

# FUNDELA

# Boletín Científico 51

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

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

Todos los boletines pueden descargarse en nuestra web [www.fundela.es](http://www.fundela.es)

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



Brussels 2014

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

- **PROYECTO EUROPEO MinE:** [www.proyectmine.com](http://www.proyectmine.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/captaBanco.php>

#### 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)  
 Dra. María Luisa Fajardo (Epidemióloga – Junta de Andalucía)

Dra. María Teresa Solas (Bióloga, Universidad Complutense de Madrid)  
 Dra. Teresa Salas (Psicóloga, Unidad de ELA – Hospital Carlos III/Hospital Universitario La Paz)  
 Dr. Jesús S. Mora Pardina (Neurólogo, Unidad de ELA – Hospital Carlos III/Hospital Universitario la Paz)

## EDITORIAL

### CONGRESOS INTERNACIONALES

04 ----->

**CONGRESO INTERNACIONAL EN ELA. BRUSELAS (BELGICA) DICIEMBRE 2014**

11 ----->

**REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD PARA LA NEUROCIENCIA. WASHINGTON, NOVIEMBRE 2014.**

### RESÚMENES CIENTÍFICOS

#### CLÍNICA

15 ----->

**LA AGREGACIÓN DINÁMICA DE SOD1 SE CORRELACIONA CON ALGUNOS FENOTIPOS CLÍNICOS DE ELA**

16 ----->

**MODELOS MATEMÁTICOS EMPLEADOS EN CÁNCER ARROJAN LUZ SOBRE LAS CAUSAS DE LA ELA.**

### FARMACOS, ENSAYOS CLINICOS Y ENSAYOS PRECLINICOS

17 ----->

**LA TERAPIA EN LA ELA SIGUE SIENDO UN RETO.**

18 ----->

**USEGURIDAD Y EFICACIA DE LA CEFTRIAXONA PARA LA ELA: UN ENSAYO MULTI-ETAPA, ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO Y CONTROLADO CON PLACEBO.**

19 ----->

**ENSAYOS CLÍNICOS EN ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA: ¿POR QUÉ EXISTEN TANTOS ENSAYOS NEGATIVOS Y CÓMO PODRÍAN MEJORARSE?.**

21 ----->

**CYTOKINETICS PLANIFICA LA FASE III DEL ENSAYO CLÍNICO DE TIRASEMTIV PARA LA ELA.**

**INGESTA DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS OMEGA3 EN LA DIETA Y RIESGO PARA LA ELA.**

22 ----->

**EL TRASPLANTE LOCAL DE PROGENITORES GLIALES NEURONALES DERIVADOS DE IPSC HUMANAS PROLONGA LA ESPERANZA DE VIDA DE LOS RATONES CON ELA.**

23 ----->

**EL TRATAMIENTO CON UN ANTICUERPO DIRIGIDO CONTRA NOGO-A RETRASA LA PROGRESIÓN EN EL MODELO MURINO SOD1G93A DE ELA.**

24 ----->

**OTSUKA PHARMACEUTICAL ADQUIRIRÁ AVANIR PHARMACEUTICALS.**

#### GENETICA

25 ----->

**EXISTEN EVIDENCIAS QUE INDICAN QUE UN GEN MITOCONDRIAL ES UN FACTOR DE RIESGO PARA LA ELA Y DFT.**

26 ----->

**¿LAS MUTACIONES EN CHCHD10 ESTÁN OBLIGATORIAMENTE ASOCIADAS CON LA ELA FAMILIAR?.**

27 ----->

**SE RELACIONAN ERRORES GENÉTICOS CON MÁS CASOS DE ELA DE LOS QUE LOS CIENTÍFICOS PENSABAN.**

28 ----->

**TRÍOS TRAS LA BÚSQUEDA DE GENES CANDIDATOS RELACIONADOS CON LA ELA.**

### FARMACOS, ENSAYOS CLINICOS Y ENSAYOS PRECLINICOS

**ALGUNAS CHAPERONAS OBTENIDAS DE LEVADURAS "FUNDEN" LOS AGREGADOS DE PROTEÍNAS.**

30 ----->

**FÁRMACOS Y BIOMARCADORES CANDIDATOS PARA LA ELA Y DFT RELACIONADA CON C9ORF72.**

31 ----->

**INVESTIGADORES OBTIENEN CÉLULAS MADRE DE PACIENTES FALLECIDOS PARA ESTUDIAR ENFERMEDADES ACTUALES.**

**LOS ASTROCITOS GERIÁTRICOS FALLAN A LAS NEURONAS MOTORAS EN MODELOS DE ELA.**

### FARMACOS, ENSAYOS CLINICOS Y ENSAYOS PRECLINICOS

32 ----->

**EL TRABAJO SUCIO DE C9ORF72 REALIZADO POR PROBLEMAS PROTEICOS.**

34 ----->

**LOS DIPÉPTIDOS ANTISENTIDO RAN PROLINA-ARGININA RELACIONADOS CON C9ORF72 EN ELA/ DFT FORMAN AGREGADOS NUCLEARES TÓXICOS.**

35 ----->

**LA ESTRUCTURA DE TDP-43 REVELA UN EXTREMO AMINO DE DOS CARAS.**

36 ----->

**CRISIS ENERGÉTICA: EN UN MODELO COMPUTACIONAL, LA DEFICIENCIA DE ATP CONDENA A LAS NEURONAS MOTORAS.**

37 ----->

**EL SISTEMA XC ES UN MEDIADOR DE LA FUNCIÓN MICROGLIAL Y SU ELIMINACIÓN REDUCE LOS SÍNTOMAS EN RATONES CON ELA.**

**B**ienvenidos. Soy una más de los voluntarios de FUNDELA. Creo que sabéis que estamos trabajando para conseguir fondos y dedicarlos a la investigación, siendo en este momento uno de los más importantes y costosos el Proyecto MinE, orientado al estudio de la base genética de la ELA.

Con respecto a esta enfermedad degenerativa de la que se desconocen las causas y que inhabilita a los enfermos hasta la inmovilidad total, estamos convencidos que se debe atender con igual tesón la investigación y el funcionamiento de Unidades en los hospitales, que, haciendo honor al significado de la palabra unidad, trate a los pacientes de forma integral con los profesionales necesarios para las patologías que surgen, psicológicas, neurológicas, neumológicas, nutricionales y fisioterapéuticas, lideradas por neurólogos formados específicamente en ELA.

La iniciativa del cubo de agua "MOJATE POR LA ELA", más allá de la polémica y la frivolidad, ha beneficiado enormemente y a largo plazo. Este evento publicitario sigue aportando dinero para la INVESTIGACIÓN, que era su cometido desde el inicio. Por eso queremos agradecer a todos y a cada uno de vosotros por vuestro apoyo, desde el inicio de FUNDELA. Hacemos mención a los que mensual, trimestral, semestral, anual, puntual hacen sus aportaciones económicas y de voluntariado a FUNDELA.

Gracias por venir a cantar y bailar desinteresadamente, a hacernos pasar una noche estupenda en el concierto del día 31 de enero de 2015. Gracias por la difusión que estáis dando deportistas, cantantes, actores. La música es la expresión artística más universal. A nosotros, así magullados y luchando por entender lo que nos pasa, nos gusta la vida. Mucho. Incluso teniendo que renunciar a cosas tan simples como bailar, silbar, cantar, saltar, escribir, besar... Conocemos su inmenso valor en tiempo y en oportunidades. Queremos aprovecharla. Esta vida que conocemos de carne, hueso y alma, la que sabemos que no siendo eterna, debe conjugarse en tiempo presente, el que realmente vivimos.

No podemos olvidar el emotivo partido de fútbol organizado por Javier Matallanas en reconocimiento a su hermano Carlos por su retirada obligada del fútbol por padecer ELA, pero ahora es nuestro bloguero más avezado, luchando por ganar el partido a la ELA. El día 27 de Diciembre de 2014 en el estadio Fernando Torres, a las 12:00h se celebró el partido homenaje a Carlos Matallanas #APorELA en beneficio de la investigación de la ELA. Allí se dieron cita la selección "Carlos Matallanas" y el combinado de "Futbolistas Nacionales", enfrentándose en un partido en el cual ambos equipos lucharon por un fin común, la recaudación de fondos para la lucha contra la ELA.

Ha sido muy importante la iniciativa de la Asociación de Futbolistas Españoles (AFE) que gracias a un nuevo proyecto de Responsabilidad Social Corporativa (R.S.C), que se desarrolla a través de una serie de conferencias, en las que se tratarán distintas problemáticas sociales, bajo el nombre de Conferencias AFE, se desarrolló el martes 2 de diciembre la primera de estas, bajo el nombre de "STOP ELA". La intención de AFE con esta conferencia era la de divulgar el conocimiento de esta enfermedad, mostrar cómo se lucha contra ella, apoyar a aquellos que lo hacen así como informar de los proyectos de desarrollo científico y los avances para erradicarla. Apadrinando esta primera conferencia, estuvieron presentes distintas personalidades, tanto del mundo del fútbol, como del resto de sectores de la sociedad. El mundo del fútbol estuvo representado, además de por el secretario general de la Real Federación Española de Fútbol, Jorge Pérez, por el presidente del Real Madrid CF, Florentino Pérez, el consejero delegado y el vicepresidente del Atlético de Madrid, Miguel Ángel Gil Marín y Antonio Alonso y la representante de la Junta Directiva, Matilde García Duarte, el presidente de la Real Federación de Fútbol de Madrid (RFFM), Vicente Temprado, el presidente del Comité de Entrenadores de la RFEF, Eduardo Caturra, Ricardo Resta, director de competición de la Liga de Fútbol Profesional (LFP), Jesús Paredes, ex preparador físico de la Selección Española, el ex futbolista Michael Robinson, así como varios miembros de la Junta Directiva de AFE, encabezada por su presidente Luis Manuel Rubiales.

Asimismo y no menos importante fue el apoyo del centro cultural Sanchinarro por acoger la exposición durante un mes y ayudar en la venta de obras donadas por 17 pintores. Por supuesto agradecemos a todos los pintores que donaron los cuadros haciendo posible esta exposición, a las bailarinas que participaron en el evento benéfico "Bailando por la ELA Ballesteas", realizado en Fuenlabrada el pasado noviembre, a los que aportaron su donativo a Migranodearena en la carrera de San Silvestre, a C.D. Femiastur por la venta de calendarios a favor de la ELA, a Luis Guillen por la donar la recaudación de las huchas en la maratón de Fútbol Sala realizado el 2, 3 y 4 de enero en Alcorcón, a Jorge Murillo que donará los beneficios de su libro para poder seguir investigando, a los participantes en la Gala Benéfica "Danza por la Vida" el 31 de enero.

Lo que queremos recalcar es que agradecemos sobre todo por entender que la investigación nos beneficia a todos. Y que no debemos conformarnos ni dejar de luchar: inos va la vida en ello! Gracias a todos.

Isabel Gutiérrez Cobos

## CONGRESO INTERNACIONAL EN ELA. BRUSELAS (BELGICA) DICIEMBRE 2014

### SESION PLENARIA.

El 25º simposio internacional en ELA/ENM tuvo lugar en Bruselas, la capital europea, desde el 5 al 7 de diciembre de 2014. Ha sido la conferencia médica y científica de la comunidad de ELA más importante del año, congregando a unos 900 asistentes. La sesión plenaria de apertura fue una presentación inspiradora del Dr. Alfred Sandrock, Director de la oficina médica de Biogen Idec. Presentó su experta opinión de los cambios en el desarrollo de fármacos para la ELA y las potenciales soluciones para acelerar el desarrollo de una terapia efectiva. La forma de aproximarse al desarrollo de fármacos en ELA, según el Dr. Sandrock, sería la proyección de los mecanismos de enfermedad previamente conocidos para identificar una vía crítica y la diana más prometedora. Los siguientes pasos lógicos sería comenzar los estudios preclínicos en modelos animales, seguido, si estos estudios tuvieran éxito, de los subsiguientes estudios en fases clínicas que culminarían en un ensayo clínico en fase III. Sandrock enfatizó el tremendo progreso que se había realizado en los últimos años en el campo de los mecanismos de enfermedad, principalmente debido al avance de la genética humana. Sin embargo, a pesar de la identificación de nuevas dianas terapéuticas, permanecen significativos obstáculos en la traducción de estos logros a terapias efectivas, como se demostró en el último escenario fallido del fármaco dexpramipexol de Biogen en un ensayo en Fase III en 2013 (el Estudio EMPOWER). ¿Cuáles son algunos de los siguientes retos para el desarrollo de fármacos en la ELA?

**Retos relacionados con los modelos murinos de ELA:** Desafortunadamente, los resultados obtenidos en los modelos de ratón de ELA, como por ejemplo los ratones que expresan el gen humano mutado de la superóxido dismutasa (hmSOD1), muestran una reproducibilidad muy limitada. El Dr. Sandrock subrayó la necesidad de asegurar que los estudios en este modelo sean rigurosos, cumpliendo los mínimos necesarios propuestos en publicaciones de Sean Scott y su grupo del Instituto de Terapia de ELA, buscando efectos más robustos y reproducibles utilizando dichos estándares.

