en estudios transversales.

En el trabajo presentado en la revista *Brain* el 20 de junio por Menke, de la Universidad de Oxford en Reino Unido, analizan los cambios progresivos y generalizados en la materia gris de pacientes con ELA mediante MRI, en estudios longitudinales que son interesantes debido a la típica y rápida progresión de la discapacidad.

En el trabajo se realizaron a sesenta pacientes con ELA esporádica (sin antecedentes familiares de ELA o demencia) imágenes por resonancia magnética a 3T en condiciones de línea base multimodal. A través del análisis de las imágenes T1 ponderadas utilizando morfometría basada en voxel se identificó la existencia de patologías en la materia gris. Las patologías en la materia blanca se evaluaron mediante el análisis estadístico espacial de los índices derivados de imágenes por tensor de difusión.

Los análisis transversales incluyeron el grupo de comparación junto con un grupo de controles sanos (n = 36) y las correlaciones con las características clínicas, incluyendo la región de

discapacidad, los síntomas clínicos de neurona motora superior y el deterioro cognitivo. A los pacientes se les ofreció 6 seguimientos mensuales con MRI, y el último análisis disponible se utilizó para un análisis longitudinal por separado (n = 27). En el estudio transversal, las características principales de la patología de la materia blanca se confirmaron dentro del cuerpo caloso y del tracto corticoespinal y se relacionó estrechamente con la sobrecarga clínica de la neurona motora, también con la valoración de la capacidad de las extremidades y la tasa de progresión. Sin embargo, no se detectaron alteraciones en la sustancia gris localizadas en una región topográficamente apropiada de la corteza motora izquierda en relación con la discapacidad bulbar, y en el área de Broca y su equivalente en relación con la fluidez verbal.

El análisis longitudinal reveló cambios progresivos y generalizados en la materia gris, especialmente en los ganglios basales. En cambio se encontró una reducida progresión de la patología en la materia blanca, de acuerdo con un cambio reducido y no reconocido previamente en las puntuaciones clínicas de neurona motora superior individuales, a pesar del avance de la discapacidad.

Aunque se encontró un núcleo consistente de la patología en la materia blanca mediante el estudio de secciones transversales, la patología de la materia gris fue predominantemente longitudinal e incluyó la progresión en zonas clínicamente silenciosas tales como los ganglios basales, que se cree que reflejan su conectividad cortical más amplia. Estos cambios fueron significativos en una serie de pacientes con ELA aparentemente esporádica más que en aquellos con un genotipo específico. Estos hallazgos también sugieren que la lesión de la neurona motora superior en la ELA puede ser relativamente constante durante el periodo sintomático establecido.

Estos resultados pueden tener implicaciones importantes para el desarrollo de un diagnóstico eficaz frente a la monitorización terapéutica mediante imagen de resonancia magnética con biomarcadores. Resumiendo, la ELA podría caracterizarse inicialmente por una patología predominante de la materia blanca, evolucionando hacia una degeneración generalizada de la red cortical.

REF: Menke RA, et al. "Widespread grey matter pathology dominates the longitudinal cerebral MRI and clinical landscape of amyotrophic lateral sclerosis". *Brain*. 2014 Jun 20

LOS NIVELES DE TAU EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO PODRÍAN AYUDAR A DIAGNOSTICAR LA ELA

Los niveles de proteína tau en el líquido cefalorraquídeo (LCR) pueden ayudar a distinguir la ELA de otros trastornos con manifestaciones clínicas similares.

Una proporción baja de tau fosforilada respecto a tau total (P/T-tau) en el LCR mostró más de un 90% de sensibilidad y especificidad para la identificación de pacientes con ELA frente a la parálisis supranuclear progresiva y otras tauopatías (4R-tau) en un estudio de 74 personas, de acuerdo con Corey McMillan, PhD, de la Universidad de Pensilvania en Filadelfia y su grupo de colaboradores.

De los 21 participantes con ELA clínicamente diagnosticados, que posteriormente fallecieron y de los que se dispusieron resultados de la autopsia post-mortem del cerebro, se encontró una baja relación P/T-tau indicativa de ELA en 18, según informó McMillan en una sesión de pósteres en la reunión anual de la Academia Americana de Neurología.

En la actualidad, la ELA y las tauopatías se diagnostican a partir de los síntomas clínicos. Sólo un análisis cerebral post-mortem puede confirmar el diagnóstico clínico en el caso de las segundas. El diagnóstico diferencial es más difícil en las etapas iniciales de la enfermedad, cuando los síntomas son más leves y menos específicos.

Además de tener un valor clínico potencial, una prueba de biomarcadores para la ELA podría ser útil en la selección de pacientes para los ensayos clínicos.

La ELA es sólo la última enfermedad para la cual P-tau o la relación P/T-tau en el LCR ha mostrado tener potencial diagnóstico.

En estudios previos se ha demostrado que estos marcadores pueden ser útiles en la predicción o diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, la demencia frontotemporal, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

En este trabajo, McMillan y sus colaboradores - incluyendo Leslie Shaw, PhD, y John Q. Trojanowski, MD, PhD, también de la Universidad de Pensilvania - realizaron punciones lumbares en 51 pacientes, con diagnóstico clínico de ELA y 23 con trastornos 4R-tau. Los pacientes se agruparon por edad y nivel educativo.

El valor medio de P/T-tau en los pacientes con ELA fue de 0,25; frente a 0,34 para el grupo de 4R-tau. La relación fue menor en ambos grupos en comparación con un conjunto de controles sin neurodegeneración, en los que el valor medio fue 0,42. El área bajo la curva ROC para el cociente P/T-tau fue 0,916 para distinguir pacientes con ELA de pacientes con 4R-tau.

Entre los 10 pacientes con imágenes de resonancia magnética e imágenes de exploraciones de tensor de difusión, los valores de P/T-tau se correlacionaron cualitativamente con la anisotropía fraccional observada en las imágenes. Los valores también se correlacionaron con la función cognitiva medida con el Mini Examen del Estado Mental y con las puntuaciones en la Escala de Valoración Funcional de ELA revisada (ALSFRS-r).

McMillan no había calculado los valores predictivos positivos y negativos. Sin embargo, entre los pacientes con manifestaciones clínicas que incluyen la ELA como una posible causa, la prevalencia de ELA es aproximadamente del 50%. Eso haría que el valor predictivo de los resultados de las pruebas sea bastante bueno si se confirman los valores de especificidad y sensibilidad superior al 90% en un estudio más amplio.

Dicho estudio de validación sería el siguiente paso hacia la obtención de una prueba de tau en LCR útil en investigación o como herramienta clínica. Siendo necesario que se llevase a cabo un estudio de este tipo en varios centros, así como la participación de un mayor número de pacientes.

Hay que tener en cuenta que este estudio fue publicado en forma de resumen y se presentó en una conferencia. Estos datos y conclusiones deben ser considerados como preliminares hasta que sean publicadas en una revista evaluada por expertos.

REF: Gever, J. "CSF Tau May Help Diagnose ALS". *MedPage Today*. 29 de Abril de 2014. http://www.medpagetoday.com/MeetingCoverage/AAN/45487?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+104&utm_campaign=Forum+e-newsletter+Vol+104&utm_medium=email

LA VARIANTE p.R47H DE TREM2 COMO FACTOR DE RIESGO PARA LA ELA

La ELA es una enfermedad en la que la microglía juega un papel importante y activo. Si esta activación es una respuesta beneficiosa o perjudicial que contribuye al proceso de la enfermedad sigue sin estar claro.

Existen muchas rutas de señalización que determinan el fenotipo de la microglía, incluidos los complejos formados por TREM2 (OMIM 605086) y TYROBP (OMIM 604142), también conocido como DAP12. Recientemente, se encontró que una variante en el gen TREM2 de la activación microglial aumentaba el riesgo de varias enfermedades neurodegenerativas, incluida la enfermedad de Alzheimer.

Se desconocía si la mutación de sustitución p.R47H en TREM2 es un factor de riesgo para la ELA. En el estudio realizado por Cady de la Facultad de Medicina de la Universidad de Washington y publicado en la revista *JAMA Neurology*, se demuestra que p.R47H es un factor de riesgo para la ELA esporádica observándose un aumento de TREM2 en la médula espinal en pacientes con ELA así como en el modelo de ratón de SOD1 (OMIM 147450) con la mutación p.G93A.

En el estudio realizado se recogieron muestras de ADN de 923 individuos con ELA esporádica y de 1854 individuos sanos blancos no hispanos de clínicas de ELA en EE.UU y se genotiparon para la variante p.R47H en TREM2. Los datos clínicos se obtuvieron en los pacientes con ELA mediante correlaciones genotipo/fenotipo. La expresión de TREM2 se midió mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa y se comparó con muestras de autopsias de médula espinal de 18 pacientes con ELA y 12 controles neurológicamente sanos, así como en ratones de tipo salvaje y transgénicos SOD1 p.G93A.

La variante p.R47H era más frecuente en los pacientes con ELA que en los controles, por lo que puede ser un factor importante de riesgo para la ELA (odds ratio, 2,40, IC 95%, 1.29 a 4.15, $p = 4,1 \times 10^{-3}$). Además, la expresión TREM2 estaba aumentada en las muestras de médula espinal de pacientes ELA y ratones SOD1 p.G93A ($P = 2,8 \times 10^{-4}$ y $P = 2,8 \times 10^{-9}$, respectivamente), lo que confirma que TREM2 se encuentra mal regulada en la enfermedad. Además, la expresión de TREM2 en la médula espinal humana se correlacionó negativamente con la supervivencia ($P = 0,04$), pero no con otros aspectos fenotípicos de la enfermedad.

Se vio anteriormente que la variante p.R47H incrementaba el riesgo de la enfermedad de Alzheimer, con una posterior asociación en la demencia frontotemporal y la enfermedad de Parkinson. Cómo afecta la variante p.R47H a la función de TREM2 y predispone a la neurodegeneración se desconoce. Debido a que la señalización de TREM2 media potencialmente la actividad microglial neuroprotectora (incluidas fagocitosis de células apoptóticas y secreción de citoquinas antiinflamatorias), un modelo que se hipotetiza es que p.R47H es un alelo de pérdida de función. Una inadecuada limpieza del debris celular y una inflamación contraproducente podría predisponer a los síntomas de la enfermedad. La variante se localiza en el dominio intracelular de TREM2, donde podría interferir la unión de ligandos sin identificar o interrumpir la señalización mediante el complejo receptor TYROBP. Debido a que la desregulación de la señalización de TREM2 confiere riesgos para varias enfermedades neurodegenerativas los resultados obtenidos en ELA pueden aplicarse a otras enfermedades y viceversa.

En resumen, en este estudio se demuestra que la variante p.R47H de TREM2 es un potente factor de riesgo en la ELA esporádica. Hasta donde se sabe, estos resultados identifican la primera influencia genética en la neuroinflamación en ELA y resaltan la vía de señalización TREM2 como diana terapéutica en la ELA y otras enfermedades neurodegenerativas.

REF: Cady J, et al. "TREM2 variant p.R47H as a risk factor for sporadic amyotrophic lateral sclerosis." *JAMA Neurol.* 2014 Apr;71(4):449-53.

LOS NIVELES SÉRICOS DE ANGIONENINA SE ENCUENTRAN ELEVADOS EN LA ELA Y NO EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Los ratones que carecen del elemento responsable de hipoxia en el promotor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) desarrollan un fenotipo de reflejos débiles y patológicos que se asemejan a los síntomas de la ELA. En estudios previos se demostró una asociación entre polimorfismos en el promotor de VEGF y ELA en humanos. Además la investigación de otros genes angiogénicos mostró mutaciones en angiogenina (ANG) en pacientes con ELA familiar y esporádica. Un estudio reciente confirmó esta asociación y

también demostró que las mutaciones en ANG predisponen a la enfermedad de Parkinson (EP), descubriendo cómo las mutaciones en ANG conducen a neurodegeneración.

En el estudio publicado por van Es del Brain Center Rudolf Magnus en Utrecht, Países Bajos en mayo en la revista *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry* se comparan los niveles séricos en un gran cohorte de pacientes con ELA y EP.