Debido a las limitaciones inherentes de los modelos animales, que a menudo tampoco exhiben el espectro completo de la ELA humana, el Dr. Sandrock

ha observado un cambio general en el campo más allá del uso de modelos animales como herramientas de primera fila en los estudios preclínicos. En lugar de eso presentó una **"aproximación actualizada" para el desarrollo de fármacos en ELA**, donde los pasos iniciales implicarían modelos de enfermedad y pruebas de fármacos mediante el uso de células pluripotenciales inducidas (iPSCs) derivadas de pacientes con ELA. En esta nueva aproximación, los modelos animales se utilizarían para ensayar la seguridad, el hallazgo de dianas, los perfiles farmacodinámicos y la dosis, pero no serían el modelo primario para realizar los estudios de eficacia del fármaco.

**Retos para la realización de ensayos clínicos en fases tempranas de la enfermedad:** viajando desde las fases preclínicas a las clínicas, el Dr. Sandrock reseñó varios retos para el desarrollo de ensayos clínicos en fase temprana, muy complejos de conseguir en la actualidad, siempre relacionados con ELA familiar y con el futuro desarrollo de biomarcadores de diagnóstico temprano.

**Heterogeneidad clínica:** con el ejemplo del estudio EMPOWER de Biogen, Sandrock explicó que el brazo placebo en el estudio era tan diverso que los requerimientos del tamaño de la muestra fueron impracticables. Una solución propuesta sería la introducción de un periodo iniciático de 3 meses para el rastreo de pacientes antes de que fueran asignados a los brazos control y tratamiento con la finalidad de hacer posible algún tipo de estratificación. El Dr. Sandrock mencionó el Premio de Predicción de ELA de Prize4Life's y el potencial que posee para la utilización de los algoritmos resultantes para la valoración de la progresión de la enfermedad en pacientes con ELA.

**Heterogeneidad genética:** el estudio EMPOWER también demostró la necesidad de estratificar pacientes basándose en los perfiles moleculares. Por ejemplo, existen amplias diferencias en los perfiles de citoquinas de distintos pacientes. La selección de la cohorte en un ensayo clínico debería basarse en la comprensión de los mecanismos de acción del fármaco y la subsiguientemente correcta estratificación de los pacientes. Sandrock subrayó la necesidad de biomarcadores con los que se pudieran evaluar los efectos de un fármaco, la confrontación de dianas y las respuestas farmacodinámicas en base a su estudio personalizado en cada paciente de forma independiente. Puesto que esto es un punto tan crítico para evaluar si el fármaco tenía o no el efecto pretendido de tratar la ELA, Sandrock defiende la priorización de estudios de biomarca-

dores humanos tanto en LCR como en sangre por encima de los estudios en animales.

Otros biomarcadores importantes para la realización de ensayos clínicos en ELA serían lo que fueran capaces de medir la progresión de la enfermedad, que permitan ensayos en fase temprana a mucha menor escala y mucho más rápidos (con una duración temporal mucho más corta). Tales biomarcadores necesitarían ser más sensibles que específicos, tener una elevada fiabilidad en los estudios continuados, y ser efectivos y fáciles de utilizar. Además, necesitarían detectar la pérdida de neurona motora y correlacionarse con la escala ALSFRS. En la actualidad, de acuerdo con Sandroock, el candidato más probable sería la miografía por impedancia eléctrica (EIM), desarrollada por Seward Rutkove del Centro Médico Diácono de Israel Beth en Boston, Massachusetts.

**Calidad del fármaco:** es esencial reducir el riesgo global del tratamiento. Para pequeñas moléculas, asegurar la calidad incluiría sensibilidad y especificidad, rango metabólico, medidas farmacocinéticas en dos especies, solubilidad, modulación en los canales cardiacos y niveles de unión proteicos. En conclusión, el Dr. Sandroock enfatizó su punto de vista en los componentes esenciales necesarios para el éxito de un fármaco en la ELA:

1. Óptimas cualidades farmacológicas
2. Variedad de biomarcadores informativos y relevantes que midan la progresión de la enfermedad, la confrontación de dianas y la respuesta biológica
3. Diseño experimental informativo con grupos homogéneos para extender posibles diferencias clínicas y genéticas
4. Dianas terapéuticas prometedoras derivadas de los estudios genéticos

Sandroock finalizó con un mensaje optimista – todas estas áreas han sufrido enormes avances en los últimos años y hay una mejora significativa en todos los frentes que acabamos de desenmarañar.

## UN ESTUDIO DEL EXOMA INTERNACIONAL SEÑALA A LA TUBULINA COMO UN GEN RESPONSABLE DE LA ELA

**El último estudio presentado en el CONGRESO INTERNACIONAL de ELA-ENM en Bruselas en la sesión de clausura, fue el siguiente artículo, el cual es considerado como un gran paso adelante en el hallazgo de nuevos genes relacionados con la ELA, que permitirán localizar con mucha mayor fiabilidad, dianas estratégicas para posibles fármacos y terapias en ELA.**

Un nuevo tipo de análisis genético ha dado lugar a la identificación de un gen que contribuye al riesgo de padecer esclerosis lateral amiotrófica. Como se ha publicado el 22 de octubre en Neuron, genetistas analizando los exomas de casos de ELA y controles hemos encontrado que las personas con la enfermedad eran mucho más propensas a contener variantes en el gen de la tubulina alpha 4A (TUBA4A). El laboratorio de la Unidad de ELA del Hospital 12 de Octubre de Madrid, ha participado en este estudio activamente, en este proyecto continuado de búsqueda de las características genéticas de pacientes con ELA familiar y esporádica, y también mediante el estudio de los acúmulos proteicos que aparecen en las necropsias de pacientes positivos para las mutaciones halladas.

Tradicionalmente, una forma por la que los genetistas encontraban nuevos genes relacionados con la enfermedad era mediante el análisis de grandes familias afectadas. Recientemente, en marzo de este año, varios grupos de investigación de Italia y Estados Unidos utilizaron este método para encontrar mutaciones en Matrín 3, una proteína de unión al ADN y al ARN, que se asocia con la ELA. Sin embargo, en los laboratorios de genética de ELA, ya se había estudiado la mayoría de las grandes familias estadounidenses y europeas con ELA por lo que se decidió utilizar una estrategia alternativa. El presente estudio internacional es uno de los primeros en basarse en un método llamado análisis de variantes raras de todo el exoma (o secuenciación exómica). La secuenciación exómica es el estudio de las variaciones (mutaciones y polimorfismos) por raras que sean, que aparecen en las secuencias de ADN que dan lugar a las proteínas del organismo. Mediante este tipo de análisis, lo que se hace es secuenciar sólo las partes del genoma que codifican por proteínas, dejando el resto del genoma sin analizar (lo que sería la secuenciación del genoma completo).

Esta es una estrategia efectiva para la identifica-



ción de genes relacionados con enfermedad. Sin embargo, esta metodología es difícil de llevar a cabo en enfermedades de inicio tardío como la ELA, con una edad de inicio media en torno a los 55 años. En el caso de este tipo de patologías, la disponibilidad de muestras de ADN es limitada en miembros familiares con suficiente información veraz. Por ejemplo, los familiares pueden haber tenido la enfermedad hace más de 10 años, y por tanto no se dispone de muestras, o pueden haber fallecido por causas diferentes, en un momento previo a haber padecido la ELA.

Con el fin de superar este inconveniente, se trabajó en común, diferentes laboratorios de referencia de Europa y EE.UU., habiendo desarrollado un amplio estudio exómico de 363 casos índice con ELA familiar (ELAF). Para encontrar los genes que varían más en la ELA, se comparó las secuencias con 4300 exomas de controles sanos de las bases de datos del Instituto Nacional de Salud americanas, juntas con controles de las diferentes etnias de pacientes de los laboratorios que habían entrado a formar parte del estudio (entre ellos España). Para evitar considerar cambios sin efecto en el código genético, limitamos el análisis a las variantes que predijeron que podrían alterar la estructura o función de la proteína, mediante la herramienta bioinformática PolyPhen-2.

Para confrontar los resultados, se utilizó un control positivo al incluir datos de los exomas de personas con mutaciones en los genes ELA conocidos - seis personas con ELA familiar causadas por mutaciones en la superóxido dismutasa 1 (SOD1), y tres personas con mutaciones en la proteína que contiene valosina (VCP). Efectivamente, el análisis de todo el exoma encontró más variación en estos dos genes en los casos de ELA que en los controles. También se identificó Matrin 3 como un gen ELA, además de validar la técnica.

Por otro lado, mediante el análisis se identificó un nuevo gen candidato para la ELA: TUBA4A. Ningún control portaba variantes de TUBA4A que pudiera predecir una proteína errónea, pero cuatro casos ELA si lo hicieron. Para comprobar sus resultados, se repitió el análisis en un nuevo conjunto de datos con 272 casos familiares de ELA y 5.510 controles. Una vez más, TUBA4A destacaba. Se encontraron dos variantes en las personas con ELA, y dos en un grupo control mucho mayor, lo que indica una frecuencia más alta de variación en las personas con la enfermedad.

El estudio se centraría ahora en averiguar cómo la tubulina encaja en la patogénesis de la ELA, y en evaluar el gen TUBA4A en cohortes adicionales de pacientes con ELA.

Además, en este mismo estudio se han identifi-

cado un conjunto de genes que se enriquecieron en los casos de ELA, pero que no pasaron las pruebas estadísticas de significación. Entre estos se incluye STK24, que participa en la apoptosis, y LRRFIP1, una proteína de unión a ADN y ARN. Con el análisis de más casos, esos genes podrían ser importantes. De hecho, ni VCP ni Matrin 3 fueron estadísticamente significativos en esta cohorte. En total se encontraron siete variantes TUBA4A diferentes en las personas con ELA familiar. Seis de ellas se predijo que dañaban la proteína. En una persona con ELA esporádica se localizó también una octava variante, una valina en lugar de una glicina en la posición 43. PolyPhen-2 predijo que esta sustitución era poco probable que modificase la función de la proteína. Una de las seis variantes disfuncionales propuestas también se encontró en exomas control, mientras que otra se mostró en una persona con ELA familiar, pero no en su primo, que también tenía la enfermedad. Estas dos variantes podrían ser neutras.

La mayoría de las variantes se produjeron en el extremo carboxilo de la proteína, que contactan con otras subunidades de tubulina y proteínas asociadas, tales como las quinesinas.

TUBA4A codifica uno de las ocho  $\alpha$ -tubulinas humanas, que se polimerizan con  $\beta$ -tubulinas para constituir el citoesqueleto de microtúbulos. TUBA4A se expresa altamente en el cerebro. Estas mutaciones podrían tener un efecto negativo dominante, al interferir con el montaje o la estabilidad de la red de microtúbulos, por lo que el grupo del Dr. Landers en Worcester, MA, decidió estudiar la dinámica de los microtúbulos de varias de las variantes en neuronas motoras primarias de ratón. Los resultados indicaron que en el caso de TUBA4A de tipo salvaje (no mutante) y con la mutación G43V los microtúbulos ensamblaron normalmente. Las otras variantes no se integraron en los microtúbulos de manera eficiente y, a diferencia de la tubulina normal, aparecieron difusamente por todo el citosol. Un mutante de codón de parada prematuro, triptófano-407-X, no formaba parte de los microtúbulos, y en muchas células sí que formaba parte de las inclusiones citoplasmáticas ubiquitinadas.

Algunos de los mutantes también desestabilizaban los microtúbulos del citoesqueleto, e interferían en el ensamblaje del centrosoma, centro organizador de microtúbulos en la célula. Los autores concluyeron que las variantes de TUBA4A asociadas a la ELA debilitan la red de microtúbulos, y especularon con que los mutantes podrían obstaculizar la incorporación de tubulina o enlentecer el crecimiento microtubular. El autor principal, John Landers, de la Escuela de Medicina de la Universidad de Massachusetts (UMass) en Worcester se muestra con cautela,

al considerar a TUBA4A un factor de riesgo, pero no necesariamente un gen causante. Aunque la evidencia es fuerte, se necesitaría un estudio independiente dirigido a TUBA4A para confirmar la asociación. TUBA4A se une a otro grupo de genes relacionados con el citoesqueleto que han sido implicados en la neurodegeneración previamente, reforzando la teoría de que existen puntales y vigas celulares que mantienen las neuronas sanas. Existe un precedente de genes del citoesqueleto involucrados en neurodegeneración. Al menos otras siete tubulinas se han relacionado con tubulopatías neurológicas y algunas proteínas asociadas a los microtúbulos también se han implicado en enfermedad neurológica. Las mutaciones en espastina causan paraplejia espástica hereditaria y mutaciones en tau causan algunos casos de demencia frontotemporal (DFT). DFT y ELA comparten genes de la enfermedad, y las personas con una enfermedad a menudo presentan síntomas de la otra enfermedad. En particular, dos de los casos de ELA en el estudio también mostraron demencia por lo que podría valer la pena la búsqueda de mutaciones TUBA4A en personas con DFT.

#### Referencias:

**Smith BN, et al. "Exome-wide Rare Variant Analysis Identifies TUBA4A Mutations Associated with Familial ALS". *Neuron*. 2014 Oct 22;84(2):324-31.**  
**Alberto García Redondo. Responsable laboratorio estudios genéticos de ELA, enfermedades raras y neuromusculares. Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid).**

---

## SESIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA

Se presentaron en el Symposium 6 sesiones de Epidemiología:

**1.- "Genética y Fenotipos de la ELA en China",** del Union Medical College Hospital de Pekín, China. El objetivo de este estudio es determinar la distribución de las mutaciones genéticas más frecuentes en enfermos de ELA en China. En total se han incluido 455 pacientes procedentes de 10 Hospitales en 7 ciudades de China. El gen mutado más frecuente es el SOD1 con mutaciones en C6, C16, V29, H46 y L84 siendo el más prevalente en la población China con ELA. Concluyen que existen diferencias demográficas, por ello las mutaciones genéticas más frecuentes son distintas entre las poblaciones de China, Asia, Europa y Estados Unidos.