Se dispusieron de 265 muestras séricas de pacientes con ELA esporádica, procedentes del University Medical Center Utrecht (UMCU) diagnosticados de acuerdo con los criterios revisados del Escorial. 163 muestras séricas procedentes de pacientes con EP del Radboud University Nijmegen Medical Center (RUNMC) diagnosticados de acuerdo con los criterios del Banco de Cerebros de UK. Finalmente se dispusieron de 462 muestras control obtenidas de un estudio sobre ELA nacional.

Los investigadores observaron niveles elevados de ANG en pacientes con ELA comparados con los controles. Sin embargo no se detectaron diferencias entre los pacientes con EP y los controles. Modelos multivariantes que consideraban algunas covariables (edad, sexo e índice de masa corporal) demostraron niveles significativos para los pacientes con ELA ($p=1.74 \times 10^{-3}$), pacientes con ELA de inicio bulbar ($p=0.02$), pacientes de inicio espinal ($p=2.90 \times 10^{-3}$), pero no en pacientes con EP ($p=0.72$). El sexo del individuo fue la única covariable en la que se encontraron diferencias en los niveles ($p=1.90 \times 10^{-3}$). Los niveles de ANG séricas no fueron significativamente superiores en los pacientes con ELA de inicio espinal al compararlos con los de inicio bulbar ($p=0.13$). Los niveles de ANG fueron significativamente superiores en pacientes con ELA comparados con los pacientes con EP ($p=1.29 \times 10^{-4}$). Por último no se encontraron diferencias en los niveles de ANG sobre la supervivencia en la ELA ($p=0.67$).

Se han realizado muchos estudios funcionales que han demostrado que las mutaciones en ANG dan lugar a la pérdida completa de la función de la proteína y también se ha visto que la proteína normal es un factor neuroprotector potente. La proteína ANG está implicada en la transcripción del ADN ribosomal, del metabolismo del ARN, el crecimiento de la neurita y el trazado axonal. Ensayos de supervivencia celular muestran que la proteína normal de ANG es capaz de rescatar células que contienen mutaciones en ANG de

la muerte cuando se ven afectadas por agentes tóxicos, sugiriendo una función neuroprotectora potente. Van Es muestra en este estudio que los niveles de ANG son más altos en pacientes con ELA sin mutaciones en ANG comparándolos con controles sanos. Postulan que los niveles séricos altos de este factor neuroprotector en ELA se deben a un mecanismo compensatorio del sistema motor en respuesta a la degeneración. La pregunta más interesante sería ¿por qué los niveles de ANG séricos se encuentran elevados en ELA pero no en EP, considerando que el gen está implicado en ambas enfermedades? especialmente, considerando que ANG se ha demostrado que es protectora en modelos experimentales de EP. Si de verdad ANG actuase a través de un mecanismo autocrino o paracrino (el factor es producido por una célula y los receptores que captan su señal se encuentran en la misma célula o en células próximas) podría ser razonable asumir que cualquier regulación que aumente ANG en EP podría tener lugar a nivel de los ganglios basales y quizás no se mostrase en el suero. Por lo que sería interesante medir los niveles de ANG en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con EP. Los niveles séricos elevados en ELA podrían reflejar la expansión de la enfermedad (incluyendo también el sistema nervioso periférico). Esto podría explicar los niveles superiores observados en pacientes con ELA espinal comparándolos con los pacientes con ELA bulbar, como una pérdida más generalizada de neuronas motoras en la ELA espinal. El mecanismo exacto a través del cual ANG es neuroprotector no está claro. Se ha sugerido que ANG tiene efectos paracrinos o autocrinos. Aunque, el mecanismo no se conoce completamente, los elevados niveles séricos de este factor neuroprotector se interpretan como un mecanismo compensatorio del sistema motor en respuesta a la neurodegeneración. La ANG podría constituirse en una diana terapéutica interesante.

REF: Van Es, MA et al. "Serum angiogenin levels are elevated in ALS, but not Parkinson's disease". *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014 May 29.

EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE NUEVOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON ELA MUESTRA NIVELES ANORMALES DE ESPECIES DE SELENIO INCLUYENDO UN ELEVADO NIVEL DE SELENITO

Se ha hipotetizado con que la exposición a selenio y en particular a sus formas inorgánicas, constituya un factor de riesgo para la ELA. Además, no se tenía información acerca de los niveles de compuestos inorgánicos y algunos orgánicos de selenio en el sistema nervioso central de pacientes con ELA. Las recientes observaciones sugieren que los biomarcadores periféricos de la exposición son incapaces de predecir estos niveles para varias especies de selenio incluyendo las formas inorgánicas. Utilizando una serie de casos y controles en un hospital de referencia y avanzados métodos para la detección de selenio, se compararon las especies químicas de selenio en el líquido cefalorraquídeo de 38 pacientes con ELA con los de 38 pacientes neurológicos de referencia agrupados por edad y género. Se encontró que las mayores concentraciones de selenio inorgánico en forma de selenito y selenio unido a la albúmina de suero humano se asociaba a un aumento del riesgo de ELA (riesgos relativos 3,9 (intervalo de confianza del 95% 1,2 a 11,0) y 1.7 (1.0-2.9) para 0.1µg / L de incremento). Por otro lado, las concentraciones más bajas de selenio unido a selenoproteína P se asociaban también con un mayor riesgo (riesgo relativo 0.2 para 0.1µg / L de incremento, intervalo de confianza del 95% 0.04 a 0.08).

La asociación fue más fuerte entre los casos de edades de 50 años o más, quienes se supone que tienen menores tasas de origen genético de la enfermedad. Estos resultados sugieren que el exceso de selenito y albúmina de suero humano unido a selenio y bajos niveles de selenio unido a selenoproteína P en el sistema nervioso central, puede estar relacionado, y desempeñar un papel en la etiología de la ELA.

REF: *Vicenti, M. "Cerebrospinal fluid of newly diagnosed amyotrophic lateral sclerosis patients exhibits abnormal levels of selenium species including elevated selenite". Neurotoxicology 2013 septiembre; 38:25-32*

LOS DATOS DE BIOMARCADORES DE UN ENSAYO REALIZADO POR GENERVON APOYAN A UN FÁRMACO COMO TERAPIA PROMETEDORA PARA LA ELA

Genervon Biopharmaceuticals, con sede en Pasadena, California que recientemente completó un ensayo de Fase IIa por su propietaria fármaco candidato GM604 en la ELA, anunció los resultados de los datos de biomarcadores del ensayo.

GM604 es única, ya que se dirige a múltiples vías afectadas por la enfermedad. El fármaco es un péptido regulador que cruza la barrera hematoencefálica y regula diversas vías de desarrollo relacionadas con la inflamación, hipoxia y apoptosis.

La compañía publicó que seis de los ocho biomarcadores monitorizados durante el ensayo sugieren que GM604 está modificando la enfermedad: un biomarcador "objetivo", "dos biomarcadores de eficacia", dos biomarcadores "objetivo / eficacia" y un biomarcador "pronóstico". Las modulaciones de dos de los biomarcadores mostraron ser estadísticamente significativa entre los grupos tratados y placebo. Estos datos son particularmente alentadores teniendo en cuenta que el ensayo clínico fue de corta duración – sólo dos semanas de tratamiento seguido de un período de observación de 10 semanas.

Se espera que estos resultados prometedores en relación con los biomarcadores se reflejen también en los resultados de los datos de los pacientes, para finales de este año. Estos resultados son consistentes con los resultados de los ensayos clínicos que se publicaron anteriormente donde indicaron que 7 de los 8 pacientes con ELA tratados concretos habían reducido o detenido la progresión de la enfermedad si se comparaba con las puntuaciones históricas de la Escala de Calificación Funcional de la ELA (ALSFRS-r) de pacientes concretos con ELA en el transcurso del ensayo.

Genervon cree que GM604 opera respondiendo a señales de socorro de genes afectados y regula los genes bi-direccionalmente a sus rangos de funcionamiento normal, lo que conduce a la homeostasis de los sistemas biológicos afectados. Genervon considera, además, que la eficacia de objetivos múltiples de GM604 lo diferencia de las estrategias de un solo objetivo que no han logrado traducirse en terapias eficaces para los trastornos del sistema nervioso y neurodegenerativos. En 2013, 62 empresas tuvieron un

producto en desarrollo para la ELA. Más de 160 ensayos clínicos en la ELA habían fracasado. Es cada vez más evidente que los fármacos diana exclusiva no pueden curar enfermedades neurológicas. Esto no es sorprendente, dado que la patogenia de estas enfermedades es altamente interactiva y multifactorial, involucrando múltiples objetivos y procesos biológicos. Genervon cree que debido a que GM604 es un péptido endógeno humano que regula el desarrollo neurológico en general en la fase embrionaria, tiene el potencial de modificar las enfermedades neurológicas donde las terapias de un solo objetivo han fracasado.

REF: "Genervon Announces Biomarker Data from GALS-001 Clinical Trial for ALS". *The Wall Street Journal*. 30 de Junio de 2014. <http://www.marketwatch.com/story/genervon-announces-biomarker-data-from-gals-001-clinical-trial-for-als-2014-06-30>

ENSAYOS CLÍNICOS

UN COMPUESTO DE COBRE AUMENTA LA VIDA ÚTIL EN RATONES CON ELA

Se ha determinado que un compuesto de cobre conocido durante décadas puede constituir la base para una terapia para la ELA. En un nuevo estudio publicado en el *Journal of Neuroscience*, científicos de Australia, Estados Unidos (Oregon), y Reino Unido mostraron en pruebas con animales de laboratorio que la ingesta oral de este compuesto extendía significativamente la vida útil y mejoraba la función locomotora de ratones transgénicos diseñados genéticamente para desarrollar esta enfermedad debilitante y mortal. Los investigadores del Instituto Linus Pauling de la Universidad del Estado de Oregón sostienen que este enfoque tiene es importante y que podría tener también valor frente a la enfermedad de Parkinson. La ELA se sabe que está causada por el deterioro y la muerte de las neuronas motoras de la médula espinal en la cual se ha identificado mutaciones en la superóxido dismutasa citosólica, o SOD1. La superóxido dismutasa es un antioxidante cuya función adecuada es esencial para la vida. Cuando SOD1 carece de sus cofactores metá-

licos, se "despliega" y se convierte en tóxica, lo que conduce a la muerte de las neuronas motoras. Los metales de cobre y zinc son importantes por tanto en la estabilización de esta proteína y pueden ayudar a que permanezca plegada más de 200 años.

El daño de ELA se produce principalmente en la médula espinal y este es también uno de los lugares más difíciles del cuerpo para absorber el cobre. El cobre en sí es necesario, pero puede ser también tóxico, por lo que sus niveles están estrechamente controlados en el organismo. Se está trabajando en una terapia en la que se suministre cobre de forma selectiva en las células de la médula espinal que realmente lo necesiten. De lo contrario, el compuesto de cobre se mantiene inerte, constituyendo una manera segura de distribuir este micronutriente.

Al restaurar el equilibrio adecuado de cobre en el cerebro y en la médula espinal, los científicos piensan que se está estabilizando la superóxido dismutasa en su forma madura, al tiempo que mejora la función de las mitocondrias. Esto ha logrado extender la vida de los ratones afectados en un 26 por ciento.

El compuesto se llama cobre (ATSM) y ha sido estudiado para su uso en algunos tratamientos contra el cáncer, siendo relativamente barato de producir.

En este caso, el resultado fue lo contrario de lo esperado, el tratamiento aumentó la cantidad de SOD1 mutante, lo que podría significar que los animales deberían empeorar. Sin embargo estaban mucho mejor, lo cual se podría deber a que se está haciendo una distribución selectiva de cobre sólo para las células que lo necesitan.

Este estudio abre una vía anteriormente desatendida de nueva terapia para la ELA y otras enfermedades neurodegenerativas.