**2.- "Asociación entre el Servicio Militar y ELA",** presentada por autores americanos de la Escuela de Salud Pública de Harvard y del Hospital General de Massachusetts, Boston. Para ello han diseñado un estudio de cohorte desde 1973 al 2002, con población representativa americana, en total 696.743 hombres y 35.227 mujeres con datos del servicio militar. En este grupo fallecieron 375 hombres y 96 mujeres por ELA. Concluyen que los hombres con servicio militar presentan un incremento de muertes por ELA, comparado con los hombres que no han realizado dicho servicio, pero este incremento se ha observado sólo entre aquellos veteranos que sirvieron durante la segunda Guerra Mundial, no pudiéndolo confirmar en otros periodos.

**3.- "Asociación entre Diabetes Mellitus y ELA en población sueca",** parte de las alteraciones metabólicas en pacientes con ELA e intenta examinar la relación entre diabetes y ELA, así como el potencial impacto de la insulina dependencia y la duración de la diabetes. Se realizó un estudio casos control con 5.108 casos de ELA y 25.540 controles, en el periodo 1991-2010. Se ha visto una "asociación inversa entre diabetes y ELA", siendo la diabetes como un factor protector. Este efecto es edad dependiente; la asociación inversa se ha visto sólo entre individuos de 70 o más años, pero en sujetos de menos de 50 años con diabetes insulino dependiente, hay un alto riesgo de ELA, en concreto de 5,38 veces más.

**4.- "Los Traumatismos Craneales no cambian la progresión de enfermedad o manifestaciones neuropatológicas en la ELA".** Universidad de Emory, Atlanta, USA. Los traumatismos craneales se han examinado como un factor de riesgo en el desarrollo de la ELA. Se han estudiado individuos con antecedentes de este tipo de traumas con pérdida de conocimiento o que hayan requerido hospitalización, antes de un año del diagnóstico de ELA. Se ha concluido que no existe asociación entre este tipo de daños y la progresión a ELA.

**5.- "Predictores Pronósticos en ELA".** Instituto de Ciencia Biomédicas y Hospital Beaumont de Dublin. Universidad de Torino, Italia. Los autores han desarrollado un algoritmo basado en información clínica recogida la primera vez que es evaluado un paciente con ELA. Se han seguido 326 casos de ELA. Se han demostrado como factores predictores de supervivencia la edad de inicio de síntomas, la forma clínica (bulbar o espinal) con compromiso respiratorio, y la rápida evolución

desde la primera evaluación. Este algoritmo ha permitido clasificar a los pacientes en tres categorías: alto, moderado o bajo riesgo. Ello permitirá una planificación de cuidados de forma individual para cada paciente desde su diagnóstico.

**6.- "Validación de una Escala de Supervivencia en pacientes con ELA".** Centro Clínico NEMO, Milán, Italia. El objetivo de este estudio es identificar factores pronósticos de supervivencia, creando y validando una escala para pacientes con ELA. Se han analizado no sólo variables personales, sino también antecedentes familiares y resultados analíticos. La muestra estudiada ha sido de 298 casos. Han concluido que la ELA tiene una considerable variabilidad en su evolución y estos factores pronósticos no se han definido de forma satisfactoria, aunque debido a su viabilidad puede ser empleado para estimar supervivencias en enfermos de ELA de forma rutinaria en el contexto clínico o de investigación.

---

## DIAGNOSIS/PROGNOSIS.

El Dr. M. Benatar, de la Universidad de Miami en su conferencia **"El reto de una intervención temprana en ELA"**, expuso que desafortunadamente el tiempo medio de demora diagnóstica es entre 10 y 12 meses, debido al periodo que el paciente pasa con especialistas no neurólogos, falta de información de la comunidad médica, retrasos en la realización de pruebas diagnósticas y a la dificultad que tienen algunos médicos para comunicar malas noticias como es un diagnóstico de ELA. Por lo cual el tratamiento es iniciado, a menudo, relativamente tarde en el curso de la enfermedad. Existen evidencias de una fase preclínica en la cual la pérdida de motoneuronas es equilibrada por la reinervación colateral de motoneuronas no afectadas, seguida por las manifestaciones clínicas (síntomas y signos en la exploración física), finalizando con la muerte del paciente.

Es vital un adecuado manejo de esta fase preclínica donde hay sospechas de ELA, porque condicionará la calidad de vida del paciente, evitando peregrinajes por diferentes consultas, mayor sufrimiento y la posibilidad de participar en ensayos clínicos.

Existe también evidencia de la enfermedad pre-sintomática, la cual se caracteriza por la ausencia de síntomas y la escasez de los signos físicos de la enfermedad. La detección de la enfermedad pre-sintomática, se podría conseguir a través de marcadores biológicos de la enfermedad subyacen-

te. Actualmente, no existen biomarcadores fiables de la enfermedad, su búsqueda es intensa, las pruebas de neuroimagen, pruebas neurofisiológicas y análisis bioquímicos de fluidos biológicos son biomarcadores muy prometedores. Es importante destacar que la baja incidencia de ELA hace poco práctico el uso de biomarcadores pre-sintomáticos. Estos biomarcadores podrían ser utilizados en individuos con un riesgo relativo alto de desarrollar una ELA. Los únicos factores de riesgo demostrados hasta ahora son la edad, tener una mutación genética patogénica o antecedentes familiares de la enfermedad, o pertenecer a la etnia de los indios chamorros de Guam.

Existe necesidad urgente de desarrollar biomarcadores, tanto para ayudar al diagnóstico precoz de la ELA en pacientes que son atendidos al inicio de enfermedad, como para el estudio de la enfermedad pre-sintomática. Estos esfuerzos combinados ofrecen la mejor esperanza para un buen tratamiento sintomático temprano e incluso para la prevención de la enfermedad.

La reducción de la demora en el diagnóstico y una mayor formación de los profesionales sobre el período pre-sintomático, representan desafíos críticos, pero también oportunidades para la intervención de procesos terapéuticos.

El Dr. S. Tabrizi de Inglaterra, contribuyendo a la **investigación de enfermedades pre-sintomáticas**, presentó estudios actuales en la Enfermedad de Huntington (HD), enfermedad neurodegenerativa, hereditaria autosómica dominante y devastadora para la cual actualmente no existe una terapia. La previsibilidad genética de la HD ofrece una oportunidad para una intervención terapéutica temprana muchos años antes de la aparición de los síntomas y en un momento en reversión o prevención de la disfunción neural que todavía puede ser posible. Esta fase de síntomas pre-manifiestos largos, está emergiendo como un posible modelo para el estudio de la intervención terapéutica en otras enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson enfermedades en la que no existen pruebas de diagnóstico preclínicos. El objetivo es entender la preclínica y fases tempranas de la neurodegeneración, correlaciones fenotípicas de disfunción neuronal y establecer marcadores clínicos y biológicos de progresión de la enfermedad sensibles y específicos. La comprensión de la patogénesis de la HD está evolucionando y hay un número de agentes terapéuticos candidatos con potencial de efectos modificadores de la enfermedad que se están probando actualmente.

Otro estudio australiano muy interesante, fue presentado por el Dr. N. Geevasinga, sobre **excitabilidad cortical en pacientes con ELA Familiar**. En el mismo se han encontrado diferencias entre portado-



res asintomáticos y pacientes con ELA Familiar con la **expansión C9ORF72**. La hiperexcitabilidad cortical es una característica del proceso fisiopatológico en pacientes con la expansión del gen C9ORF72, posiblemente este proceso está presente en los pacientes con ELA Familiar. Sin embargo los portadores asintomáticos no presentan hiperexcitabilidad cortical. Por tanto, es posible que existan factores adicionales que participen durante el curso de la vida de un portador asintomático, que va a desencadenar el proceso de hiperexcitabilidad. Los pacientes con ELA familiar con la expansión gen C9ORF72 y pacientes con ELA esporádica comparten un proceso fisiopatológico común de hiperexcitabilidad cortical. Las mismas características se ven en pacientes con la mutación SOD1. Es importante dilucidar si la hiperexcitabilidad cortical es parte de una vía final común o parte del inicio de un proceso fisiopatológico. Posiblemente este hallazgo pueda ser una posibilidad para la adaptación de terapias eficaces en el futuro.

---

## CUIDADOS EN LA ELA.

Se presentó un estudio realizado en la Universidad de Sheffield (UK) sobre **el impacto que produce la debilidad del cuello y la experiencia que tienen los pacientes con ELA con el uso de los collarines disponibles en el mercado**, concluyendo que los pacientes no llegan a satisfacer sus necesidades, abandonando estas ortesis para el cuello por ser un dispositivo insatisfactorio.

Las quejas sobre los collarines más usados están basadas normalmente, en la fijación inadecuada del cuello, proporcionan poco apoyo, demasiada rigidez, incomodidad, no siempre tienen el tamaño adecuado, dificultades para comer, beber y pacientes con sialorrea.

La necesidad del collarín además de la posibilidad de la evitación del dolor del cuello y la espalda, les permite mejores interacciones sociales (pueden mirar a la cara al interlocutor), y paliar problemas cuando viajan o caminan.

Los participantes describieron el considerable impacto diario que significa en su vida la debilidad del cuello. Lo que sugiere que el apoyo del cuello debe ser visto como un área prioritaria dentro de la atención para las personas con ELA. Es necesario diseñar un plan individualizado por un profesional que conozca la enfermedad, posibilitando la mayor comodidad posible para el paciente. Actualmente el mercado existente en este tipo de apoyos tiene limitaciones para ofrecer los collarines más adecuados, por lo que muchos de los pacientes aceptan el

dispositivo que les ofrecen, sin ser el más idóneo para resolver sus problemas.

En este Symposium se volvió a hablar de lo importante que es prestar atención en los **síntomas de dolor que presenta el paciente que sufre ELA**. Se ha considerado la ELA como un trastorno indoloro, sin embargo, estudios recientes han demostrado que el dolor es más frecuente de lo que se cree, normalmente no consta esta información en la literatura, pero si en la información que da el paciente o el familiar en la consulta. En fases terminales puede afectar hasta a un 70% de los pacientes. El dolor de tipo musculoesquelético es secundario a la atrofia, a la persistencia postural, al tono alterado periarticular, a las contracturas musculares y a las deformidades y rigideces articulares.

El Dr. Z Simmons de USA presentó un estudio del dolor en la ELA, en el cual describe que el dolor es un componente significativo en la ELA. Más de la mitad de los participantes del estudio (319) informaron que tenían síntomas de dolor de moderada severidad, interfiriendo en la vida diaria. Más del 80% de los encuestados estaban adoptando medidas para controlar el dolor, y se encontraban satisfechos con el resultado y un 20% necesitaba medicamentos más fuertes. Una pequeña parte de los participantes estaban preocupados por el uso excesivo de medicamentos para el dolor. Este estudio ha puesto de relieve de forma llamativa, que en general, los participantes utilizaban tratamientos no farmacológicos para el alivio del dolor.

Como tratamiento se debe establecer un buen programa de fisioterapia que ayude a evitar muchos de estos síntomas. En el caso del hombro congelado, el dolor puede ser muy intenso, por lo que es mejor prevenirlo con movimientos pasivos de recorrido articular.

---

## FINAL DE LA VIDA.

Debate sobre la muerte asistida: **“¿Es la muerte asistida realmente la solución o una situación difícil al fin de la vida en la ELA?”**, presentado por importantes investigadores como son el Dr. G. Borasio (Italia), L. Van Den Berg (Holanda) e I. Finlay (UK). En la presentación de este debate se presentó el caso de Diane Pretty, una mujer británica de Luton que se hizo notable por haber sido objeto de un debate acerca de las leyes de la eutanasia en el Reino Unido durante la primera parte del siglo XXI. Ella intentó cambiar la ley británica para poder acabar con su propia vida a causa de los dolores y problemas que tuvo que soportar por la ELA. El mensaje

de la paciente era: "quiero tener una muerte rápida e indolora, en mi casa y rodeada por mi familia". Pretty había sido diagnosticada de Enfermedad de la Motoneurona varios años antes. Con el tiempo, la enfermedad previsiblemente empeoró y le hizo imposible moverse o comunicarse con facilidad, a pesar de que sus facultades mentales se mantuvieron normales. La enfermedad provocó que tuviera que ser atendida durante todo el día por su marido y por enfermeras contratadas. Esto significaba que ella no podía suicidarse, como había manifestado que habría hecho de tener capacidad para ello. Esta mujer declaró su deseo de que se le permitiera a su marido ayudarla a poner fin a su vida, pero esto es clasificado como «suicidio asistido», que en Reino Unido es un delito en virtud de la Ley de Suicidio de 1961. Como el suicidio es una opción legítima para los que pueden llevarlo a cabo, se podría argumentar que el impedir esa opción a los discapacitados sería discriminación, la cual es ilegal tanto en Reino Unido como en la legislación europea. Por lo tanto, ayudar a suicidarse a alguien que no puede suicidarse no se considera un «servicio» del que el discapacitado pueda ser privado. Sin embargo, ninguno de estos argumentos se sostuvieron ante los tribunales. Pretty presentó su caso ante la Corte haciendo uso de la Ley de Derechos Humanos y argumentó que el Director del Ministerio Público debía comprometerse a no procesar a cualquier persona involucrada en ayudarla a morir. Los tribunales británicos no aceptaron los argumentos de Pretty. Finalmente la Cámara de los Lores, el máximo tribunal británico en ese momento, desestimó su caso. El Tribunal Europeo de Derechos Humanos se negó a reconocer que el Convenio Europeo sobre Derechos Humanos contempla el derecho a morir, por lo que la apelación de Pretty ante esta Instancia también falló. Diane Pretty murió el 11 de mayo de 2002, a los 43 años, cuando su salud se había deteriorado de manera gradual e inexorable debido al curso de la ELA en los últimos meses.

La progresión implacable de la ELA, con las funciones cognitivas intactas en la mayoría de los pacientes, proporciona el telón de fondo para los escenarios al final de su vida que son percibidos por algunos pacientes como potencialmente causa de sufrimiento insoportable.

En aquellos países donde sus jurisdicciones permiten la "Muerte Asistida", la proporción de los pacientes con ELA que recurren a esta opción ocupa un perfil alto y destacado de solicitudes de muerte asistida respecto a todas las enfermedades registradas, quedando demostrado que los deseos para acelerar la muerte son frecuentes en pacientes con ELA. Países como Francia e Inglaterra y algunos

Estados Americanos, están actualmente debatiendo la posibilidad de introducir una legislación que permite "la Muerte Asistida", tal como Quebec lo ha hecho recientemente. Actualmente es frecuente ver casos de ELA presentes en los debates políticos sobre este tema tan controvertido.

En esta sesión, se presentó y se discutió diferentes puntos de vista sobre Eutanasia Activa y Muerte Asistida. La Eutanasia Activa, es el acto en el que un médico administra una droga letal a un paciente que lo pide. En la Muerte Asistida, el propio paciente se administra la medicación letal prescrita por un médico.

Ambas son legales sólo en tres países en todo el mundo: Holanda, Bélgica y Luxemburgo. El Suicidio Asistido es legal en Suiza y en tres estados de EEUU: Oregón, Montana y Washington.

El Dr. Van Den Berg presentó en este debate, información contrastada sobre las tasas de eutanasia y Suicidio Asistido en su país (Holanda), los datos son ahora similares a los de antes de la legalización de estas prácticas en 2002: alrededor del 3% del total de fallecimientos. La legalización no aumenta el número de muertes.

Explican los autores en *The Lancet* "En los Países Bajos la ley de la eutanasia ha dado lugar a una práctica relativamente transparente. Aunque trasladar estos resultados a otros países no es sencillo, sí pueden ser útiles para ilustrar el debate de la Muerte Asistida en otros países".

Actualmente, la atención paliativa en la ELA tiene la mejor intervención oportuna con respecto a todos los trastornos neurodegenerativos. La calidad de los cuidados ha mejorado desde la legalización del Suicidio Asistido. Corresponde al equipo de Cuidados Paliativos o equipo multidisciplinar que atiende a los pacientes con ELA, mejorar la calidad de vida y aliviar su sufrimiento lo más pronto posible, no tomar decisiones por el paciente, sino más bien informar sobre las diversas opciones paliativas y ofrecer apoyo, en especial en circunstancias muy difíciles. Es ético y de vital importancia cumplir las voluntades anticipadas del paciente, fundamentales al final de su vida. La autonomía y la benevolencia no son mutuamente excluyentes sino complementarias. Los profesionales de la salud como las instituciones sanitarias han de tomarse en serio sus obligaciones para planificar las elecciones y necesidades de los pacientes.

---

## REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD PARA LA NEUROCIENCIA. WASHINGTON, NOVIEMBRE 2014.

---

### SEMINARIO SOBRE EL AVANCE EN LA GENÉTICA EN ELA Y LA DFT: INTEGRACIÓN E INTERCAMBIO DE DATOS.

Comprender cuál es la mejor manera de usar y compartir la gran cantidad de datos emergentes de ELA fue el tema clave de los seminarios sobre el avance en la Genética de la ELA y la DFT patrocinados por el Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Accidentes Cerebrovasculares, la Asociación para la degeneración frontotemporal, la Sociedad de Neurociencias americana conjuntamente con ALSA (Asociación Americana de ELA). Este evento fue celebrado en Washington.

Los datos genéticos, a partir de muestras de tejidos, y los datos de visitas clínicas pueden dar pistas importantes sobre las causas de la ELA sobre cómo avanza, y sobre qué es lo que determina la aparición y el desarrollo de la enfermedad. Los datos se consideran cada vez más importantes para la búsqueda de nuevos tratamientos para la ELA. En este sentido, uno de los objetivos clave de la reunión fue el de promover asociaciones y colaboraciones para aumentar el intercambio de datos.

El intercambio de datos es especialmente importante en la búsqueda de nuevos genes que causan la ELA, en especial tras el descubrimiento del gen C9orf72, que puede causar tanto ELA como demencia frontotemporal (DFT). Los investigadores especializados en ELA tienen mucho que aprender de los especializados en DFT y viceversa. Buscar en el genoma los genes que contribuyen al riesgo de ELA depende de tener miles de muestras, por lo que una "señal" genética débil, pero importante, puede elevarse por encima del "ruido" de fondo. Gran parte de la reunión se dedicó a discutir cómo los grupos buscan nuevos genes en ELA que puedan funcionar juntos, y cómo los médicos pueden acelerar sus esfuerzos, a través de una cuidadosa documentación de importantes variables del paciente, como la fuerza y la función respiratoria en cada visita clínica. Cuando estos datos de cientos o miles de personas con ELA se combinan, pueden ayudar a los investigadores a entender mejor cómo los genes específicos contribuyen a la progresión o protección de la enfermedad.

La Asociación americana de ELA apoya varias redes para el descubrimiento de genes y el fomento del intercambio de datos entre ellos, los esfuerzos han empezado a dar sus frutos en el descubrimiento de nuevos genes de riesgo para la ELA. Será necesario seguir trabajando para dar pasos aún más grandes en la comprensión de la ELA. Ese trabajo se está llevando a cabo por consorcios nacionales e internacionales, que incluyen el Proyecto MinE, el Proyecto de 1000 exomas, el Consorcio de Genética Biogen Idec, el Consorcio Europeo de Demencia de Inicio precoz, la Colaboración NIA-Europea, la Iniciativa Genética de DFT y la Clínica Mayo.

La ELA fue un tema clave en la reunión de la Sociedad de Neurociencia con docenas de nuevos resultados de investigación presentados a lo largo de cinco días. Entre los trabajos más destacados se encuentra la presentación de Ke Zhang de la Universidad Johns Hopkins, que mostró que la mutación del gen C9orf72 causa una deslocalización de una proteína clave llamada RanGAP, fundamental para el transporte de muchas proteínas diferentes dentro y fuera del núcleo de la célula. Los esfuerzos para restaurar RanGAP a un lugar apropiado en la célula pueden ser terapéuticamente valiosos.

El espectro completo de la investigación sobre C9orf72 se exploró en otras sesiones que describían los últimos avances en la genética, la patogénesis y los biomarcadores derivados del descubrimiento de la relación de este gen con la ELA. Entre los avances discutidos fue el potencial de las denominadas proteínas RAN como biomarcadores de progresión de la enfermedad. Estas proteínas inusuales se obtienen a partir del gen mutante y se pueden detectar en el líquido cefalorraquídeo. Leonard Petrucelli, Ph.D., de la Clínica Mayo de Jacksonville, publicó que los niveles de una proteína RAN particular, aumentaron con el tiempo en seis personas con ELA. Si este hallazgo se confirmase en grupos de personas más numerosas, podría ser útil al correlacionarlo con la progresión de la enfermedad y poder emplearlo potencialmente como marcador en terapias anti-C9.

Fue también de gran interés el trabajo presentado por Yvette Wong, de la Universidad de Pensilvania, que mostró que la proteína optineurina, cuyas mutaciones causan ELA, interactúa con la proteína parkina, cuyas mutaciones causan la enfermedad de Parkinson. Ambas proteínas están involucradas en el reciclaje de componentes celulares dañados. El hecho de que estas dos proteínas funcionen juntas y que cada una cause una enfermedad neurodegenerativa cuando

muta, sugiere que esta vía puede ser crítica para la prevención de la pérdida de neuronas.

Mahmoud Kiaei de la Universidad de Arkansas, describió un nuevo modelo de ratón ELA basado en el gen mutante profilina, una causa recientemente descubierta de ELA familiar. La profilina es una proteína que ayuda a construir el citoesqueleto, la estructura interna proteica de las células, le permite moverse y transportar materiales dentro de ella. Previamente se habían implicado defectos del citoesqueleto en la ELA, fortaleciendo el interés en el gen recién descubierto.

De hecho, el tema principal de gran parte de los nuevos aspectos científicos presentados fue el desarrollo e investigación de nuevos modelos, cada uno de los cuales ofrece algo único en la comprensión de algún aspecto del proceso de la ELA. Los nuevos trabajos se obtuvieron de modelos de ELA con células madre pluripotentes inducidas (células iPSCs), junto con el estudio de nuevos genes en gusanos y modelos de ratón. El análisis conjunto de los diferentes modelos permite entender la contribución de los distintos procesos en la enfermedad.

Otros estudios relacionados con la ELA examinaron el papel de los genes de ELA en la reparación del ADN, las contribuciones del sistema inmune a la progresión de la enfermedad, el mecanismo de genes potencialmente protectores en la ELA, y la búsqueda de otros indicios clínicos y celulares para predecir la progresión de la enfermedad.

#### Referencias:

**"Advances in ALS and FTD Genetics Workshop: Report from the Society for Neuroscience Meeting". ALS Association. 24 de Noviembre de 2014. <http://www.alsa.org/news/archive/advances-in-als-and-ftd-workshop-1.html>**

---

## LOS EXOSOMAS: ¿EL FEDEX DEL SISTEMA NERVIOSO?

A parte de las vesículas sinápticas, los científicos están empezando a considerar que las células del sistema nervioso también transmiten información a través de un diferente tipo de receptáculo.

En la Reunión Anual de la Sociedad para la Neurociencia, celebrada del 15 al 19 de noviembre en Washington, los investigadores analizaron los últimos hallazgos sobre los exosomas, diminutos paquetes de material celular que pasan entre las células. Parece que las células neurogliales del cerebro los utilizan como paquetes de asisten-

cia. Los astrocitos empaquetan exosomas con ARN mensajeros específicos y luego los envían a las neuronas, que los absorben y expresan los transcritos. Sin embargo, algunos de los paquetes portan malas noticias: los glioblastomas utilizan exosomas para suprimir el sistema inmune del cerebro, permitiendo que el tumor progrese. En la comunidad neurocientífica se acabará imponiendo ésta relativamente nueva forma de comunicación, los exosomas van a cambiar completamente la visión de cómo las células en el sistema nervioso interactúan entre sí. Podría llegar a ser importante en la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas, donde han aparecido pruebas de que los exosomas pueden transportar e incluso producir péptidos tóxicos como  $\beta$ A y  $\alpha$ -sinucleína.

Todas las células del sistema nervioso secretan exosomas. Estas pequeñas vesículas de 50-100 nm se forman cuando la membrana de endosoma maduro se invagina, a continuación, se estrangula para constituir una pequeña vesícula dentro del lumen del endosoma. Esto puede ocurrir muchas veces, convirtiendo el endosoma en un cuerpo multivesicular. Estos se funden con los lisosomas, depositando las vesículas en un ambiente ácido, lo que las degrada. Sin embargo, si un cuerpo multivesicular a su vez se fusiona con la membrana plasmática, las vesículas intraluminales escapan hacia el espacio extracelular como exosomas. Los exosomas pueden contener cualquiera de las moléculas que se encuentran en los endosomas, incluyendo proteínas y lípidos, incluso ARNs específicos de la célula que los liberó. Los exosomas liberan a la célula de desechos, pero no toda su carga se pierde. Con el descubrimiento de que los exosomas contienen ARNm, los científicos se dieron cuenta de que estas vesículas también podrían transferir información entre células en el sistema nervioso.

Se está tratando de averiguar cuál de los componentes que portan el exosoma son claves para su comunicación. Las células de Schwann son células gliales que acogen a axones maduros en el sistema nervioso periférico y envuelven las vainas de mielina alrededor de ellos. Las células de Schwann inhiben el continuo crecimiento de los axones a menos que los axones sufran daños, en cuyo caso las células de Schwann se someten a una especie de reprogramación. A continuación, liberan exosomas que estimulan la regeneración axonal cuando son tomados por las neuronas sensoriales cercanas in vitro. ¿Qué existe en esos exosomas que puede activar a los axones? Se sugiere que es ARN.

Sabiendo que los exosomas contienen ARN

mensajero, se ha empleado secuenciación de alto rendimiento para identificar qué tipo de transcritos podrían estar en estos exosomas de las células de Schwann. Los exosomas son ricos en ARNm que codifica por proteínas implicadas en el montaje, la organización y la regeneración de las células, así como en el crecimiento y la regeneración del axón. Este perfil de ARNm se veía completamente diferente del de las células de Schwann originales. Es muy interesante, porque significa que la célula no está poniendo ARN al azar en las vesículas, sino que está empaquetando transcritos específicos para la exportación. Las células de Schwann concentran el ARNm, por ejemplo, para los neurofilamentos H en sus exosomas. Las células de Schwann en realidad no fabrican esta proteína. Esto significa que las células están produciendo transcritos, poniéndolos en exosomas, y exportándolos sólo para que las neuronas los utilicen.