REF: Roberts BR, et al. "Oral treatment with Cu(II) (*atsm*) increases mutant SOD1 in vivo but protects motor neurons and improves the phenotype of a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis". *J Neurosci*. 2014 Jun 4;34(23):8021-31. "Copper Compound Extends ALS Lifespan in Mice". *Bioscience technology*. 13 de Junio de 2014. http://www.biosciencetechnology.com/news/2014/06/copper-compound-extends-als-lifespan-mice?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+106&utm_campaign=106&utm_medium=email

SE HA INSCRITO EL PRIMER PACIENTE EN EL ENSAYO FASE II DE CÉLULAS MADRE EN ELA

BrainStorm Cell Therapeutics (OTCQB: BCLI), empresa líder en tecnologías con células madre adultas en enfermedades neurodegenerativas, anunció el 6 de junio que se ha inscrito el primer paciente en el ensayo Fase II de células madre en ELA en el Massachusetts General Hospital (MGH) de Boston.

El ensayo BrainStorm en Fase II es un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y multicéntrico, diseñado para evaluar la seguridad y eficacia de los trasplantes autólogos de células madre mesenquimales secretoras de factores neurotróficos ("MSC-NTF" o NurOwn™) en 48 pacientes con ELA. El ensayo también se está llevando a cabo en el Hospital de Worcester de la Universidad Comemorativa de Massachusetts (UMass) en Worcester, MA y en la Clínica Mayo en Rochester, Minnesota.

NurOwn es una tecnología de terapia con células madre adultas autólogas que diferencia las células madre mesenquimales de la médula espinal (MSC) en células "MSC-NTF". Una vez diferenciadas, estas células neuronales de apoyo secretan niveles elevados de factores neurotróficos (de crecimiento del nervio), factores de protección de las neuronas motoras existentes, que promueven el crecimiento de las neuronas motoras y el restablecimiento de la interacción nervio-músculo. La capacidad para diferenciar las células madre mesenquimales en células MSC-NTF y la confirmación de su actividad y la potencia antes del trasplante, hace de NurOwn la primera en su campo, enfocado en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

BrainStorm Cell Therapeutics Inc. es la compañía biotecnológica que posee los derechos para desarrollar y comercializar su tecnología NurOwn a través de un acuerdo de licencia en exclusiva a nivel mundial con Ramot, la compañía de transferencia de tecnología de la Universidad de Tel Aviv.

REF: "First Patient Enrolled in BrainStorm's Phase II ALS Trial at Massachusetts General Hospital". BrainStorm. 6 de Junio de 2014. <http://www.brainstorm-cell.com/index.php/news-a-events/304-june-6-2014>

GENERVON COMPLETA CON ÉXITO LA FASE IIA DEL ENSAYO CLÍNICO PARA LA ELA

Genervon Biopharmaceuticals LLC ("Genervon") anunció el 28 de Abril que ha completado con éxito la Fase IIa del ensayo clínico para la ELA. El análisis de los resultados del ensayo se espera que se finalicen en el tercer trimestre de 2014, aunque los datos preliminares sugieren que GM604, fármaco candidato con múltiples dianas biológicas propiedad de Genervon son prometedores para el tratamiento de la ELA.

El ensayo aleatorio y doble ciego, se realizó en dos emplazamientos con seis pacientes participantes en cada sitio. Cada paciente recibió seis dosis intravenosas de GM604 (ocho pacientes) o placebo (cuatro pacientes) durante dos semanas y fueron evaluados tres veces durante las siguientes diez semanas. Se utilizaron como instrumentos de medición: la escala de calificación funcional revisada de la ELA (ALSFRS-r), la prueba cronometrada Time up and Go (TUG) y la capacidad vital forzada (CVF).

De acuerdo con los datos preliminares, durante las diez semanas siguientes a la finalización de la administración sin tratamiento posterior, las medidas clínicas de los índices de degradación de la enfermedad de la ELA se habían retardado o parado en siete de los ocho pacientes tratados. La información adicional sobre el ensayo está disponible bajo petición y el análisis final de los datos preliminares se presentará a lo largo de este año. Hasta entonces Genervon estará planificando el siguiente ensayo para GM604. GM604 también ha recibido la calificación de medicamento huérfano con indicación para la ELA por la FDA (Administración Americana del alimento y del medicamento) por vía rápida. Genervon tiene la intención de asociarse con una o más compañías farmacéuticas relacionadas con esta iniciativa. Las conversaciones con los futuros socios candidatos tuvieron lugar en la Convención de la Academia Americana de Neurología en Philadelphia del 20 de Abril al 3 de Mayo, las compañías asociadas interesadas estuvieron animadas para contactar con Genervon en un debate programado. Genervon es una empresa biofarmacéuti-

ca de ensayos clínicos de capital privado de California que desarrolla avances en fármacos biológicos con múltiples dianas dirigidas hacia necesidades médicas importantes no cubiertas en el mundo.

REF: "Genervon Successfully Completes its Phase 2^a Clinical Trial for ALS". Genervon. Press Releases. 28 de Abril de 2014. http://www.genervon.com/genervon/about_pressreleases.php?utm_source=contactology&utm_medium=email&utm_campaign=May2014MonthlyUpdate

CIENTÍFICOS DE HARVARD DESCUBREN UN TRATAMIENTO POTENCIAL PARA LA ELA BASADO EN CÉLULAS MADRE

Científicos de Harvard que trabajan con células madre han descubierto que un medicamento aprobado recientemente para la epilepsia, podría ser posiblemente un tratamiento plausible para la ELA. Los investigadores están ahora colaborando con el Hospital General de Massachusetts para diseñar un ensayo clínico iniciático que pruebe la seguridad del tratamiento en pacientes con ELA.

Todos los investigadores advierten de que se necesita hacer una gran cantidad de pruebas para garantizar la seguridad y la eficacia del tratamiento en pacientes con ELA, antes de que los médicos empiecen a ofrecerlo.

El hallazgo, publicado el 3 de abril en dos artículos relacionados en las ediciones online de Cell Stem Cell y Cell Reports, es el fruto a largo plazo de los estudios realizados por Kevin Eggan del Instituto de Células Madre (HSCI) de la Universidad de Harvard, quien en un artículo de Science 2008, planteó por primera vez la posibilidad de utilizar células madre procedentes de pacientes con ELA para entender mejor la enfermedad e identificar dianas terapéuticas para nuevos fármacos.

Ahora Eggan y su colaborador Wolf también del HSCI, han encontrado que muchas de las mutaciones independientes que causan ELA pueden estar relacionadas por su capacidad para iniciar una actividad anormalmente alta en las neuronas motoras. Empleando neuronas derivadas de células madre obtenidas a partir células de la piel de pacientes con ELA, los dos equipos de investigación llevaron a cabo los ensayos clínicos de un medicamento contra la epilepsia en neuronas en placas de laboratorio, encontrando que reduce la hiperexcitabilidad de las células.

La ELA supone una degradación devastadora y actualmente intratable de las neuronas motoras, con largas células nerviosas que conectan la médula espinal con los músculos del cuerpo. Aunque varios tratamientos potenciales parecían prometedores en ratones, sin embargo resultaron decepcionantes en la clínica.

El gran problema en la ELA es que existen más de un centenar de mutaciones en docenas de genes y todas causan la enfermedad, pero casi todos los productos terapéuticos que han salido adelante en la clínica lo han hecho por una de esas mutaciones, SOD1, que es la que casi todo el mundo estudia en ratones.

La cuestión clave era que realmente querían redirigir los esfuerzos clínicos que estaban fallando porque o el ratón nos está llevando a una búsqueda inútil o simplemente porque la gente no había tenido la oportunidad de comprobar la validez de sus ideas a través de otras formas de ELA.

En el artículo de Cell Stem Cell, dirigieron una iniciativa para obtener líneas de células madre a partir de dos mujeres con ELA con mutaciones SOD1 y comparar de este modo la biología humana y la biología del ratón. Usando una tecnología llamada secuenciación de ARN vieron cómo la mutación cambia la expresión génica en estas líneas, a continuación los investigadores rastrearon los cambios y su impacto en algunas rutas biológicas.

Encontraron que la mutación provoca cambios en las neuronas motoras, que no son tan diferentes de los cambios que se ven en los ratones. Si bien existe definitivamente alguna especificidad humana, lo visto en ratones no era totalmente erróneo.

A continuación, se obtuvieron más células madre de las neuronas motoras derivadas de pacientes con otras formas de ELA, así como de personas sin la enfermedad, para ver qué cambios se producen en las células de ELA y si éstos estaban presentes a través de mutaciones genéticas independientes.

El sorprendente resultado, publicado en Cell Reports, fue que las neuronas motoras que presentaban mutaciones en ELA tuvieron un aumento esporádico de la señal que emite la neurona motora mientras las neuronas sanas estaban "tranquilas" o menos estimuladas. Se examinó la hiperexcitabilidad en la ELA encontrándose una relación cíclica entre el aumento de la actividad neuronal y el plegamiento anormal de proteínas. En las dos publicaciones, se describe cómo las neuronas de ELA sobreexcitadas generan más proteínas anormalmente

plegadas, lo que aumenta aún más su excitabilidad. El estrés de este proceso parece poner a las neuronas en un estado vulnerable y por eso son más propensas a morir.

La convergencia en un único mecanismo ofrece un lugar muy atractivo para intervenir terapéuticamente. Parecía como si hubiera un déficit en los canales de potasio en las neuronas motoras de ELA que les llevó a probar si los medicamentos que abren los canales de potasio podían reducir la hiperexcitabilidad y de hecho eso fue exactamente lo que encontraron. Hallaron que la retigabina, recientemente aprobada como un anticonvulsivo, normalizó esta actividad, de modo que ahora podían ir formalmente del laboratorio al paciente y de hecho, explorar si el fármaco pudiera tener algún efecto beneficioso. La neuróloga Merit Cudkowicz del Hospital General de Massachusetts junto con Wainger de la Escuela de Medicina de Harvard, van a desarrollar los ensayos clínicos, lo primero será probar los efectos secundarios cuando se administra el medicamento en pacientes con ELA. Los investigadores advierten en contra de que los médicos receten este medicamento a pacientes de inmediato. Los ensayos clínicos son necesarios para determinar si existe alguna interacción inusual entre el fármaco y las personas que tienen ELA, puesto que tener una enfermedad en particular puede provocar que alguien sea más sensible a ciertos tipos de medicamentos.

El sistema nervioso es más complicado que las células que tenemos en la placa en cultivo en el laboratorio. Y ahora el siguiente paso es decir si el medicamento será útil en ese contexto y es demasiado pronto para decirlo con seguridad. Los científicos confían en la tecnologías emergentes y la colaboración única entre laboratorios que trabajen con células madre y laboratorios de fisiología de la neurona como una parte esencial para llevar a cabo esta investigación clínicamente relevante para los pacientes con ELA. Es el comienzo de un cambio completo en la forma de hacer medicina para enfermedades graves como ésta. En un ensayo clínico tradicional, se le da al paciente el placebo o un ingrediente activo para ver los efectos que tienen.

REF: Kiskinis E, et al. "Pathways Disrupted in Human ALS Motor Neurons Identified through Genetic Correction of Mutant SOD1." *Cell Stem Cell*. 2014 Apr 3. Wainger BJ, et al. "Intrinsic membrane hyperexcitability of amyotrophic lateral sclerosis patient-derived motor neurons." *Cell Rep*. 2014 Apr 10;7(1):1-11.

CYTOKINETICS ANUNCIA RESULTADOS DEL ENSAYO FASE IIB DE TIRASEMTIV EN ELA

El 25 de abril Cytokinetics anunció los resultados del ensayo clínico BENEFIT-ALS (estudio doble ciego de los efectos neuromusculares y mejora funcional con tirasemtiv en la ELA). En un segundo comunicado de prensa anunciado el 29 de abril, se proporcionaron más datos que sugieren un impacto potencial del fármaco sobre la capacidad vital lenta (SVC), una medida clave de la capacidad respiratoria. De acuerdo con el comunicado, el ensayo BENEFIT no logró su objetivo principal de eficacia. La eficacia es una medida del efecto que tiene el medicamento para retardar o detener la progresión de la enfermedad, cuantificada mediante la escala ALSFRS-r. De acuerdo con la información del comunicado de prensa, la diferencia entre las tasas de progresión de los pacientes que tomaban tirasemtiv y los que tomaban placebo no alcanzó significación estadística. En este mismo comunicado se notificó que hubo resultados contradictorios sobre el análisis del efecto de tirasemtiv sobre la función respiratoria y otras medidas de función muscular. Sin embargo, la función respiratoria se midió en el ensayo de varias maneras, incluyendo la presión inspiratoria nasal (SNIP) y la medición de la capacidad vital lenta (SVC).

En el segundo comunicado de prensa del 29 de abril 2014, Cytokinetics proporciona un análisis detallado con medidas adicionales que sugieren que el ensayo puede haber sido el primero en demostrar un efecto estadísticamente significativo sobre la capacidad vital lenta.

Los resultados detallados se presentaron durante la 66ª Reunión Anual de la Academia Americana de Neurología (AAN) el 29 de abril en el Centro de Convenciones de Pennsylvania en Filadelfia. El 30 de abril también hubo una recepción para las asociaciones de pacientes. Además el Dr. Jeremy Shefner, neurólogo de la Universidad Estatal de Nueva York e investigador principal del estudio, dio un seminario para analizar los resultados del estudio BENEFIT en mayo.

El ensayo clínico de fase IIB de tirasemtiv incluyó a más de 700 pacientes de ELA en todo el mundo. Más de 400 en EE.UU., 100 en Canadá y el resto en países europeos como el Reino Unido, España (Unidad de ELA del Hospital Carlos III en Madrid), Francia y los Países

Bajos. 605 pacientes de ELA fueron aleatorizados en el ensayo clínico doble ciego controlado con placebo de 12 semanas de duración. 116 de estos pacientes que estaban en el grupo control recibieron inadvertidamente compuesto activo a mitad del ensayo y se eliminaron del análisis de resultados. Este error fue el resultado de un problema de gestión del ensayo y Cytokinetics se hizo responsable, reclutando pacientes adicionales para garantizar un número suficiente de participantes incluidos y evaluar con seguridad los posibles beneficios del fármaco.

Durante una presentación realizada por el Dr. Jeremy Shefner en una conferencia en Milán en 2013, se informó de que los efectos secundarios más comunes del tirasemtiv como mareos, fatiga o náuseas se producían durante la primera semana de tratamiento. En el comunicado, se sugirió que algunos efectos adversos graves (SAE) reportados pueden haber desempeñado un papel en la falta de significación estadística del ensayo.

La primera semana del estudio fue abierta (todas las personas tomaron el compuesto activo) con el fin de probar la tolerancia al fármaco. Al menos de 100 pacientes fueron eliminados del estudio después de la fase abierta, ya que no fueron capaces de tolerar una dosis de 250 mg al día. Según el Dr. Shefner esto se hizo para intentar reducir los abandonos después de la asignación de tratamiento y para ayudar a asegurar que el estudio permaneciese ciego durante toda su duración. Afortunadamente la mayoría de los pacientes fueron capaces de mantener la dosis máxima en el estudio, que fue de 500 mg al día. Robert I. Blum, presidente y consejero delegado de Cytokinetics, dijo: "Los resultados del estudio BENEFIT se están poniendo actualmente a disposición de nuestro equipo en Cytokinetics y se compartirán con más detalle en los próximos días con la comunidad científica y médica involucrada con la investigación en ELA. La comprensión de estos resultados necesitará una revisión significativa. Una vez que hayamos evaluado completamente los datos de BENEFIT, esperamos determinar si existe una vía para el desarrollo potencial de tirasemtiv para el tratamiento de la ELA y cuáles podrían ser los próximos pasos a seguir".

REF: "Cytokinetics Announces Top-Line Results from Phase IIB Trial of Tirasemtiv in ALS". *ALSTDI*. 29 de Abril de 2014

http://www.als.net/Media/5456/News/?utm_source=contactology&utm_medium=email&utm_campaign=May2014MonthlyUpdate

INVESTIGACIÓN BÁSICA

FASES DE LA PATOLOGÍA DE PTDP-43 EN LA ELA

ELA es la enfermedad de neurona motora más frecuente de inicio en la madurez. La proteína de unión a ADN TAR fosforilada de 43KDa (pTDP-43) se identificó como el principal componente de inclusiones neuronales positivas para ubiquitina en la ELA esporádica y la mayor parte de los pacientes con demencia del lóbulo frontotemporal (DLFT), ahora referida como DLFT-TDP.

La progresiva acumulación de agregados de proteínas similares se considera actualmente como un rasgo característico de muchas enfermedades neurodegenerativas. Además, muchas enfermedades muestran un característico patrón de propagación de la patología subyacente a lo largo de regiones específicas del cerebro con la progresión de la enfermedad. La detección del patrón de distribución específico de la patología pTDP-43 podría ayudar a proporcionar un sistema de clasificación para estandarizar la descripción neuropatológica de pTDP-43 en ELA y podría constituir el principal paso para aclarar los mecanismos de progresión de la enfermedad y la vulnerabilidad neuronal en ELA.

El trabajo publicado por Brettschneider en la revista *Annals of Neurology* en Julio de 2013 presentan las primeras evidencias de una progresión secuencial de la patología pTDP-43 en 4 fases en una gran cohorte transversal de autopsias de casos de ELA fenotípicamente bien definidas. Las tinciones inmunohistoquímicas de pTDP-43 realizadas en secciones de 70µm de autopsias de 76 pacientes clasificados mediante su fondo genético y fenotípico, mostraron los resultados que se describen a continuación.

Los casos de ELA con la menor carga de pTDP-43 se caracterizaron por lesiones en la corteza motora agranular, los núcleos motores del tronco encefálico de los nervios motores V, VII, y X-XII y las neuronas motoras de la médula espinal (fase 1). El aumento de la carga mostraba la participación del neocórtex prefrontal (gyrus frontal medio), la formación reticular del tronco encefálico, el núcleo precerebelar, y el núcleo rojo (fase 2). En una fase 3, la patología pTDP43 implicaría al prefrontal (gyrus recto y gyri orbital) y al neocór-

tex postcentral y estriado. Los casos con la mayor carga de lesiones pTDP-43 mostrarían inclusiones pTDP-43 en la parte anteromedial del lóbulo temporal, incluido el hipocampo (fase 4). En todas las fases, estas lesiones se acompañaron por agregados oligodendrogliales de pTDP-43.

Diez casos con la expansión de la repetición de *C9orf72* mostraron el mismo patrón secuencial de propagación que aquellos sin la expansión pero con una mayor carga regional de lesiones, indicando una diseminación más fulminante de la patología pTDP-43. Estos datos hacen posible especular que los genotipos de ELA, como la expansión de la repetición del hexanucleótido en *C9orf72*, sean capaces de modificar la propagación potencial de neurona a neurona de pTDP-43.

Aunque este estudio proporciona los datos neurológicos en una gran cohorte que indica que los agregados de pTDP-43 se diseminan de una manera secuencial en ELA, los mecanismos del proceso patológico están lejos de aclararse. Los agregados de proteínas mal plegadas podrían inducir un proceso de auto-perpetuación que conduciría a la amplificación y propagación de las proteínas patológicas ensambladas. Se ha encontrado en un número en aumento de enfermedades neurodegenerativas que se extienden mediante mecanismos "similares a priones". Además, a pesar de que los datos indican que pTDP-43 podría diseminarse de una región a la siguiente, los sustratos bioquímicos de este proceso deberán ser hallados y explicados en estudios futuros.

REF: Brettschneider, J. "Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis". *Ann Neurol*. 2013 Jul;74(1):20-38.

MAM: PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA ELA ROMPEN LAS UNIONES MITOCONDRIA-RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

La proteína TDP-43 relacionada con la ELA podría ejercer su efecto tóxico desacoplando las mitocondrias y el retículo endoplásmico (RE), de acuerdo con un artículo publicado el 3 de junio en *Nature Communications*. Cuando estos dos orgánulos se encuentran, se forman estructuras llamadas membranas mitocondriales asociadas a retículo endoplásmico, también conocidas como MAM. Los científicos

del King College de Londres publicaron que la proteína TDP-43 puede interrumpir esa interacción. El autor principal, Christopher Miller y sus colaboradores lo descubrieron, cuando estaban realizando el seguimiento de resultados anteriores sobre la proteína-B de membrana asociada a vesículas (VAPB), otra proteína relacionada con la ELA, donde vieron que abandona el retículo endoplásmico para dirigirse a las mitocondrias. Los autores postulan que las alteraciones en MAM podrían explicar muchos cambios celulares en la ELA, incluyendo la alteración de la homeostasis del calcio y las alteraciones en la función mitocondrial.

Cuando el RE y las membranas mitocondriales se juntan, construyen puentes transitorios, los MAM. Los investigadores saben poco acerca de esta asociación, pero MAM pueden tener por lo menos dos funciones importantes. Por un lado, controlan los niveles de calcio a medida de que los iones se trasladan desde el RE a las mitocondrias. Por otra parte, reciben el colesterol y fosfolípidos sintetizados. El grupo de Miller publicó anteriormente que VAPB en el RE interacciona con una proteína mitocondrial, la proteína 51 que interactúa con proteínas tirosina quinasas (PTPIP51).

Las mutaciones en VAPB causan la ELA y los autores demostraron en su trabajo anterior que una de sus variantes se une más estrechamente que la de tipo salvaje a PTPIP51. Como VAPB, TDP-43 contribuye a la ELA, volviendo a las mitocondrias estructuralmente anormales e interfiriendo con las vías de señalización del RE. ¿Podría TDP-43 actuar a través de MAM, de la misma manera?

Para averiguarlo, expresaron el tipo salvaje y mutante de TDP-43 en cultivos de neuronas motoras de ratón NSC-34. Normalmente, alrededor del 12 por ciento de las membranas mitocondriales se asocian al RE en las MAMs. Tanto la proteína TDP-43 de tipo salvaje como la mutante redujeron esta fracción en un tercio o más. Lo mismo ocurrió en un modelo de ratón que expresaba el tipo salvaje de TDP-43 humana; el porcentaje de las membranas mitocondriales en los MAM colindantes era aproximadamente la mitad que en la camada de ratones no transgénicos.

El uso de técnicas de co-inmunoprecipitación mostraron que la expresión de TDP43 reducía la unión de VAPB a PTPIP51 en las células NSC-34 y en la médula espinal de los ratones modelo. Sin embargo, la TDP-43 no coimmunoprecipitaba con VAPB o PTPIP51. Los autores concluyeron que TDP-43 debía con-

trolar su interacción de forma remota. Recientemente, se publicó que TDP-43 activa la quinasa glucógeno sintasa 3 β (GSK-3 β), por lo que se hipotetizó que esta enzima podría ser el enlace. El tratamiento de las células con inhibidores de GSK-3 β aumentó la cantidad de coimmunoprecipitado PTPIP51 y VAPB, mientras que la sobreexpresión de GSK-3 β la disminuía. Por lo tanto, la TDP-43 activa GSK-3 β y GSK-3 β regula la interacción VAPB-PTPIP5. Los autores afirman que la TDP-43 patogénica podría dañar los MAM, aunque los pasos no se entiendan bien todavía. Otros investigadores han encontrado que la inhibición de GSK-3 protege las neuronas de ratón de los efectos negativos de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) en la ELA.

Exactamente cómo TDP-43 influye en la ELA, la enfermedad de Alzheimer y la demencia frontotemporal son una fuente de investigación. La proteína se ha visto colocalizada con el orgánulo. Sin embargo, si TDP-43 regulase la asociación de las mitocondrias y el RE a través de la activación de GSK-3 β , entonces TDP-43 podría no estar asociada físicamente de forma necesaria con estos orgánulos para regular esta vía.

Por otro lado, debido a que los MAM regulan la homeostasis del calcio, TDP-43 podría alterar los niveles de calcio en la mitocondria y el citosol. Utilizando un medicamento desencadenaron la liberación de calcio desde el RE en células de riñón embrionario humano HEK293 y probaron si un transgén de TDP-43 influía en la respuesta. Los cultivos que expresan TDP-43 contenían ligeramente más calcio citosólico y menos mitocondrial que las células control. De hecho, Miller y sus colegas sugieren que la interrupción de los MAM podría dar lugar a una serie de problemas vistos en las neuronas de ELA, incluyendo la homeostasis del calcio alterada, así como el daño mitocondrial, disminución de la síntesis de ATP y la activación inapropiada de la respuesta a proteínas mal plegadas en el RE.