Los exosomas también contienen micro ARN específicos (miARNs) que parecen prestar ayuda a los axones. Se han identificado 200 genes implicados en la regeneración axonal y en el crecimiento, en análisis in-silico se han marcado 120 de ellos como blancos de los miARNs especiales que se encuentran en los exosomas de las células de Schwann.

Para averiguar cómo estos exosomas afectan a los axones, un grupo de científicos han realizado experimentos sobre neuronas sensoriales en cultivo del ganglio de la raíz dorsal de rata. El aislamiento de estas neuronas dañó sus axones, que comenzaron a regenerarse dos o tres días más tarde. Sin embargo, si los investigadores añadían exosomas de células de Schwann a las neuronas sensoriales, los axones comenzaban a regenerar inmediatamente. El efecto parecía únicamente causado por exosomas de células de Schwann, los exosomas de astrocitos no mejoraron el crecimiento axonal.

En cuanto a las neuronas sensoriales sólo un día después del cultivo, se encontró un perfil único de miARN en las neuronas tratadas con exosomas. Muchos miARNs que predominaron en las neuronas no tratadas estaban ausentes en las tratadas. De hecho, el perfil de miARN de estas últimas se parecía al de las neuronas sensoriales que habían sido dañadas durante el aislamiento y que se regeneraban activamente en el cultivo. Los exosomas de las células de Schwann están activando un conjunto específico de genes en las neuronas. En el futuro, los investigadores podrán ser capaces de utilizar los exosomas para revelar nuevos genes implicados en la regeneración axonal.

De la misma manera que las células de Schwann

proporcionan exosomas para ayudar a las neuronas en la periferia, estudios recientes sugieren que los oligodendrocitos, sus equivalentes del sistema nervioso central, muestran exosomas en neuronas cercanas. Los oligodendrocitos de ratón secretan exosomas en respuesta a la actividad sináptica en las neuronas adyacentes in vitro, las neuronas corticales de ratón tratadas previamente con exosomas de oligodendrocitos activan vías de supervivencia celular y resisten la privación de nutrientes, el estrés oxidativo, y la isquemia. También se activan con más frecuencia. Los exosomas no afectaron el crecimiento del axón, sin embargo, tampoco protegían a las neuronas si se aplicaban después del factor estresante. A diferencia de los exosomas de células de Schwann, éstos no parecen tener potencial regenerativo, sino más bien, neuroprotector.

Eso no quiere decir que los exosomas de los oligodendrocitos no ayuden a los axones. En las neuronas del hipocampo de ratones, los exosomas aceleraron el transporte anterógrado de la carga por el axón y redujeron el número de paradas en el tráfico. Esto sugiere que los oligodendrocitos ejecutan una especie de servicio de "entrega", mediante el cual las neuronas piden a las células auxiliares liberar paquetes de cuidados neuroprotectores. Este puede ser un mecanismo para mantener la integridad a largo plazo de los axones, que se extienden lejos del cuerpo celular nutritivo.

A pesar del crecimiento de los datos in vitro respecto a los exosomas, los científicos todavía tienen que demostrar que funcionan de la misma manera in vivo. Va a ser extraordinariamente difícil de validar estos resultados en el cerebro humano. La gran mayoría de los estudios sobre exosomas se han basado en células cultivadas porque se carece de las herramientas para manipular la liberación de exosomas en animales.

También, se ha publicado que los exosomas constituyen señales entre las células pre y postsinápticas en la unión neuromuscular en el cerebro de la mosca. Esas señales son cruciales para mantener la plasticidad sináptica. Se ha encontrado que las señales wnt que son importantes para el desarrollo del cerebro de la mosca pasan entre neuronas a través de exosomas. Aunque la biología exosoma es probable que se conserve a través de la evolución, todavía se carece de evidencias de su función en el cerebro de los mamíferos.

La mayoría de estos hallazgos suponen un giro positivo a la señalización del exosoma, pero los exosomas no siempre son buenos para el cerebro. Los tumores parecen aprovecharlos para alimentar su crecimiento. Un tumor cerebral



mortal, el glioblastoma multiforme, surge a partir de astrocitos o sus precursores. No se sabe cómo estos tumores son tan agresivos, pero se piensa que las vesículas liberan cebadores al entorno que les rodea para que puedan progresar más rápidamente. Estas vesículas extracelulares incluyen exosomas y microvesículas liberadas directamente de la membrana celular. Los investigadores saben que ayudan a los tumores que desarrollan nuevos vasos sanguíneos y suprimen las células inmunes que podrían frenar los tipos de cáncer. El perfil de ARN dentro de estas vesículas difiere marcadamente de la del tumor original, y las células que toman las vesículas traducen los ARN dentro de ellas.

Recientemente, se ha encontrado que los microARNs miR-451 y miR-21 se enriquecen en vesículas extracelulares a partir de células de glioblastoma multiforme y modifican la microglía cercana. Mientras la microglía cultivada generalmente contiene pequeñas cantidades de estos miARNs, las células rápidamente tomaron exosomas del glioblastoma, elevando los niveles de miR-451 y miR-21. Estos miARNs se dirigen al ARN mensajero del factor de transcripción c-Myc reduciendo sus niveles en los cultivos de microglía expuestos a vesículas tumorales. La regulación a la baja de c-Myc modificaría el crecimiento del tumor, pero podría afectar el sistema inmunológico, dando a las células tumorales rienda suelta para crecer. En un modelo de ratón de glioblastoma, la microglía parecía sentirse atraída por los tumores. Al tomar vesículas derivadas del tumor, aumentaban los niveles de miR-451 y miR-21, mientras que la expresión de c-Myc se reducía.

En general, el panorama resultante es el de vesículas extracelulares que transfieren información a través de la expresión génica y la inducción de nuevas propiedades en las células cercanas. Queda por ver cómo los ARNs se dirigen a vesículas, cómo las células los toman y cómo las moléculas salen de los exosomas, una vez que entran en la nueva célula. Además de eso, el papel que los exosomas desempeñan en la fisiología y la patología está aún por determinar. Los datos convencen de que los exosomas no son sólo una forma por la que la célula dispone de cosas, sino también una forma de pasar mensajes a otras células. Los exosomas será un tema aún más caliente en un futuro próximo debido a que más y más personas están investigando su función biológica. Los científicos estaban especialmente emocionados por la posibilidad de que a través de los exosomas se pueden propagar, e incluso generar, proteí-

nas patogénicas implicadas en enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la Esclerosis Lateral Amiotrófica.

#### **Referencias:**

**Zakaib, GD. "SfN 2014 Part I: Exosomes: The FedEx of the Nervous System? The ALS Forum. 18 de Diciembre de 2014.**

[http://www.researchals.org/page/4831/14198/?utm\\_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+118&utm\\_campaign=Newsletter+Vol+118&utm\\_medium=email](http://www.researchals.org/page/4831/14198/?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+118&utm_campaign=Newsletter+Vol+118&utm_medium=email)

## CLÍNICA

### LA AGREGACIÓN DINÁMICA DE SOD1 SE CORRELACIONA CON ALGUNOS FENOTIPOS CLÍNICOS DE ELA.

Actualmente se han encontrado mutaciones en SOD1, que es el factor más estudiado en la ELA, en una cuarta parte de los casos de ELA hereditaria (ELA familiar) y en un pequeño porcentaje de los casos "esporádicos". La ELA relacionada con el gen SOD1 cuenta con cerca de 200 variantes, cada una asociada a una mutación SOD1 distinta.

Los científicos, sin embargo, aún no están de acuerdo en la forma en que docenas de diferentes mutaciones de la SOD1 conducen a la misma enfermedad. Un nuevo estudio publicado el 14 de octubre en *Proceedings of the National Academy of Sciences* aplica métodos biofísicos sofisticados para examinar cómo mutaciones en la proteína SOD1 afectan a la estabilidad de proteínas y a la dinámica de agregación. Los investigadores, dirigidos por Elizabeth Getzhoff y John Tainer en el Instituto de Investigación Scripps en La Jolla, California, junto con colaboradores de los Laboratorios Nacionales Lawrence Berkeley, en California y la Universidad de Georgia, encontraron que en todas las mutaciones SOD1 analizadas, se incrementó la inestabilidad de la proteína y se redujo la retención de cobre. Curiosamente, las mutaciones SOD1 que llevaron a la agregación más rápida de proteínas también se asociaron con una progresión más rápida de los síntomas clínicos.

Una característica común de las formas de ELA relacionadas con SOD1 es la aparición de agregados de SOD1 en las neuronas motoras afectadas y en sus células de sostén (glía). Los agregados de SOD1 con otras proteínas se encuentran también en las células afectadas, incluso en los casos de ELA que no están vinculados a las mutaciones SOD1.

En el año 2003, basándose en sus otros estudios propusieron la hipótesis del "marco de desestabilización". Según este punto de vista, los genes SOD1 mutantes relacionados con la ELA codifican formas estructuralmente inestables de la proteína. Inevitablemente algunas de estas proteínas SOD1 inestables pierden su plegamiento normal, lo suficiente como para exponer hacia el exterior sus elementos pegajosos que normalmente permanecen ocultos, y comenzar a agregarse entre sí, de forma más rápida de la

que los sistemas de limpieza neuronales pueden mantener, por lo que la acumulación de agregados SOD1 desencadenaría la enfermedad.

Aglutinación más rápida, peor enfermedad  
Para empezar, examinaron cómo la dinámica de agregación de la forma mutante mejor estudiada de SOD1, G93A, difiere de la no mutante, SOD1 normal. Para ello, desarrollaron un método para inducir gradualmente la agregación de SOD1, que se midió con un innovador sistema de imagen estructural llamado SAXS (pequeño ángulo de dispersión de rayos X). De esta manera se pudieron detectar diferencias entre las dos proteínas, incluso antes de que se acelerase el proceso de agregación.

La SOD1 G93A agrega de forma más rápida que la de tipo normal, pero más lentamente que un mutante SOD1 llamado A4V que se asocia con una forma de la ELA que progresa de forma mucho más rápida.

Experimentos posteriores con G93A y otros cinco mutantes G93 (en los que el aminoácido glicina en la posición 93 en la proteína se sustituye con un aminoácido diferente a la alanina) revelaron que los mutantes forman agregados mayores, en forma de varilla, en comparación con la estructura compacta plegada SOD1 de tipo normal. Las proteínas mutantes de SOD1 que formaron más rápidamente agregados mayores fueron de nuevo las que correspondían a las formas de ELA que progresan más rápidamente.

¿Cómo se podría explicar que estos mutantes SOD1 disminuyan su estabilidad? Otras pruebas se centraron en el papel del ión cobre que se incorpora habitualmente dentro de la estructura de la SOD1 y que ayuda a estabilizar la proteína. Mediante el uso de otras dos técnicas, la resonancia de espín electrónico (ESR) y la espectroscopia ICP-MS (ICP-MS), los investigadores encontraron que el mutante G93 de SOD1 presentaba una capacidad normal para captar los iones de cobre, pero tenía una capacidad reducida para retener el cobre bajo condiciones de estrés moderadas y esta capacidad fue menor para los mutantes SOD1 asociados con una ELA más severa.

#### Hacia nuevas terapias

En resumen, los mutantes SOD1-G93 parecen tener estructuras más flexibles, que son más propensas a liberar sus iones de cobre, tener más probabilidades de plegarse mal y permanecer de este modo en los agregados.

Se sospecha que las interacciones anormales de los mutantes SOD1 desencadenan la inflamación y alteran los sistemas ordinarios de tráfico y eli-

minación de proteínas, estresando y finalmente matando las neuronas afectadas. Al definir estas asociaciones defectuosas, se van a poder ir proporcionando nuevas dianas para el desarrollo de fármacos para el tratamiento de la ELA.

Las estrategias para la estabilización de proteínas SOD1 podrían ser útiles en el tratamiento o la prevención de la ELA ligada a SOD1. Si la hipótesis es correcta, las futuras terapias para el tratamiento de la ELA relacionada con SOD1 no necesitarían estar adaptadas a cada mutación individual y podría aplicarse a todos ellos.

#### Referencias:

**Pratt AJ, et al. "Aggregation propensities of superoxide dismutase G93 hotspot mutants mirror ALS clinical phenotypes". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Oct 28;111(43):E4568-76.**

**"Scripps Research Institute Scientists Link ALS Progression to Increased Protein Instability". *Health Canal*. 10 de Octubre de 2014.**

---

## MODELOS MATEMÁTICOS EMPLEADOS EN CÁNCER ARROJAN LUZ SOBRE LAS CAUSAS DE LA ELA.

Aunque el mecanismo de la ELA, que implica la muerte de las neuronas motoras, es diferente al crecimiento incontrolado que experimentan las células que se encuentran en el cáncer, las dos enfermedades comparten características similares. Por ejemplo, una genética compleja en la que los cambios genéticos presentes en el nacimiento sólo se expresan en la vida adulta y una progresión rápida de la enfermedad una vez que aparecen los síntomas tanto en el cáncer como en la ELA. Estas características comunes condujeron a Ammar Al-Chalabi en el Kings College de Londres y Neil Pierce en la Escuela Londinense de Higiene y Medicina Tropical, junto con un equipo internacional de investigadores a adaptar los modelos matemáticos de cáncer para el modelado de la ELA. En el artículo del 07 de octubre del *Lancet Neurology*, los investigadores nos muestran que aplicaron un modelo de múltiples etapas de la ELA sobre los datos epidemiológicos de cinco registros europeos diferentes, y concluyen que la ELA está causada por una secuencia de seis pasos.