No está claro como puede contribuir esta vía a la patogénesis de la enfermedad pero vale la pena explorarla en el futuro y ver si existen evidencias de la disminución de la asociación mitocondrias-RE en las células del paciente. La ELA podría no ser la única enfermedad neurodegenerativa donde existe desequilibrio en las MAM. En el caso de la enfermedad de Alzheimer, se ha publicado que la presenilina 1 y 2 se encuentra en las MAM, y la γ -secretasa actúa también allí. Además,

descubrieron que una función de MAM – la síntesis de éster de colesterol y fosfolípidos – se encontraba muy activa en los fibroblastos de las personas con la enfermedad de Alzheimer. Existen indicios que apuntan a MAM en el Parkinson, donde la α -sinucleína localiza a estos puntos de contacto entre orgánulos. Y hay evidencias de que MAM podrían colaborar en la demencia frontotemporal, la atrofia muscular espinal, y la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth. Los MAM sigue siendo un territorio inexplorado, cuya importancia se subestima enormemente.

REF: Stoica, R et al. "ER-mitochondria associations are regulated by the VAPB-PTPIP51 interaction and are disrupted by ALS/FTD-associated TDP-43". *Nat Commun.* 2014 Jun 3;5:3996.

LAS NEURONAS Y LAS CÉLULAS CANCEROSAS COMPARTEN TÁCTICAS DE SUPERVIVENCIA

¿Cómo perduran las neuronas durante la vida de un organismo? En la revista *Science Signaling*, del 15 de julio un grupo de investigadores dirigidos por Mohanish Deshmukh de la Universidad de Carolina del Norte, en Chapel Hill, publicaron que estas células pueden resistir los daños que causan otras células que se suicidan. Los investigadores identificaron una proteína citoplasmática similar a parkin (PARC) como un factor de supervivencia que protege a las neuronas mediante la activación de la degradación del citocromo c (Cyt C). Normalmente este componente de la cadena respiratoria activa la muerte celular por apoptosis cuando se escapa de las mitocondrias al citoplasma. Curiosamente, los autores encontraron que las células cancerosas también utilizan PARC para evitar la apoptosis. Las neuronas desarrollaron este mecanismo para promover su supervivencia y las células cancerosas lo utilizan.

Las mitocondrias son las fábricas de energía de la célula. Cuando se rompen bajo estrés celular extremo, el citocromo c libre se une al factor activador de la proteasa apoptótica 1 (Apaf-1), que forma un "apoptosoma" que luego activa caspasas. Estas enzimas cortan proteínas celulares, lo que lleva a la muerte celular. Deshmukh y sus colaboradores mostraron previamente que las neuronas podían sobrevivir incluso después de la liberación del

Cyt c - las mitocondrias pueden recuperarse y la célula seguir funcionando. En parte, las neuronas hacen esto mediante la inhibición de las caspasas. También mantienen el Cyt c inactivo mediante el mantenimiento de un estado reducido.

Deshmukh se preguntó qué ocurría con el Cyt c que inunda las neuronas dañadas. Para investigarlo, el primer autor Vivian Gama estresó mitocondrias en las células cultivadas utilizando varios métodos, incluyendo agonistas de muerte celular, inanición, irradiación y la toxina estaurosporina. En fibroblastos de ratón, el Cyt c se acumuló. Sin embargo, en las neuronas simpáticas de ratón, así como en otras células postmitóticas como cardiomiocitos, los niveles de Cyt c fueron indetectables. Eso cambió cuando los autores bloquearon la actividad del proteasoma, un orgánulo en forma de tubo que degrada proteínas. Cyt c aumenta entonces en el citoplasma, lo que indica que el proteasoma elimina normalmente esta proteína de las neuronas.

Los proteasomas digieren sólo las proteínas que están etiquetadas con un péptido de ubiquitina, que se añade por una ligasa E3. Para encontrar el que etiqueta al Cyt c, los autores revisaron una biblioteca de siRNA de ligasas E3 humanas. Agregaron los siRNAs a células estresadas para eliminar cada ligasa sucesivamente, y buscaron un aumento de Cyt c, lo que indicaría un fracaso para degradar la proteína. Sólo los knockdown de PARC aumentaban los niveles de Cyt c. PARC, que también se conoce como Cullin-9 (CUL9), pertenece a la misma familia que parkin y es la ligasa E3 que marca las mitocondrias dañadas para su destrucción y que está genéticamente vinculada a la enfermedad de Parkinson. Las mutaciones en PARC no se han relacionado con el Parkinson o el Alzheimer, pero las posibles asociaciones con la ELA sí se han indicado en ALSGene. Curiosamente, la alteración en la función mitocondrial es una característica de la ELA. Deshmukh y sus colegas encontraron que las neuronas y otras células postmitóticas contienen altos niveles de PARC.

¿PARC interactúa directamente con Cyt c? Las dos proteínas inmunoprecipitan juntas, lo que sugiere que forman un complejo. In vitro, PARC añadió ubiquitina a una proteína recombinante de Cyt c. En cultivos celulares con PARC knockdown o suprimido se produce la acumulación de Cyt c después del daño mitocondrial en varios tipos de células postmitóticas. Además, las neuronas de ratones

knockout para PARC eran más vulnerables al estrés que las neuronas de tipo normal. Mientras que las neuronas de tipo salvaje se recuperaron tras 18 horas de privación del factor de crecimiento, las células knockout murieron. A la inversa, varias células en división que sobreexpresaban PARC bajaron los niveles de Cyt c y mejoraron su supervivencia después del estrés.

¿Qué ocurre con las células cancerosas, que resisten también a la apoptosis? Líneas celulares de neuroblastoma y glioblastoma igualmente mantienen niveles bajos de Cyt c en situaciones de estrés. Mientras los niveles de PARC no son particularmente altos en estas líneas, bloqueando la enzima se provoca el aumento de Cyt c en células estresadas, muriendo más células. Los resultados sugieren que las células cancerosas utilizan el mismo mecanismo que las neuronas para eludir la muerte. En los trabajos en curso, se está examinando si los cánceres de cerebro son más sensibles a la quimioterapia en ratones knockout PARC en comparación con los normales. Algunos estudios epidemiológicos han encontrado una correlación inversa entre el cáncer y la neurodegeneración, que se ha atribuido a las diferencias genéticas en las vías de supervivencia. Estos datos sugieren que si se es genéticamente más resistente a la apoptosis, tus neuronas estarán mejor protegidas, pero también podrán estar predispuestos a contraer cáncer.

Los resultados constituyen un avance en la comprensión de las vías de muerte celular. Los hallazgos de este estudio complementan la riqueza de datos que relacionan la regulación de la muerte celular y la supervivencia por el sistema ubiquitina-proteasoma. Por otra parte, los autores identifican al Cyt c como primer sustrato conocido de la ubiquitina ligasa PARC/CUL9.

Los datos sugieren que la inhibición de PARC podría constituir una diana terapéutica para el tratamiento del cáncer. PARC también silencia la apoptosis mediante el anclaje del supresor tumoral p53 en el citoplasma, impidiendo que viaje al núcleo y active la muerte celular. Por esa razón, las compañías farmacéuticas quieren inhibir PARC en las células cancerosas. Estos datos proporcionan de hecho una razón más para hacerlo.

No está tan claro cómo dirigirse hacia PARC para mejorar la supervivencia neuronal. PARC contiene un segundo dominio activo además de su ligasa E3. Se trata de un dominio

cullin, que actúa como matriz para reclutar ligasas E2 que también pueden ubiquitinar proteínas. ¿Qué actividad mediaría la degradación de Cyt c?

Mientras tanto, Deshmukh piensa que PARC podría ser útil para el estudio del Parkinson. Knockouts de Parkin han sido decepcionantes como modelos de EP porque no reproducen todos los síntomas de la enfermedad. A pesar de ello, Parkin y PARC pueden actuar de manera complementaria, ya que el primero ayuda a destruir las mitocondrias dañadas y el objetivo del último es una proteína mitocondrial. Crean que la anulación de ambas podría crear un modelo mejor, porque entonces las neuronas no tendrían capacidad para hacer frente a las mitocondrias dañadas.

REF: Gama V, et al. "The E3 ligase PARC mediates the degradation of cytosolic cytochrome c to promote survival in neurons and cancer cells". *Sci Signal*. 2014 Jul 15;7(334):ra67.

CÉLULAS QUE SE HAN DEJADO PASAR POR ALTO POSEEN LA CLAVE PARA LA ORGANIZACIÓN DEL CEREBRO Y LAS ENFERMEDADES

Los científicos que estudian las enfermedades del cerebro pueden tener que ver más allá de las células nerviosas y empezar a prestar atención a las células en forma de estrella, conocidas como "astrocitos," debido a que desempeñan papeles especializados en el desarrollo y mantenimiento de los circuitos nerviosos y pueden contribuir a una amplia gama de trastornos, de acuerdo con un nuevo estudio realizado por investigadores de la Universidad de California en San Francisco. En el estudio publicado online el 28 de abril 2014 en *Nature*, los investigadores mostraron que el mal funcionamiento de los astrocitos podrían contribuir a los trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Lou Gehrig (ELA) y tal vez incluso a algunos trastornos del desarrollo como el autismo y la esquizofrenia.

David Rowitch, MD, PhD, profesor de pediatría y neurocirugía de la Universidad de California en San Francisco (UCSF) y una investigadora del Instituto Médico Howard Hughes, dirigieron la investigación.

Descubrieron en ratones que una forma particular de astrocito dentro de la médula

espinal segrega una proteína necesaria para la supervivencia de los circuitos nerviosos que controlan los movimientos reflexivos. Este descubrimiento es la primera demostración de que existen diferentes tipos de astrocitos para apoyar el desarrollo y la supervivencia de los distintos circuitos nerviosos en lugares específicos del sistema nervioso central.

Los astrocitos superan enormemente en número a las neuronas que conducen señales y constituyen la mayoría de las células que forman el cerebro. Pero los neurocientíficos están acostumbrados a apreciar sólo el dulce cuando se trata de astrocitos – consideran a todos similares a pesar de sus diferentes ubicaciones en el cerebro y en la médula espinal – a partir de ahora tendrán que imaginar "31 sabores" o más.

Incluso podría haber cientos de variedades distintas de astrocitos realizando funciones específicas en diferentes ubicaciones, de acuerdo con Rowitch, jefe de neonatología de la UCSF Hospital Infantil Benioff de San Francisco.

"Nuestro estudio muestra las funciones que desempeñan los astrocitos especializados para apoyar a determinados tipos de neuronas en su entorno", comentó Rowitch.

Dirigidos por la becaria postdoctoral Anna Molofsky, PhD, del laboratorio de Rowitch los investigadores estudiaron el circuito motor-sensor de la médula espinal, que permite a los ratones y seres humanos a reaccionar sin pensar – a sacudirse una extremidad alejándola de algo caliente, por ejemplo.

El equipo descubrió que una proteína llamada Sema3a es producida mucho más abundantemente por los astrocitos cerca de las neuronas motoras que por los astrocitos procedentes de otras regiones de la médula espinal. Llegaron a la conclusión de que las neuronas motoras requieren esta fuente de Sema3a procedente de los astrocitos locales, porque cuando se bloqueó la producción Sema3a, las neuronas motoras no lograron formar conexiones normales y la mitad de ellas murieron.

Las neuronas motoras también mueren en la ELA y en la Atrofia Muscular Espinal, una enfermedad que puede afectar a recién nacidos. Anteriormente, en estudios preliminares, la comunidad científica ya había descubierto que los astrocitos anormales pueden tener efectos tóxicos sobre las neuronas motoras.

Molofsky es un psiquiatra que estudia cómo los astrocitos organizan circuitos nerviosos

y cómo las interrupciones de estos circuitos nerviosos durante el desarrollo o la enfermedad pueden incluir la función de los astrocitos anormales. Se cree que las interrupciones de los circuitos neuronales son responsables de ciertos trastornos psiquiátricos.