Se sabe que la enfermedad de la ELA está causada por una combinación de factores ambientales, estilo de vida y sutiles factores genéticos. Un pequeño porcentaje de los casos (5-10%) se dan en las familias y se conoce como ELA familiar.

Aunque la genética juega un papel más importante en la ELA familiar, esta rara forma de la enfermedad es clínicamente indistinguible de la forma no heredada o esporádica, con una similar progresión de la enfermedad. Debido a que la forma familiar de la enfermedad de la neurona motora se produce por un error genético en un gen causante de ELA que ha estado presente desde el nacimiento, la pregunta "¿por qué la ELA es una enfermedad de aparición en la edad adulta?" ha desconcertado a los neurólogos.

Existen una serie de características en la ELA, que son difíciles de explicar; en primer lugar, la ELA es una enfermedad de inicio en la edad adulta, incluso en los que nacen con una mutación genética que aumenta el riesgo de padecer enfermedad de neurona motora. Muchas personas permanecen sanas en la vejez y nunca desarrollan ELA a pesar de portar mutación. Otros se mantienen completamente bien hasta el inicio aparentemente repentino, por lo general a la edad de 50 a 70 años y una progresión rápida de la enfermedad.

Aplicando un modelo de múltiples pasos sobre la incidencia de la ELA en los registros de base poblacional que cubren un área geográfica y que identifican todos (o casi todos) los nuevos casos que se producen en esa zona; se calcularon las tasas de incidencia (número de casos nuevos por cada 100.000 personas por año) en cada grupo de edad y los investigadores encontraron que el desarrollo de la ELA implica seis pasos diferentes. Esto significa que se necesitan hasta seis factores genéticos, estilo de vida y factores ambientales diferentes para que se desencadene la enfermedad; esto explicaría el inicio en la edad adulta de la enfermedad y por qué algunas personas no llegan a desarrollar la enfermedad de la neurona motora, incluso si han heredado un gen causante de ELA.

Se ha encontrado que la incidencia de ELA es proporcional a la edad en una potencia de 5; esto es consistente con la idea de que el desarrollo de la ELA implica seis pasos diferentes; así que si se hereda un gen que hace más susceptible a la ELA, esto explicaría un único paso; los otros cinco pasos pueden estar causados por (en su mayoría desconocidos) exposiciones ambientales. Cada evento es un paso hacia el desarrollo de la ELA, hasta que el último se traduce en enfermedad. Aunque todavía no se ha podido determinar cuáles son los pasos, al menos uno es probable que sea genético. La siguiente etapa será tratar de identificar los pasos, porque esto ayudará a entender qué causa la ELA, a diseñar tratamientos y a reducir el riesgo de desarrollar ELA en primer lugar.

Es posible que el modelo de cáncer pueda no ser aplicable a la ELA, pero los resultados son asombrosamente consistentes a través de cinco registros europeos diferentes, que forman parte del proyecto Euro-MOTOR para descubrir nuevas causas y vías de modificación de la enfermedad para allanar el camino hacia nuevas terapias. Estos resultados proporcionan argumentos convincentes de que los factores ambientales juegan un papel crucial en la determinación de si la enfermedad se manifiesta, cuándo lo hace y quizás también la rapidez con la que avanza. El principal reto será identificar cuáles podrían ser estos factores, debido a que los estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha no han proporcionado muchos candidatos ambientales convincentes. Estudios internacionales de mayor escala, como el proyecto paneuropeo STRENGTH financiado por JPND serán cruciales para la búsqueda de respuestas, aunque los investigadores también podrán necesitar utilizar métodos completamente nuevos para la realización de estudios de investigación sobre la interacción de los genes y el medio ambiente.

#### Referencias:

**Al-Chalabi, A.** "Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: a population-based modelling study". *Lancet Neurol* 2014; 13: 1108–13  
**Precio, S.** "Lessons learnt from cancer – identifying the causes of MND". 14 de Noviembre de 2014. *MND Research*. <http://mndresearch.wordpress.com/2014/11/14/lessons-learnt-from-cancer-identifying-the-causes-of-mnd/>

---

## FARMACOS, ENSAYOS CLINICOS Y ENSAYOS PRECLINICOS.

---

### LA TERAPIA EN LA ELA SIGUE SIENDO UN RETO.

La investigación en laboratorio y orientada al paciente durante las pasadas dos décadas han conducido a los principales progresos en la comprensión de la patogénesis de la ELA, incluyendo los nuevos genes descubiertos, mejoras en el modelado in vivo e in vitro de la enfermedad, generación de neuronas motoras derivadas procedentes de biopsias de piel del paciente a través de tecnología con células madre pluri-potentes inducidas, descubrimiento de agregados proteicos de TDP-43 en neuronas motora, técnicas de imagen innovadoras, iniciativas de

secuenciación completa del genoma, identificación de endofenotipos y la asociación de la enfermedad con la demencia frontotemporal. El éxito de la campaña Ice Bucket Challenge, que se convirtió en una campaña viral en los medios sociales durante el verano pasado, ha aumentado la conciencia y la financiación para la investigación. Sin embargo, el reto real en los futuros años será traducir todo ello en un tratamiento efectivo para los millares de pacientes con esta enfermedad progresiva.

Un paso esencial en el proceso traslacional hacia un tratamiento efectivo para la ELA es la ejecución de ensayos clínicos bien diseñados. Por ejemplo, en la revista *Lancet Neurology*, Merit Cudkowicz y colaboradores publicaron los resultados de eficacia y seguridad de ceftriaxona para la ELA de un ensayo clínico que emplea un diseño novedoso en tres etapas que combinan la fase 1, 2 y 3. (ver artículo de este boletín de FUNDELA llamado "Seguridad y eficacia de la ceftriaxona para la esclerosis lateral amiotrófica: un ensayo multi-etapa, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo").

Un ensayo de tres-fases, un diseño continuo, como el usado en este estudio podrían acelerar las pruebas de compuestos prometedores y sería beneficioso para el reclutamiento de los pacientes ya que quienes entran en la fase 1 o 2 permanecen en el estudio en las fases siguientes. Usualmente los pacientes son excluidos de los ensayos si se han expuesto a estudios previos. Además, el diseño del ensayo tiene en cuenta eficientemente el perfil farmacocinético y la correcta dosificación del fármaco. Los ensayos futuros podrían beneficiarse de la razón de aleatorización de tratamiento a placebo 1:1 para reducir el tamaño de la muestra, costes y duración del estudio; inclusión de pacientes con duración de los síntomas de menos de 24 meses (en vez de 36 meses), para incluir una población de pacientes con mayor incidencia en vez de una población de pacientes con una menor progresión de la enfermedad; y la estratificación de la aleatorización por la presencia o ausencia de la mutación C9orf72, estado cognitivo o ambos. La ELA es probablemente una enfermedad heterogénea en la que sólo subgrupos específicos de pacientes podrían responder al tratamiento en los ensayos clínicos, como sugiere la reducida fase 2 del estudio EMPOWER de dexpramipexol en ELA.

Más de 500 participantes participaron en el ensayo de Cudkowicz. Las redes de investigación clínica como el Consorcio Noreste de la ELA (NEALS) y la Red Europea para la cura de la ELA



(ENCALS) son plataformas que han reclutado satisfactoriamente pacientes para ensayos clínicos en ELA. Pacientes, centros de ensayo y la industria farmacéutica y biotecnológica son compañeros inseparables en el camino hacia el tratamiento efectivo de las enfermedades. TRICALS fue fundada recientemente como una plataforma internacional, online para promover estas colaboraciones. El camino hacia un tratamiento efectivo todavía es largo, pero, con esta y otras nuevas estrategias en los ensayos clínicos la esperanza de que se pueda lograr es mayor que nunca.

#### Referencias:

**Van den Berg LH.** "Therapy of amyotrophic lateral sclerosis remains a challenge". *Lancet Neurol.* 2014 Nov;13(11):1062-3.

### USEGURIDAD Y EFICACIA DE LA CEFTRIAXONA PARA LA ELA: UN ENSAYO MULTI-ETAPA, ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO Y CONTROLADO CON PLACEBO.

Aunque la causa de la neurodegeneración en la ELA no se conoce completamente, existen evidencias de que la excitotoxicidad del glutamato podría ser un factor en la progresión de la enfermedad y contribuir a la fisiopatología de la ELA. Los estudios de la enfermedad en modelos animales y tejidos humanos han mostrado una disminución del transportador de aminoácidos excitatorios 2 (EAAT2), lo que elimina el glutamato en la sinapsis. En estudios preclínicos, el riluzol, único fármaco autorizado para el tratamiento de la ELA y que actúa inhibiendo la liberación de glutamato, proporciona unos beneficios muy modestos en supervivencia. Se ha visto en modelos animales que la sobreexpresión de EAAT2 retrasa el inicio de la enfermedad y prolonga la supervivencia en ratones con la enfermedad. Así que, las dianas que aumenten la expresión de EAAT2 podrían ser neuroprotectoras en la ELA. El objetivo del trabajo publicado en la revista *Lancet Neurology* en noviembre por Cudkowicz del Hospital General de Massachusetts, Boston y colaboradores fue el de evaluar la seguridad y eficacia de la ceftriaxona para la ELA en un ensayo clínico fase I, II y III combinados. La ceftriaxona, un antibiótico  $\beta$ -lactámico aprobado por la Administración Americana del Medicamento (FDA) incrementa la actividad y la expresión de EAAT2 en cerebros de roedores. Este ensayo de tres etapas, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo se realizó en 59

centros clínicos de EE.UU. y Canadá entre el 4 de septiembre 2006, y el 30 de julio de 2012. Los pacientes adultos elegidos tenían ELA, con capacidad vital de más del 60%, y con inicio de los síntomas de menos de 3 años. A los participantes se le asignó al azar (2:1) ceftriaxona (2 g ó 4 g al día) o placebo, en las etapas 1 (farmacocinética) y 2 (de seguridad). En la etapa 3 (eficacia), los participantes asignados con ceftriaxona en la etapa 2 recibieron 4 g de ceftriaxona, los participantes asignados a placebo en la etapa 2 recibieron placebo, y a los nuevos participantes se les asignó aleatoriamente (2:1) con 4 g de ceftriaxona o placebo. Los participantes recibieron 2 g de ceftriaxona o placebo dos veces al día a través de un catéter venoso central administrado a domicilio por un paramédico formado. Para reducir al mínimo los efectos secundarios biliares, los participantes asignados con ceftriaxona recibieron también 300 mg de ácido ursodesoxicólico dos veces al día y aquellos asignados a placebo recibieron cápsulas de placebo emparejados. Los resultados de eficacia primarios fueron la supervivencia y el declive funcional, medida mediante la escala revisada de calificación funcional de la ELA (ALSFRS-r). Los objetivos secundarios incluían el estudio de los cambios en la capacidad vital y la fuerza muscular de extremidades superiores e inferiores empleando un dinamómetro manual. La etapa 3 incluyó 66 participantes de las etapas 1 y 2, y 448 nuevos participantes. En total, 340 participantes fueron asignados al azar a la ceftriaxona y 173 a placebo. Durante las etapas 1 y 2, la media ALSFRS-r disminuyó más lentamente en los participantes que recibieron 4 g de ceftriaxona que en los tratados con placebo (diferencia 0.51 unidades al mes, 95% CI 0.02-1.00;  $p = 0.0416$ ), pero en la etapa 3 el declive funcional entre los grupos de tratamiento no difirió (0.09, -0.06 a 0.24;  $p = 0.2370$ ). No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre los grupos que se registraron en la etapa 3 (HR 0.90, 95% CI 0.71-1.15;  $p=0.4146$ ). Los eventos adversos observados, tanto los gastrointestinales, como los hepatobiliares fueron más frecuentes en el grupo de ceftriaxona que en el grupo placebo (gastrointestinal, 245 de 340 [72%] ceftriaxona vs 97 de 173 [56%] placebo,  $p = 0.0004$ ; hepatobiliar, 211 [62%] vs 19 [11%],  $p < 0.0001$ ). De manera significativa los participantes que recibieron ceftriaxona presentaron más efectos adversos hepatobiliares graves (41 participantes [12%]) que los que recibieron placebo (0 participantes).



A pesar de los resultados prometedores registrados en la fase 2, la etapa 3 de este ensayo con ceftriaxona en la ELA no mostró eficacia clínica. Sin embargo, se puede aprender del diseño innovador y adaptativo del estudio que permitió una transición sin problemas de una fase a otra, presentando un protocolo con reglas de suspensión y de futilidad claras. Además algunos individuos participaron en el estudio durante 4-5 años, lo que indica que el catéter venoso central empleado en casa no sólo es posible, sino que además es seguro.

Por último, no existe disponible en estos momentos ningún marcador farmacodinámico de los efectos de ceftriaxona sobre el ARNm o proteína de EAAT2 en el sistema nervioso central, así que no se puede determinar si el fármaco activa su diana y no se es capaz de concluir si se produce el aumento buscado del transportador de glutamato por lo que sería necesaria la obtención de dicho biomarcador para futuros ensayos clínicos.