“Las consecuencias inmediatas de este estudio son para las enfermedades de la neurona motora, como la ELA, pero creo que nuestros hallazgos también podrían aplicarse de manera más general a las enfermedades de la formación del circuito neural en el cerebro, como el autismo, la esquizofrenia y la epilepsia”, dijo Molofsky. “Para lograr una comprensión completa de cómo se forma y se mantienen los circuitos neuronales, parece importante que integremos el conocimiento de cómo los astrocitos apoyan ese proceso”.

Rowitch está de acuerdo: “En la medida en que la enfermedad psiquiátrica o neurológica se localiza en una parte específica del cerebro, se debería considerar ahora el tipo de astrocito especializado que regula las conexiones nerviosas en esa región y sus contribuciones a la enfermedad”.

REF: Molofsky, AV. “Astrocyte-encoded positional cues maintain sensorimotor circuit integrity”. *Nature*. 2014 May 8;509(7499):189-94.

DESPUÉS DEL DAÑO EN EL ADN, LA FOSFORILACIÓN DE FUS ENVÍA ESTA PROTEÍNA NUCLEAR AL CITOPLASMA

La proteína nuclear FUS, que se acumula en el citoplasma en algunas formas de demencia frontotemporal (DLFT) y ELA, recibe sus órdenes de avance a partir de la maquinaria de reparación del ADN, según un artículo publicado el 4 de junio en el *Journal of Neuroscience*. El autor principal, Thomas Kukar y sus colaboradores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Emory en Atlanta, mostraron que la rotura en el material genético conduce a la fosforilación de FUS, provocando que las proteínas de unión al ADN y al ARN abandonen el núcleo. Los autores sugieren que el daño en el ADN puede contribuir a la patología en la degeneración del lóbulo frontotemporal relacionada con FUS (DLFT-FUS) y añaden alguna evidencia de daño en el ADN en muestras postmortem de varios casos humanos. Proponen, además, que terapias que protejan al ADN podrían ayudar a tratar

la enfermedad.

El primer autor Qiudong Deng estaba interesado en ver cómo se distribuía FUS en las células. Anteriormente se había dado cuenta de que TDP-43, otra proteína nuclear que se traslada al citoplasma en trastornos neurodegenerativos, podía ser inducida a hacerlo cuando las células están expuestas a la estaurosporina, un inhibidor de quinasas. Dadas las similitudes entre TDP-43 y FUS, Deng decidió examinar la localización de FUS después de tratar a cultivos celulares de neuroglioma H4 humanos con el inhibidor. Efectivamente, una fracción de FUS nuclear se desplazó al citoplasma después del tratamiento, a pesar de que una gran cantidad de la proteína permaneció también en el núcleo. Además, Deng utilizó anticuerpos para serina y treonina fosforilada para mostrar que FUS había captado grupos fosfato en su camino hacia el citoplasma.

Mediante la supresión de diferentes partes del gen FUS, Deng fue capaz de identificar la fosforilación del extremo amino terminal de la proteína. Recortando este extremo eliminó la proteína FUS citoplasmática después del tratamiento con estaurosporina. Debido a que la estaurosporina inhibe varias quinasas, Deng utilizó algoritmos de predicción on-line, inhibidores específicos y ensayos de fosforilación in vitro para determinar que una quinasa llamada ADN-PK es la que modifica FUS. Mutantes fosfomiméticos de FUS, con aspartato en todos los posibles sitios de fosforilación ADN-PK, también se localizan en el citoplasma. Pensaron que la fosforilación estaba impulsando la localización.

Ya que el ADN-PK participa en las vías de reparación del ADN, los investigadores especularon con que FUS podría ser fosforilada en respuesta al daño en los cromosomas. Utilizaron un compuesto denominado calicheamicina g1 para provocar roturas en la doble cadena de ADN en células H4 y por supuesto, esto condujo a la fosforilación de FUS. Otros científicos también habían vinculado FUS a la reparación del ADN, publicando que la proteína se encontraba en las dobles cadenas de ADN rotas en el núcleo en cuestión de segundos.

¿Cómo conciliar esto con el nuevo hallazgo de Kukar y Deng de que FUS sale hacia el citoplasma? Los dos hallazgos no entran en conflicto, porque ocurren en diferentes escalas temporales. Deng y sus colegas observaron a FUS en el citoplasma una hora después del

daño, alcanzando el pico al cabo de dos horas. FUS podría ir directamente al ADN después del daño cromosómico y a continuación fosforilarse y dirigirse al citoplasma. El evento de fosforilación podría existir para eliminar FUS del lugar del daño, especuló Kukar.

Los datos de Deng convencieron a otros investigadores, el daño del ADN conduce a la fosforilación FUS, promoviendo la localización citoplasmática de la proteína. El mayor problema ahora es cómo se relaciona esto con la enfermedad neurodegenerativa. Para comenzar a abordar esta cuestión, Deng analizó H2AX fosforilada, un marcador de roturas de doble cadena de ADN, en las cortezas frontales de 11 casos de DLFT-FUS, a través de Western blot. Las muestras contenían mayor cantidad de H2AX fosforilado que el tejido de siete controles normales. Es bastante convincente de que hay marcadores de daño del ADN en estos casos pero la historia sin embargo presenta un vacío, ya que los autores no encontraron ninguna evidencia de fosforilación de FUS en estos casos. El efecto de la fosforilación podría ser más sutil en el tejido humano que en el cultivo de células, dijo Kukar, en particular desde que FUS en el tejido humano podría haberse degradado durante el almacenamiento.

Otros investigadores se preguntaron por qué el daño del ADN causaba esta forma específica de neurodegeneración. ¿Cuál es la causa inicial y naturaleza del daño en el ADN?, debe ser algo bastante único para causar una enfermedad tan rara. De hecho, el daño del ADN se produce en muchas enfermedades. Lo que faltaría sería un análisis de otros cerebros con enfermedades neurodegenerativas, aunque los tejidos humanos adecuados para realizar Western blot sean difíciles de conseguir. Sin esos controles, no hay manera de saber si esta vía se produce específicamente en la DLFT-FUS. De hecho, si Kukar está de acuerdo con que el daño en el ADN desencadena la localización errónea de FUS, entonces FUS podría aparecer en el citoplasma en otras enfermedades neurológicas vinculadas a daños en el ADN, como la ataxia telangiectasia. No se sabe todavía si esta vía es relevante o no para las funciones de FUS relacionadas con la ELA y la DLFT. Y será difícil probar que el daño del ADN y la fosforilación de FUS causen directamente la enfermedad.

REF: Deng, Q. "FUS is phosphorylated by DNA-PK and accumulates in the cytoplasm after DNA damage". *J Neurosci.* 2014 Jun 4; 34(23):7802-13.

UNA MUTACIÓN MITOCONDRIAL ASOCIADA A UN SÍNDROME CON CARACTERÍSTICAS DE ELA-DFT.

Una mutación mitocondrial podría conducir a la enfermedad de la neurona motora (ELA) y a la demencia frontotemporal (DFT), según un estudio de los investigadores de la Universidad Sophia Antipolis de Niza, Francia. La autora principal, Véronique Paquis-Flucklinger y sus colaboradores publicaron sus hallazgos en la revista *Brain* online el 16 de junio, el mismo día que presentaron los resultados en el Euro-mit International Meeting on Mitochondrial Pathology en Tampere, Finlandia. Relacionaron un síndrome clínico en dos familias que se pensaba que tenían ELA-DFT con una mutación en un gen nuclear que codifica la proteína mitocondrial CHCHD10, nombre abreviado de la proteína que contiene 10 repeticiones de un dominio bobina en espiral-hélice-bobina. Es la primera vez que se ha observado un origen mitocondrial para la ELA-DFT, lo que plantea la interesante posibilidad de una forma mitocondrial subyacente en este grupo de trastornos. Algunos expertos elogiaron los estudios mitocondriales del artículo, pero comentaron que era una exageración llamar a la enfermedad ELA-DFT una patología mitocondrial. El estudio no prueba un origen mitocondrial para la ELA-DFT, aunque abundan las evidencias de un mal funcionamiento mitocondrial como un aspecto de la enfermedad. Los autores llaman a la enfermedad ELA-DFT "atípica" en la familia original francesa que estudiaron. A los 50 años de edad, el primer paciente desarrolló ataxia cerebelosa más demencia, sordera y además tenía dificultades bulbares. Vivió durante otros 17 años, un tiempo inusualmente largo para un paciente con ELA. Otros miembros de la familia desarrollaron una variedad de sintomatologías, que incluían ataxia o enfermedad de la neurona motora, así como alteraciones del lóbulo frontal, tales como pérdida de la memoria y de la función ejecutiva. La única característica común a todos los miembros de la familia afectados era una miopatía, por lo que se necesitarían pruebas neuropsicológicas más detalladas y pruebas de enfermedad de la neurona motora inferior para confirmar el diagnóstico. Este tipo de trastorno multisistémico variable es, sin embargo, típico de las en-

fermedades mitocondriales, lo que llevó a los autores a investigar esos orgánulos. Realizando una biopsia de tejido muscular a partir de ocho miembros de la familia observaron varias anomalías en un examen microscópico. Las mitocondrias normalmente dispersas se agruparon y eran deficientes en componentes cruciales de la cadena de transporte de electrones tales como el citocromo c oxidasa y el complejo V. Además, en el ADN mitocondrial faltaban trozos grandes (deleciones del ADNm). Estas supresiones podrían ser el resultado de muchas causas posibles, como el aumento de daño mitocondrial del ADN, la reparación del ADN defectuoso o el fracaso de las células para deshacerse de las mitocondrias con ADN dañado. En el pasado ya se habían vinculado los cromosomas mitocondriales fragmentados (deleciones de ADNm) con la ELA. Por otro lado, los fibroblastos de estos pacientes consumían menos oxígeno que las células control, lo que indica una respiración débil. Las mitocondrias en estas células aparecen también fragmentadas, desorganizadas, con menos pliegues en la membrana interna, o crestas, donde la cadena de transporte de electrones se instala normalmente. Paquis-Flucklinger y sus colaboradores secuenciaron los exomas de dos miembros de la familia en busca de variantes que pudiesen explicar los fenotipos. Identificaron de este modo una mutación de serina a leucina en el aminoácido 59 en el gen CHCHD10 en el cromosoma 22. No se sabía nada acerca de este gen, aunque se sospechaba un papel en la fosforilación oxidativa. Los investigadores utilizaron modelos informáticos para predecir que esta mutación podría impedir las interacciones proteína-proteína. Bannwarth y sus colaboradores examinaron el gen CHCHD10 en otras 21 familias con ELA-DFT, en los que el diagnóstico fue confirmado en la autopsia. Descubrieron la misma mutación en un hombre afectado en España. Él y otros miembros de su familia mostraban una variedad de síntomas como dificultad para caminar, cambios cognitivos y de comportamiento y ceguera. Los autores además han identificado una mutación CHCHD10 diferente en dos familias más con ELA-DFT.

Caos mitocondrial

No es sorprendente que Bannwarth y sus colegas encontrasen la proteína CHCHD10 en las mitocondrias. Apareció en todos los

tejidos humanos, incluyendo el cerebro, siendo especialmente frecuente en el corazón y el hígado, donde las mitocondrias son numerosas. Mediante el uso de microscopía electrónica, los autores descubrieron CHCHD10 en el espacio intermembrana mitocondrial, cerca de las uniones de sus crestas, donde la membrana interna de la organela se pliega sobre sí misma.

Para el estudio de la mutación CHCHD10, los autores sobreexpresaron el mutante o el tipo salvaje de proteínas en cultivos de células HeLa de cáncer cervical. En presencia de CHCHD10 mutante, pero no de tipo salvaje, las mitocondrias se desorganizaron y fragmentaron, presentando menos crestas o crestas mal formadas. Otras enfermedades mitocondriales presentan características similares, así como las células de pacientes con ELA con mutaciones en el gen de la superóxido dismutasa 1. Por ahora, aún se desconoce si la mutación CHCHD10 altera la maquinaria de la producción de ATP de tal manera que destruya las crestas, o si la mutación altera las crestas y esta anomalía estructural conduce a los defectos en la síntesis de ATP.

A pesar del diagnóstico incierto, el artículo es valioso por sus ideas sobre los defectos mitocondriales que pueden afectar a las neuronas motoras. Hay que ser prudente al decir que la ELA típica y la ELA esporádica surge de enfermedades mitocondriales similares aunque el espectro ELA-DFT haya ido en aumento y este tipo de miopatía "híbrida" mitocondrial/neurona motora no sea del todo nueva. Después de todo, la proteiopatía multisistémica debido a mutaciones en la proteína que contiene valosina (VCP) causa ELA y DFT además de miopatía y enfermedad ósea. Cada vez se tiene que ser más flexible en cuanto al concepto de enfermedad de neurona motora.

REF: Bannwarth S, et al. "A mitochondrial origin for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis through CHCHD10 involvement". *Brain*. 2014 Aug;137(Pt 8):2329-45.

NUEVOS HALLAZGOS DE REPETICIONES EN LA EXPANSIÓN EN *C9orf72* ¿CAUSA DE NUEVAS ENFERMEDADES O COINCIDENCIA?

Las ya famosas secuencias largas de repeticiones (expansiones de la repetición GGGGCC) en el gen *C9orf72* han aparecido en casos de atrofia multisistémica (AMS) y pseudodemencia depresiva, según dos nuevos estudios. Los resultados, publicados en la revista JAMA Neurology el 14 y 21 de abril respectivamente, no prueban que las expansiones de la repetición en *C9orf72* causen las enfermedades. Sin embargo, se plantea la posibilidad de que la mutación que está estrechamente relacionada con la ELA y la demencia frontotemporal (DFT), oculta más trucos bajo la manga de lo que se pensaba. Las mismas repeticiones se han encontrado también en algunas personas con enfermedad de Alzheimer y con enfermedad de Huntington. La razón de que las expansiones se puedan manifestar en una variedad de trastornos, está todavía por ser demostrada pero elevan nuestra conciencia sobre el potencial de que esta mutación pueda existir en las poblaciones de pacientes en los que normalmente no se pensaría. La expansión de las repeticiones del hexanucleótido es la principal causa de ELA familiar y esporádica y de DFT. Las repeticiones se producen dentro de un intrón de *C9orf72*, un gen de función desconocida. Mientras que las personas sanas tienen menos de 30 repeticiones, las personas con ELA/DFT pueden albergar desde cientos a miles. Un estudio reciente publicó que las repeticiones contienen ADN y ARN en una configuración denominada G-quadruplex, que altera la expresión del gen y a pesar de su ubicación dentro de un intrón, las repeticiones logran traducirse en cadenas de dipéptidos. Los investigadores pueden detectar estas repeticiones dipeptídicas dentro de las inclusiones neuronales en pacientes con ELA o DFT, aunque el papel que desempeñen en la patología de la enfermedad aún no está claro. Independientemente de cómo la expansión de la repetición en *C9orf72* ejerza sus efectos tóxicos, los estudios sugieren que la patología puede manifestarse en varias regiones del cerebro, lo que da lugar a trastornos totalmente diferentes. La ELA se caracteriza por la degeneración de las neuronas motoras en la corteza motora y la médula espinal, mientras que la DFT afecta a las neuronas en los lóbulos frontal y temporal. Por lo tanto, la ELA afecta el movimiento, mientras que las personas con DFT sufren de síntomas psiquiátricos y cognitivos. Un estudio reciente dirigido por Carlos Cruchaga en la Universidad

de Washington en St. Louis no encontró ningún vínculo entre *C9orf72* y la enfermedad de Parkinson (EP). Sin embargo, el grupo de Cruchaga sí identificó una asociación entre las expansiones y la enfermedad de Alzheimer (EA). Otros estudios recientes identificaron expansiones *C9orf72* en un subconjunto de las personas diagnosticadas con la enfermedad de Huntington, que no portaban las repeticiones características en el gen de la huntingtina que provocan la enfermedad.

Los presentes artículos indican que las expansiones pueden tener todavía efectos más amplios. Dennis Dickson en la Clínica Mayo en Jacksonville, Florida, encontró las expansiones *C9orf72* en pacientes con "pseudodemencia depresiva." Las personas con pseudodemencia, una clasificación que es objeto de controversia, muestran signos de demencia que se piensa que es provocada por un trastorno psiquiátrico subyacente, como la depresión, en lugar de una patología que cause demencia por sí misma. El primer autor Kevin Bieniek, de la Clínica Mayo en Rochester, Minnesota y sus colegas querían ver si podían encontrar una patología subyacente responsable de esta descripción clínica. Examinaron una colección de 31 cerebros postmortem de pacientes con diagnóstico de pseudodemencia depresiva; los cerebros no mostraron signos de neurodegeneración o atrofia.

Los investigadores utilizaron el anticuerpo recientemente desarrollado C9RANT, que reconoce las repeticiones de dipéptidos producidos por la expansión *C9orf72*. Con este anticuerpo se identificaron dos muestras de cerebro que albergaban inclusiones neuronales repletas de dipéptidos. Las muestras procedían de dos hombres (uno de entre 66 años y el otro de 71) con antecedentes de depresión. Ambos contenían inclusiones dipeptídicas en el hipocampo, corteza cerebral, la amígdala, ganglios basales, el tálamo y el cerebelo, que portaban la mayor carga. Uno de los pacientes había experimentado parkinsonismo inducido por fármacos y el otro había sido diagnosticado con EA basándose en una evaluación cognitiva. Ambos pacientes presentaban ovillos neurofibrilares y el paciente con diagnóstico de EA también tenía cuerpos de Lewy dispersos. Ninguno de los pacientes tenía placas amiloides o cualquier signo de enfermedad de neurona motora.

No está claro cuál es el papel que pueda haber desempeñado las expansiones *C9orf72* en los síntomas de los pacientes. Las inclusiones con la repetición del dipéptido le dan una potencial base estructural para la demencia. El problema es que no se tienen pruebas de que las inclusiones de dipéptidos sean causa directa de la enfermedad.

Es posible que las inclusiones hayan provocado síntomas depresivos o de demencia por sí mismos y que estos síntomas pudieran haber sido los precursores de una enfermedad neurodegenerativa como la ELA o la DFT. Existe la posibilidad de que los síntomas psiquiátricos puedan ser marcadores prodrómicos en pacientes con una historia familiar de ELA o DFT, sin embargo, trastornos como la depresión son muy comunes.

El otro estudio, dirigido por Sheng-Han Kuo, de la Universidad de Columbia, planteó la posibilidad de que las repeticiones puedan desencadenar también atrofia multisistémica (AMS), un trastorno del movimiento caracterizado por inclusiones α -sinucleína gliales y neuronales y la neurodegeneración del cerebelo. El primer autor Goldman y sus colaboradores describen los informes clínicos detallados de un hermano y una hermana que albergaban cerca de 1.000 repeticiones *C9orf72*, pero con diferentes resultados, ambos dramáticos. La hermana de 65 años de edad, se vino abajo con signos típicos de AMS, que incluyen falta de coordinación, dificultad para caminar, incontinencia urinaria y descensos peligrosos en la presión sanguínea al ponerse de pie. Con el tiempo, sus síntomas físicos empeoraron con inicio de deterioro cognitivo, similar a los síntomas observados en los pacientes con DFT. Los escáneres cerebrales mostraron mayor degeneración en su cerebelo. Su hermano, por otra parte, comenzó a desarrollar los síntomas de debilitamiento muscular de la ELA a la edad de 62 años, momento en el que su enfermedad progresó rápidamente. El padre de los hermanos había fallecido con ELA a la edad de 49 años. Por qué una hermana desarrolló un trastorno similar a AMS y el otro ELA, no se sabe, pero los investigadores sospechan de una combinación de factores genéticos y ambientales que pueda haber empujado la patología asociada a *C9orf72* por una vía independiente en cada paciente.

¿Es la asociación entre la repetición y la extraña enfermedad de la hermana causa o una coincidencia? La AMS no se considera una enfermedad hereditaria, lo que hace que la idea de que podría ser debido a las expansiones *C9orf72* sea improbable. Además el caso de AMS no se ha confirmado patológicamente por la tinción de las inclusiones de α -sinucleína, por lo que el verdadero diagnóstico es incierto.

La probabilidad de que el caso similar a AMS aparezca por casualidad en una familia con la mutación *C9orf72* y con una historia de enfermedad neurodegenerativa parece pequeña, pero todavía no se puede explicar la asociación.

Aunque los síntomas de la paciente fueron simila-

res a AMS, es posible que la patología subyacente pueda estar relacionada con las expansiones *C9orf72*. Tal vez imite una atrofia multisistémica, donde la patología provocada por *C9orf72* y TDP-43 subyacente, en lugar de ser una sinucleopatía, pueda, por la razón que sea, estar afectando al cerebelo y a la función autónoma.

Si se encuentra una patología no-sinucleínica para explicar este caso de "AMS", podría dar lugar a que los médicos se pensasen dos veces sobre la causa de los síntomas de una enfermedad parecida a AMS en pacientes con antecedentes familiares de DFT o ELA. Los estudios requieren mayor observación sobre esta historia familiar. Los médicos que ven con estos pacientes deberían darse cuenta de que pueden estar tratando con una expresión alternativa del fenotipo *C9orf72*.

Se necesitarían mayores estudios genéticos para vincular definitivamente las expansiones de *C9orf72* con enfermedades como la DFT o la ELA. De hecho, las directrices para los estudios genéticos publicados en Nature el 24 de abril piden más cautela en la elaboración de las relaciones causales entre los genes y la enfermedad en los grandes estudios genéticos y algo menos en los estudios de casos pequeños. Sin embargo, en lugar de tratar de demostrar que *C9orf72* causa enfermedades como la AMS o la pseudodemencia, la pregunta más interesante es qué factores genéticos o ambientales secundarios dan lugar a diferentes manifestaciones de la enfermedad relacionadas con la expansión *C9orf72*. La variabilidad en el fenotipo clínico puede provenir de que poblaciones neuronales selectivas sean más o menos eficaces para hacer frente a la patología *C9orf72*. La realización de un estudio de factores genéticos secundarios en una población de portadores de la expansión *C9orf72* con diferentes enfermedades sería una forma de determinar cuáles son los factores que determinan que la enfermedad discorra por un camino u otro. Aunque ninguno de los dos estudios demuestra directamente que las expansiones sean las responsables de la patología clínica de los distintos trastornos de ELA o DFT, plantean la posibilidad de que *C9orf72* tiene potencial para manifestarse de múltiples maneras.

REF: Bieniek KF. "Expanded *C9orf72* Hexanucleotide Repeat in Depressive Pseudodementia". *JAMA Neurol.* 2014 Apr 21.

Goldman, JS. "Multiple System Atrophy and Amyotrophic Lateral Sclerosis in a Family With Hexanucleotide Repeat Expansions in *C9orf72*". *JAMA Neurol.* 2014 Apr14.

ANÁLISIS COMPLETO DEL GENOMA (GWAS) PARA LA CONFIRMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD DE LA ELA

La ELA es la enfermedad de la neurona motora más común que afecta a adultos. Entre el 5% y 10% de los casos de ELA se considera que tienen naturaleza familiar, mientras que la mayor parte de los casos se clasifican como esporádicos. Los estudios realizados de agregación familiar, sobre gemelos y los epidemiológicos sugieren que existen factores genéticos que contribuyen a la ELA esporádica. Se han llevado a cabo considerables avances en la comprensión de la genética subyacente a la ELA. Sin embargo, para la mayoría de los pacientes que reciben un diagnóstico de ELA, el papel desempeñado por la genética está poco claro. El esclarecimiento de la arquitectura genética de esta enfermedad, por tanto, ayudará a aclarar el papel de la variación genética en las poblaciones con ELA.

En el análisis llevado a cabo en el artículo publicado en la revista *JAMA Neurology* el 14 de julio por Keller de la Universidad de Temple, Pennsylvania y colaboradores identifican regiones del genoma con cierto riesgo de heredabilidad, constituyéndose como posibles candidatos para la ELA.

Debido a que nos movemos hacia la era de la medicina personalizada, comprender los componentes hereditarios de un fenotipo son críticos para valorar la susceptibilidad del individuo a la enfermedad. Para estimar la importancia relativa de los factores genéticos mediante la cuantificación precisa de la heredabilidad, en una enfermedad compleja como la ELA, se emplean los datos obtenidos a partir del análisis de todo el genoma derivados de los estudios de asociación de genoma completo (GWAS). Para recoger con más exactitud la heredabilidad asociada con el riesgo de ELA, es necesario estimar la varianza aditiva poligénica empleando simultáneamente todos los polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) del genoma completo, en oposición al estricto análisis individual de SNPs, que es la estrategia estándar del análisis GWAS.