#### Referencias:

**Cudkowicz ME. "Safety and efficacy of ceftriaxone for amyotrophic lateral sclerosis: a multi-stage, randomised, double-blind, placebo-controlled trial". *Lancet Neurol.* 2014 Nov;13(11):1083-91.**

---

## ENSAYOS CLÍNICOS EN ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA: ¿POR QUÉ EXISTEN TANTOS ENSAYOS NEGATIVOS Y CÓMO PODRÍAN MEJORARSE?.

ELA es una de las enfermedades neurodegenerativas con una progresión más rápida. Con más de 50 ensayos clínicos aleatorios controlados (RCTs – Randomized Control Trials) de posibles fármacos que modifican la enfermedad realizados, el riluzol es el único fármaco aprobado para su uso en 1995, este hecho destaca la necesidad de una revisión de métodos usados en el diseño e implementación de los ensayos clínicos. El pobre conocimiento sobre el mecanismo principal de la degeneración de la neurona motora en la ELA es una barrera para el desarrollo de los fármacos, cuando un fármaco potencial está disponible, el sentimiento general es que debe ser probado inmediatamente.

Según la revisión publicada en *Lancet Neurology* por Mitsumoto del Centro de Investigación de MDA/ALS Eleanor y Lou Gehrens de la Universidad de Columbia en Nueva York, las razones potenciales para estos resultados negativos pueden clasificarse en tres categorías: primero, cuestiones sobre el fundamento de los ensayos y estudios preclínicos;

segundo, temas farmacológicos; y tercero, diseño del ensayo y metodología.

Primero, con respecto a los fundamentos que preceden al RCTs, los investigadores muestran que dos terceras partes de los estudios negativos potencialmente inducen a error debido a estudios positivos en ratones hmSOD1; sin embargo, los modelos con ratones transgénicos hmSOD1 no reflejan la enfermedad esporádica y mínimamente reproducen la ELA familiar en humanos. Además, en la mayoría de los estudios el tratamiento comienza en las etapas presintomáticas, conduciendo a posibles efectos neuroprotectores. Pero estos resultados tienen una aplicabilidad clínica reducida debido a que el tratamiento en los pacientes comienza cuando la enfermedad está establecida y ha progresado.

Segundo, en la mayoría de los estudios los investigadores muestran sus preocupaciones sobre los análisis farmacológicos que incluyen, dosis demasiado bajas, eficacia de las curvas en forma de U, accesibilidad del fármaco al sistema nervioso central, ausencia de análisis farmacocinéticos y farmacodinámicos o potencial interacción entre el fármaco y el riluzole en estudios combinados.

Tercero, uno de los problemas más simples en el diseño y metodología del ensayo clínico es el de esperar grandes efectos del tratamiento, algo que puede no ser realista. A veces, los presupuestos ajustados conducen al investigador a establecer como objetivos grandes efectos de los tratamientos, olvidando efectos pequeños positivos.

Se han publicitado terapias con células madre para la ELA pero aún permanecen sin probar completamente y aprobar. Sin embargo, debido a la publicidad, se han ofertado varias de las llamadas "terapias celulares" a alto coste económico y de salud para los pacientes. El fundamento para las terapias celulares en ELA se basan en evidencias preclínicas que se dirigen a dos mecanismos diferentes de acción: neuroprotección o reemplazo de neuronas motoras degeneradas. Actualmente existen ensayos en marcha que no están controlados o aleatorizados y los resultados todavía no están disponibles, por lo que es imprescindible el diseño de RCTs apropiados para evaluar los beneficios y efectos potenciales adversos de las terapias celulares.

¿Cómo pueden mejorarse los ensayos en la ELA?

La mayoría de los estudios no intentan probar si el fármaco afecta a la diana patogénica de la enfermedad en pacientes con ELA y no emplean biomarcadores objetivos. Es una deficiencia evidente que únicamente se pueda establecer si la droga tiene efectos clínicos, los RCTs deberían llegar a ser una de las mejores oportunidades para investigar los mecanismos subyacentes y las dianas farmacológi-

cas en pacientes con ELA.

Por otro lado, la valoración de un fármaco candidato sólo y en combinación con riluzole es un prerrequisito que debería incluirse en estudios preclínicos animales, incluidos los modelos transgénicos hm-SOD1. Todos los estudios preclínicos en animales necesitarían seguir las últimas directrices como requerimiento mínimo. Los resultados positivos de los estudios preclínicos afectan fuertemente la decisión de realizar los siguientes ensayos clínicos, de forma que estos estudios deberían usar la metodología de los RCTs humanos. Además, los tratamientos combinados con fármacos parecen inevitables en la ELA, debido a que las enfermedades más complejas como el cáncer se tratan con varios fármacos por lo que se necesitarían realizar ensayos combinados porque la seguridad de la combinación de riluzole con un segundo fármaco es impredecible. Otra cuestión a considerar es que la ELA se caracteriza por distintos lugares de inicio y evolución de la enfermedad, topográficamente y en el tiempo. Los grandes registros han identificado que estas formas fenotípicas deberían tener diferentes tasas de progresión. Sin embargo, existe controversia si estos fenotipos se relacionan con una causa, varias causas potenciales o la presencia de genes modificadores que afectan la expresión de la ELA en un paciente particular. Si se adopta la hipótesis de que existe un único mecanismo patogénico, los ensayos clínicos deberían estratificarse para tener en cuenta estos fenotipos distintos: rápida o lenta progresión, grado de degeneración de la motoneurona determinado por electrofisiología, o degeneración ELA-DFT, entre otros. Además, los análisis a posteriori de los ensayos han sugerido grupos posibles de pacientes respondedores, aunque estos hallazgos necesitan validarse podrían ofrecer una oportunidad para identificar potenciales biomarcadores e identificar posibles fallos en los ensayos clínicos para ser considerados en los futuros ensayos.

En RCTs para la ELA el tiempo necesario para investigar el efecto de las terapias modificadoras de la enfermedad sobre la función está generalmente seleccionado en 12 meses, mientras que para investigar el efecto en supervivencia se sitúa en 18 meses. Aunque el tiempo transcurrido entre el inicio de la enfermedad y la entrada en el ensayo clínico se ha mantenido, la supervivencia tras los 18 meses ha mejorado de 40-50% al 70-80% en los ensayos clínicos. Por esta razón, se está promoviendo prolongar la duración, particularmente en los estudios en combinación con riluzole.

Un problema adicional en los RCTs es el hecho de que muchos pacientes declinan participar en los ensayos clínicos, porque normalmente incluyen placebo y prefieren viajar miles de millas y pa-

gar grandes cantidades de dinero para seguir un tratamiento esperanzador sin aprobar o seguir un tratamiento recomendado por internet. Por esta razón se necesita continuar educando al público sobre la importancia de los ensayos en ELA publicando regularmente información para protegerles de tratamientos sin aprobar, entre otras medidas. Otros diseños innovadores para los ensayos de ELA incluyen un diseño secuencial para valorar los beneficios en supervivencia con un fármaco ya testado, podrían ser efectivos en reducir el número de pacientes en los ensayos fase II, reduciendo costes.

Las pautas en el tratamiento de la ELA destacan el tratamiento de los síntomas para mejorar las funciones específicas con un objetivo real y fundamental para mejorar la ausencia de terapias modificadoras de la enfermedad altamente efectivas. Tratamientos que incluyen no sólo estrategias farmacológicas, que incluyen el uso dextrometorfano/quinidina para síntomas pseudobulbares o tirasemtiv para mejorar la fuerza muscular, sino también no farmacológicas como ventilación no invasiva, tratamientos preventivos de respiración mecánica o soporte nutricional enteral. Tratamientos dirigidos hacia los síntomas que son especialmente estresantes para los pacientes y que podrían mejorar su calidad de vida. El diseño de estos ensayos clínicos es más sencillo porque no necesitan muchos pacientes, tienen un período de estudio y coste menor, aunque son difíciles de llevar a cabo cuando un tratamiento disponible está ampliamente aceptado como cuidado estándar.

En conclusión, el desarrollo de tratamientos para la ELA es un punto fundamental debido a que la mayoría de los RCTs han obtenido resultados negativos y no se ha introducido ningún tratamiento efectivo modificador de la enfermedad desde el riluzole. Sólo a través del análisis crítico de los ensayos que han fallado se pueden identificar propuestas para ensayos clínicos futuros. Entre las recomendaciones se podría incluir la colaboración de todas las partes interesadas en la comunidad de la ELA, que incluyen científicos traslacionales, profesionales de los ensayos clínicos y farmacólogos clínicos porque es el momento para establecer un conjunto de directrices basadas en evidencias. De este modo, todos los investigadores podrán aplicar los métodos y diseños más efectivos para probar fármacos apropiados para dianas terapéuticas para la ELA más adecuadas

#### **Referencias:**

**Mitsumoto, H. Clinical trials in amyotrophic lateral sclerosis: why so many negative trials and how can trials be improved? *Lancet Neurol.* 2014 Nov;13(11):1127-38.**

---

## CYTOKINETICS PLANIFICA LA FASE III DEL ENSAYO CLÍNICO DE TIRASEMTIV PARA LA ELA.

Sólo existe un fármaco para la ELA, Riluzol, aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos, que retrasa la progresión de la enfermedad únicamente durante unos pocos meses, pero un conjunto de empresas del Área de la Bahía de San Francisco están trabajando en nuevos tratamientos potenciales. Tirasemtiv, el fármaco de Cytokinetics, es el más avanzado entre los posibles tratamientos.

A principios de 2014, Cytokinetics presentó decepcionantes resultados del ensayo clínico de fase IIb de la compañía para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de tirasemtiv para el tratamiento de la ELA. A pesar de ello y basándose en los prometedores efectos sobre la función respiratoria, las discusiones de seguimiento con los estadísticos, los médicos y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), Cytokinetics anunció su decisión de seguir adelante con la Fase III – ensayo clínico de tirasemtiv en la ELA que en última instancia podría llevar a la aprobación por la FDA. El fármaco, que aumenta la sensibilidad del complejo de troponina del músculo esquelético rápido al calcio y por lo tanto aumenta la fuerza de dicho músculo esquelético, no condujo a un cambio significativo en la escala de evaluación funcional de la ELA revisada (ALSFRS-r), escala comúnmente aceptada para los ensayos clínicos de ELA, después de ocho y doce semanas de tratamiento. Sin embargo, el tratamiento con el fármaco disminuyó la tasa de capacidad vital forzada, volumen máximo de aire que puede ser exhalado lentamente después de una inhalación completa y lenta, consistentemente en todos los subgrupos de pacientes con ELA, resultados que llevaron a la decisión de continuar el estudio de este fármaco para la ELA.

### Referencias:

**"Cytokinetics Planning Phase III Clinical Trial of Tirasemtiv for ALS". *The ALS Forum*. 21 de Octubre de 2014.**

[http://www.researchals.org/page/news/drug\\_news/14051?utm\\_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+115&utm\\_campaign=Newsletter+Vol+115&utm\\_medium=email](http://www.researchals.org/page/news/drug_news/14051?utm_source=ALS+Forum+e-Newsletter+Vol+115&utm_campaign=Newsletter+Vol+115&utm_medium=email)

---

## INGESTA DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS OMEGA3 EN LA DIETA Y RIESGO PARA LA ELA.

La ELA es una enfermedad progresiva grave que no puede prevenirse ni curarse. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFAs) derivados de la dieta se incorporan en los lípidos cerebrales y modulan procesos de estrés oxidativo, excitotoxicidad e inflamatorios, mecanismos que se han implicado en la etiología de la ELA y de otras enfermedades neurodegenerativas, pudiendo por tanto afectar al riesgo y a la progresión de dichas enfermedades.

En particular se ha encontrado que los PUFAs omega3 tienen efectos neuroprotectores en modelos animales de envejecimiento e isquemia cerebral. Inesperadamente, sin embargo, el pretratamiento con altas dosis de ácido eicosapentanoico, un PUFA omega3 de cadena larga, acelera la progresión de la enfermedad en un modelo de ratón de ELA. Los datos que relacionan la ingesta de PUFA y el riesgo de ELA son escasos y no está claro hasta qué punto estos resultados experimentales se pueden aplicar a la enfermedad humana. A pesar de ello, los resultados de dos estudios caso-control sugieren un menor riesgo de ELA entre individuos que toman PUFA; sin embargo, no existen estudios prospectivos que relacionen globalmente la ingesta de PUFA o PUFA omega3 con el riesgo de ELA. Para comprobar si una dieta específica de PUFAs o el consumo total de grasas en la dieta afecta al riesgo de ELA, Ascherio y colaboradores realizaron un estudio cuyos resultados se publicaron online en la revista *JAMA Neurology* en el mes de Julio. El análisis longitudinal se basó en 1.082 participantes (114 mujeres y 968 hombres) pertenecientes a 5 cohortes prospectivas a gran escala: el estudio de salud y nutrición del Instituto Nacional de Salud-AARP, el estudio II de cohorte nutricional de la prevención del cáncer, el estudio de seguimiento de profesionales de la salud, el estudio de cohorte multiétnico, y el estudio de salud de las enfermeras. La dieta se evaluó mediante un cuestionario de frecuencia alimentaria desarrollado o modificado para cada cohorte. Los participantes se dividieron en quintiles por cohortes específicas de la ingesta de energía. Se documentaron un total de 995 casos de ELA durante el seguimiento y se asoció una mayor ingesta de PUFA omega3 con una reducción del riesgo para la ELA. El Riesgo relativo (RR) multivariante ajustado para el quintil más alto y más bajo fue de 0,66 (IC del 95%, 0,53 a 0,81,

P <0.001 para la tendencia). El consumo de ácido  $\alpha$ -linolénico (RR, 0,73, IC 95%, 0,59-0,89, P = 0,003 para la tendencia) y PUFAs omega3 marino (RR, 0,84, IC 95%, 0,65-1,08, p = 0.03 para la tendencia) contribuyeron a esta asociación inversa. Sin embargo, la ingesta de PUFA omega3 no se asoció con el riesgo de ELA.