Los autores del trabajo aplicaron el algoritmo de análisis de características complejas de todo el genoma (GCTA) para 3 conjuntos de datos del estudio de asociación del genoma que se generaron a partir de cohortes de casos de ELA y controles de ascendencia europea para estimar la heredabilidad de

la ELA. Estos conjuntos de datos contenían información del genotipo de 1.223 casos y 1.591 controles que se habían generado previamente y que están a disposición del público en la página web del Centro Nacional de Información Biotecnológica dentro de la base de datos de genotipos y fenotipos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gap>). Las cohortes genotipadas como parte de este estudio de asociación del genoma completo incluyen los estudios InCHIANTI (envejecimiento en la zona de Chianti), el registro para la ELA del Piemonte y del Valle d'Aosta, el depósito del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Apoplejía y de una clínica especializada en ELA en Helsinki, Finlandia.

Empleando un modelo mixto de revestimiento para explicar simultáneamente todos los polimorfismos de un solo nucleótido conocidos, cuantificaron la variación fenotípica presente en individuos aparentemente no consanguíneos. Se utilizaron medidas de varianza para estimar la heredabilidad. Con este meta-análisis, que se basa en datos de genotipos de todo el genoma, se estimó la heredabilidad general de la ELA aproximadamente en el 21,0% (IC 95%, 17,1-24,9) (SE = 2.0%). Además, se identificaron 17 regiones del genoma que muestran estimaciones significativamente altas de heredabilidad. Once de estas regiones representan regiones candidatas novedosas para el riesgo a padecer ELA. Estos datos confirman que parte de la variación genética que influye en la susceptibilidad a la ELA sigue sin estar identificado. En el estudio se encontró que la heredabilidad de la ELA era significativamente mayor que la publicada anteriormente. A pesar de ello, las estimaciones representan todavía el límite inferior de la heredabilidad. Por ejemplo, no se consideran inserciones, deleciones y variantes estructurales en el método empleado. Se identificaron nuevas y múltiples regiones genómicas que se hipotetizan que puedan contener variantes de riesgo causales que influyen en la susceptibilidad a desarrollar ELA. Además, estas estimaciones actuales de basan en los datos de arrays de genotipaje, que se consideran subóptimos para la identificación de variantes raras. La secuenciación de exomas y finalmente la secuenciación del genoma, permitirá la identificación de variantes raras con probablemente mayores efectos, además la incorporación de estos datos en los modelos producirá sin duda estimaciones mayores de heredabilidad en ELA.

La importancia última de estos análisis se encuentra en el apoyo que aporta a la hipótesis de que el riesgo de la enfermedad es probablemente el resultado de efectos combinados de muchos genes. Para médicos y neurólogos, esta información podría cambiar la forma en la que se aborda el riesgo de enfermedad y en cómo se identifican los factores de riesgo. Además, para estimar la heredabilidad se presentan datos que muestran varias regiones del genoma que portan variantes que contribuyen al riesgo de ELA. Sin embargo, en estos momentos, estas regiones son amplias y contienen muchos genes. No es posible empleando los conocimientos actuales identificar qué genes dentro de estas regiones son los responsables sin obtener ninguna validación biológica. Este es un problema común con los resultados de los análisis GWAS y deberá ser tratado en estudios futuros empleando genotipaje directo.

REF: Keller MF, et al. "Genome-Wide Analysis of the Heritability of Amyotrophic Lateral Sclerosis". *JAMA Neurol.* 2014 Jul 14.

PROYECTO MinE: PACIENTES CON ELA LANZAN POR PRIMERA VEZ UN FONDO DE INVERSIONES ESPECÍFICO DE ENFERMEDADES RARAS

El 19 de mayo de 2014, los fundadores del fondo de inversión organizaron una jornada de ELA, donde revelaron el plan de un revolucionario enfoque para encontrar una cura comercializable. El fondo de inversión ELA funcionará dentro de un escenario que incluye todos los ingredientes necesarios para conseguir una cura de los pacientes, desde un mercado financiero, hasta una perspectiva más amplia, en un mercado de miles de millones de dólares. El fondo destinará el capital para crear oportunidades de inversión responsable y al mismo tiempo completar la consecución del tratamiento para la ELA con la esperanza para aquellos que más lo necesitan.

La ELA, enfermedad de la neurona motora (ENM) y comúnmente conocida en EE.UU. como enfermedad de Lou Gehrig, el nombre de un famoso jugador de béisbol de principios del siglo XX de los Yankees de Nueva York, es una enfermedad rara en su prevalencia, de pronóstico grave, neurodegenerativa debilitante que afecta a miles de personas cada año y para la que no existe actualmente cura. Esta es precisamente la razón por la que tres empresarios recién diagnosticados se unieron para formar un fondo de inversión enfocados en la ELA.

Actualmente, existen más de 8.000 enfermedades raras. Para la mayoría de ellas, la investigación científica principalmente de base se lleva a

cabo sin tener en cuenta las posibilidades de obtener un beneficio y casi la totalidad de estas investigaciones se desarrollan en las instituciones académicas. El éxito en la investigación traslacional es limitado debido a la falta de conocimiento para llevar los descubrimientos al mercado y porque el ámbito financiero no está claro.

Según co-fundador Bernard Muller, nombrado empresario EY del año en los Países Bajos: "Nuestra última iniciativa - que ya lanzó con éxito el mayor estudio de investigación genética mundial, llamado proyecto MinE - nos permitirá demostrar el impacto potencial de una inversión verdaderamente importante que traerá la esperanza a los pacientes sin ignorar la demanda de los inversores de recuperar su inversión y también conllevará un ahorro de costes para las compañías de seguros sanitarios, así como una investigación traslacional real y un éxito científico compartido".

El fondo espera recaudar 100 millones de € de y está dirigido específicamente a los llamados inversores de impacto y no a los inversores capitalistas de riesgo tradicionales de biotecnológicas y farmacéuticas. El evento del 19 de mayo fue presentado por el patrocinador Accenture en sus oficinas de Ámsterdam.

Referencia:

"ALS Patients Launch First-Ever Rare Disease Specific Investment Fund". Digital Journal. 29 de Abril de 2014.

http://www.digitaljournal.com/pr/1881298?utm_source=Forum+e-Newsletter+Vol+104&utm_campaign=Forum+e-newsletter+Vol+104&utm_medium=email

REUNIÓN ENÇALS EN LOVAINA – BÉLGICA.

El pasado 22 de Mayo tuvimos el gusto de participar en el décimo segundo encuentro del ENÇALS (Red de investigación europea para la cura de la ELA – European Network for Cure of ALS), realizado en la ciudad belga de Lovaina.

El congreso, que duró tres días, trató los temas de mayor interés respecto a los nuevos avances en el conocimiento de la ELA:

- En Investigación básica: Los genes *C9orf72*, *SOD1*, *FUS* y *TARDBP*, el diagnóstico genético y por imágenes, el hallazgo de biomarcadores y los modelos in vitro.

- En Investigación Clínica: Las estrategias terapéuticas, los posibles factores de riesgo y los cambios comportamentales. Resultó muy interesante contar con la participación de Magdalina Polymenidou, de la Universidad de Zurich, cuya comunicación oral se centró en el plegamiento anómalo de la proteína *SOD1* normal tras una cirugía. En trabajos previos se había demostrado que es posible transferir la enfermedad a ratones normales y sanos a través de la inyección de lisados de cerebros provenientes de ratones enfermos o mediante la inyección de agregados de proteínas sintéticas mutadas. En ambos casos los ratones aceptores se enferman. Utilizando ratas que sobreexpresan la *SOD1* humana normal, el grupo de Polymenidou demuestra que aparecen anticuerpos contra la proteína *SOD1* mal conformada cuando estos

animales son inyectados con extractos medulares de ratas SOD1-G93A en situación terminal o con extractos de médula de ratas normales. Como era de esperar las ratas inyectadas con extractos proteicos normales no enferman, pero demuestran que la SOD1 normal es capaz de adquirir una conformación anómala que podría no ser suficientemente tóxica y que es susceptible de ser reconocida por anticuerpos de forma espontánea.

Es importante mencionar que esta investigadora es autora junto a Adriano Aguzzi, de una revisión sobre la biología de los priones que data del año 2004 y que dicha publicación fue tomada como referencia para muchos de los ponentes que intervinieron. De hecho, la conferencia fue iniciada por el profesor Don Cleveland, del "Ludwig Institute for Cancer Research" de EE.UU., que mencionó que los procesos anómalos de maduración del ARN y la síntesis de proteínas están íntimamente ligados a través de la propagación priónica. De ahí, que las "firmas moleculares" de estas patologías, incluyendo la alteración de TDP-43, FUS, Ubiquilina-2, VCP y la expansión nucleotídica en *C9orf72*, sean similares.

Respecto a *C9orf72*, cuya expansión del hexanucleótido GGGGCC es la causa más frecuente de ELA y DFT pero cuya vinculación con la patogenia se desconoce aún, hay que resaltar el trabajo realizado por Steven Boeynaems (Laboratorio de Neurobiología, Vesalius Research Center, Bélgica). En el mismo y a través de un modelo de pez cebra con un knockdown

(animal en el que se inhibe la expresión de un gen) del gen homólogo en el pez, se arroja luz sobre la implicación de esta mutación en el desarrollo de la enfermedad. Demuestra que la expansión produce un fenotipo axonal semejante al encontrado en los modelos de SOD1 y TDP-43 en este pez y que el bajo nivel de transcripción podría deberse a la formación de estructuras dentro de la expansión del ADN (hecho que también se observa en los pacientes). Además encuentra que cuando se sobreexpresa la repetición en el ARN aparece un fenotipo similar debido a la formación de determinadas estructuras en el ARN que son tóxicas por sí mismas independientemente de la conformación proteica resultante.

La proteína TDP-43 lógicamente ha sido tratada de forma exhaustiva en el congreso. En este caso es de señalar la contribución del grupo de Manuel Portero-Otín de la Universidad de Lleida (España) a través de la presentación oral de Ana Belén Granado-Serrano. Sugieren que TDP-43 podría cumplir un papel fisiológico importante puesto que colocaliza con varias proteínas mitocondriales, interacciona con enzimas vinculadas al metabolismo de la glucosa y a la respuesta ante el estrés y es capaz de perjudicar la función del complejo I mitocondrial disminuyendo el consumo aeróbico de oxígeno.

La alteración de la función mitocondrial es un aspecto profusamente investigado en todas las enfermedades neurodegenerativas y en particular en la ELA quiere relacionarse con el metabo-

lismo del ARN, a través de TDP-43, FUS y *C9orf72*. En este sentido se presentó un interesante trabajo en el que se evaluó la funcionalidad mitocondrial en fibroblastos de pacientes con mutaciones en TARDPB y *C9orf72*. Elisa Onesto del Instituto Auxológico Italiano encontró que tanto la actividad como la morfología mitocondrial están alteradas en ambos casos y esto es interesante puesto que éste tipo celular podría entonces emplearse como modelo de investigación.

Finalmente, el congreso también asignó un espacio a las investigaciones clínicas. Christian Lunetta también de Italia, del Centro Clínico NEMO, presentó un ensayo en el que evaluaban el efecto del ejercicio sobre la promoción o prevención del deterioro en la ELA. Incluyeron pacientes con diagnóstico de ELA definida y probable con una duración menor o igual a 36 meses. Se separaron al azar en dos grupos: uno fue sometido a un programa monitorizado de ejercicios y el otro permaneció dentro del programa usual de cuidados. En ambos casos los pacientes se trataron durante 6 meses y se evaluaron mediante el ALSFRS-r, %CVF y el cuestionario MGQoL. El resultado fue que aquellos pacientes sujetos al programa monitorizado de trabajo (que incluían ejercicios activos y pasivos) demostraron un menor deterioro motor aunque su supervivencia no se vio afectada.