Tampoco se observaron evidencias significativas de una modificación del efecto debido a la edad, al estado de fumador, al uso de suplementos de vitamina E, carotenoides o índice de masa corporal. Los resultados tampoco variaron cuando se ajustaron por etnias, estado de fumador usando el número de paquetes por año o empleando el índice de masa corporal en modelos multivariantes. En general, los resultados del estudio prospectivo de cohorte a gran escala sugiere que los individuos con una ingesta en la dieta de cantidades totales de PUFA omega3 y ácido  $\alpha$ -linolénico tienen un menor riesgo de ELA. En futuras investigaciones, se deberían incluir posiblemente biomarcadores de la ingesta de PUFA para confirmar estos hallazgos y determinar si el consumo de alimentos ricos en PUFA omega3 puede ayudar a prevenir o retrasar la aparición de la ELA.

#### Referencias:

**Fitzgerald KC, et al. "Dietary  $\omega$ -3 Polyunsaturates Fatty Acid Intake and Risk for Amyotrophic Lateral Sclerosis". *JAMA Neurol.* 2014 Jul 14.**

---

## EL TRASPLANTE LOCAL DE PROGENITORES GLIALES NEURONALES DERIVADOS DE IPSC HUMANAS PROLONGA LA ESPERANZA DE VIDA DE LOS RATONES CON ELA.

A pesar de la selectividad relativa de la pérdida de la neurona motora en la ELA, existen estudios en ratones ELA mutantes para hmSOD1 y modelos de cultivo de tejido que muestran la implicación de células no neuronales (glía) en el proceso de la enfermedad. Además, se ha demostrado que el trasplante de progenitores gliales neuronales atenúan la degeneración de la neurona motora y la progresión de la enfermedad en modelos de ratas con mutaciones en la superóxido dismutasa 1 (SOD-1) relacionadas con ELA.

También se han investigado varios tipos celulares para estudios de trasplantes y las células neuronales son el tipo celular posiblemente más relevante para el tratamiento de la ELA, pero estas células presentan existencias limitadas, cuestiones éticas, y/o la aplicación de métodos invasivos en los donantes. Sin embargo, se pueden obtener células

madre pluripotentes (hiPSCs) de un donante de un modo menos invasivo y éstas pueden ser expandidas indefinidamente in vitro. En este contexto el grupo de Inoue del Centro de Investigación y Aplicación de células iPS (CiRA) en Kyoto, establecieron un protocolo de diferenciación de progenitores neuronales enriquecidos en glia (GRNPs) a partir de hiPSCs como fuente celular para una terapia de trasplante intraespinal lumbar en un modelo de ELA murino (en ratón).

Los resultados de este trabajo se publicaron en Stem Cell Reports en Agosto de 2014, en el que mostraron que las células trasplantadas se diferenciaban en astrocitos y que el grupo de ratones tratados mostraron una mayor esperanza de vida. A pesar de que únicamente observaron una mejora transitoria de la función de las extremidades inferiores, sus datos sugieren que las células gliales podría representar una terapia potencial para el tratamiento de la ELA. Los autores compararon los resultados con otro trabajo en el que se realizó el trasplante en la médula espinal a nivel cervical y que no obtuvo mejoras en las manifestaciones clínicas y supervivencia neuronal a pesar de la supervivencia y proliferación de los astrocitos exógenos. Aunque la mejora transitoria en este caso podría deberse a los efectos neuroprotectores mediante el incremento de factores neurotróficos de las células trasplantadas en la región lumbar con un efecto más amplio en otras regiones, también se especuló con otros factores que explicasen las diferencias entre los dos trabajos, como puede ser el estado del órgano, el momento, o la forma del trasplante. Estos resultados apoyan la posibilidad no sólo de dirigir el trasplante a la médula espinal cervical sino también a la parte lumbar dependiendo de los síntomas a tratar.

En relación a la seguridad, el potencial tumorigénico y la respuesta inmune son una de las preocupaciones más importantes tras el trasplante. Aunque no se han encontrado signos de formaciones tumorales o trasplantes Ki67 positivos, una pequeña proporción de trasplantes son positivos para el marcador progenitor neural NESTIN 3 a los 3 meses después del trasplante por lo que no se puede excluir el riesgo de formaciones tumorales. Es importante evaluar la tumorigenicidad a largo plazo para ensayos clínicos futuros.

Con anterioridad se había publicado que las iPSCs inducían una respuesta inmune dependiente de linfocitos T por el trasplante directo de células sin diferenciar en ratones, aunque una investigación más detallada probó que el trasplante autólogo provocaba una respuesta inmunogénica despreciable. En este estudio no se observó una respuesta inflamatoria excesiva alrededor de las células

trasplantadas bajo un tratamiento inmunosupresor a dosis bajas, sugiriendo que incluso si las células trasplantadas no fueran autólogas se podría controlar la respuesta inmune en el receptor. Finalmente, en este trabajo se muestra un moderado aumento en la esperanza de vida comparado con estudios previos que prueban la terapia celular antes del inicio de los síntomas en modelos de ratón con ELA. Debido a que la mayoría de los casos de ELA son esporádicos y cualquier tratamiento se debe iniciar después del inicio de los síntomas, en este trabajo se ha analizado una terapia celular potencial tras la aparición de estos. Se necesitan estudios futuros adicionales de trasplantes, así como la combinación de injertos de motoneuronas, para acelerar el tratamiento de la ELA hacia el restablecimiento de la función de la neurona motora y finalmente la cura completa de la ELA.

#### Referencias:

**Kondo T, et al. "Focal transplantation of human iPSC-derived glial rich neural progenitors improves lifespan of ALS mice". *Stem Cell Reports*. 1014. Au 12;3(2):242-9.**

---

### EL TRATAMIENTO CON UN ANTICUERPO DIRIGIDO CONTRA NOGO-A RETRASA LA PROGRESIÓN EN EL MODELO MURINO SOD1G93A DE ELA.

Tanto en pacientes con ELA como en ratones SOD1G93A, las primeras características patológicas de la enfermedad se manifiestan en la unión neuromuscular, donde se produce una denervación significativa anterior a la degeneración de las neuronas motoras. Las estrategias dirigidas a prevenir o retrasar la denervación pueden por lo tanto ser beneficiosas en la ELA.

En el trabajo publicado en la revista *Human Molecular Genetics* en agosto por el grupo de Greensmith del Instituto UCL de Neurología en Londres, se muestra que los niveles de Nogo-A aumentan en las fibras musculares de ratones SOD1G93A y hay una elevación de los marcadores de la disfunción neuromuscular (CHRNA1/MUSK).

El inhibidor del crecimiento de la neurita o Nogo A, también conocido como Reticulon-4 fue identificado en un principio como un inhibidor del crecimiento de la neurita asociado a la mielina en el sistema nervioso central. El análisis de la expresión de las isoformas de Nogo en ratones SOD1G86R mostró el aumento de Nogo-A y el descenso de Nogo-C en las fases iniciales asintomáticas de la enfermedad. Las características de

la expresión alterada de las isoformas de Nogo se confirmó en muestras post-mortem y biopsias de pacientes con ELA y esporádicos sugiriendo un papel central en la patogénesis de la ELA. Independientemente de que Nogo-A sea un marcador específico de ELA, está claro que desempeña un papel en la pérdida de la innervación muscular, la manifestación patológica más temprana de la ELA. De este modo, las estrategias encaminadas a prevenir o reducir la expresión de Nogo-A podrían ser efectivas en el mantenimiento de la innervación muscular, además del retraso de la progresión de los síntomas de la enfermedad. Se han empleado varias estrategias para probar los efectos de la inhibición de Nogo-A, particularmente en el contexto del desarrollo de estrategias nuevas de tratamiento para daños en la médula espinal que se dirijan a aumentar la plasticidad y crecimiento de la neurita, mediante el bloqueo de Nogo-A o sus efectores. En el trabajo publicado en *Human Molecular Genetics* el tratamiento sintomático de ratones SOD1G93A de 70 días de edad con anticuerpos anti-Nogo-A (GSK577548) mejora significativamente la innervación muscular de las extremidades posteriores a los 90 días, una fase sintomática tardía de la enfermedad, lo que resulta en un aumento de la fuerza muscular y la supervivencia de la unidad motora y un aumento significativo en la supervivencia de las neuronas motoras.

Estos resultados sugieren que el tratamiento con anticuerpos anti-Nogo-A ejerce un efecto temprano beneficioso en la progresión de la enfermedad, quizás simultáneamente a la denervación de las fibras musculares activas, incrementando los rebrotes compensatorios de los terminales nerviosos y la reinervación de los terminales denervados. Sin embargo, no todos los aspectos de esta mejora por el tratamiento de ratones SOD1G93A con anticuerpos anti-Nogo-A se mantuvieron en la etapa final de la enfermedad.

Estos resultados muestran que el tratamiento con anti-Nogo-A de anticuerpos mejora significativamente la función neuromuscular en el ratón SOD1G93A modelo de ELA, al menos durante las primeras etapas de la enfermedad y sugieren que la inhibición farmacológica de Nogo-A constituye un posible enfoque de modificación de la enfermedad en la ELA. Ozanezumab, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra Nogo-A, se está desarrollando para el tratamiento de la ELA y acaba de completar un ensayo clínico fase I en pacientes con ELA.

#### Referencias:

**Bros-Facer V, et al. "Treatment with an antibody directed against Nogo-A delays disease progression in the SOD1G93A mouse model of Amyotrophic lateral sclerosis". *Hum Mol Genet*. 2014 Aug 15;23(16):4187-200.**



## OTSUKA PHARMACEUTICAL ADQUIRIRÁ AVANIR PHARMACEUTICALS.

A finales de 2010, Avanir Pharmaceutical, Inc. ("Avanir"), empresa biofarmacéutica especializada en enfermedades del sistema nervioso central, obtuvo la aprobación de la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA) para comercializar NUEDEXTA (hidrobromuro de dextrometorfano/sulfato de quinidina), el primer medicamento para el tratamiento de los síntomas pseudobulbares (PBA), estallidos incontrolables de risa o llanto que se producen de forma secundaria en pacientes con ELA y otros trastornos neurológicos como lesión cerebral traumática, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, apoplejía y enfermedad de Alzheimer, cuando estas enfermedades dañan las áreas del cerebro que regulan la expresión emocional normal. Como resultado, muchos de los afectados con PBA muestran un deterioro significativo en las medidas estándar de su estado de salud y en la función profesional y social, que a menudo conduce al aislamiento social.

El 2 de diciembre se firmó el contrato por el que Otsuka-América, Inc., filial estadounidense de Otsuka Pharmaceuticals Co., Ltd. adquirió Avanir por 3500 millones de dólares en una oferta pública de compra en efectivo. Avanir comercializa NUEDEXTA en los EE.UU. a través de su propia organización de ventas que ha sido recientemente ampliada para acelerar el crecimiento de NUEDEXTA para el tratamiento del PBA. Los proyectos de la empresa incluyen programas en la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, migraña, y otras enfermedades del sistema nervioso central.

La adquisición no sólo dará a Otsuka los derechos de comercialización de NUEDEXTA, sino también el acceso a la experiencia que tiene Avanir en el desarrollo de fármacos contra enfermedades neurológicas, que complementa las capacidades de Otsuka en enfermedades psiquiátricas, como esquizofrenia, episodios maníacos y mixtos en pacientes con trastorno bipolar I y trastorno depresivo mayor, apoyando tanto su crecimiento a corto como a medio plazo. También, permitirá a Otsuka participar en la última fase de investigación de AVP-786, fármaco para el tratamiento de la agitación asociada con la enfermedad de Alzheimer que se está preparando para entrar en un ensayo clínico en fase III. Más del 50% de enfermos de Alzheimer experimentan agitación que puede manifestarse como abuso verbal, con-

fusión y agresión. Síntomas comportamentales relacionados con la demencia, que incluyendo la agitación, aumentan la carga sobre los cuidadores y que pueden ser muy estresantes para el individuo, la familia y sus cuidadores. Estas alteraciones de la conducta se han asociado con una disminución cognitiva más rápida, la institucionalización y el aumento de la carga del cuidador. Esta adquisición es consistente con la filosofía de inversión del Grupo Otsuka: invertir a largo plazo en empresas y negocios con los que pueden compartir una filosofía común de gestión, recursos humanos, productos y tecnología para mejorar el valor de la empresa. Además, la unión en Octubre de 2013 al grupo de Otsuka del Instituto de Investigación Astex Pharmaceuticals de Cambridge, con su tecnología de descubrimiento de fármacos basados en fragmentos, refuerza la capacidad creativa integradora de las tres empresas, acelerando y reforzando las posibilidades en el campo del sistema nervioso central. De este modo Otsuka ampliará su alcance terapéutico en el área neurológica incluyendo muchas enfermedades como la demencia tipo Alzheimer, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson y ELA, donde hay una gran necesidad médica de nuevos agentes terapéuticos y donde los pacientes y profesionales de la salud a menudo están insatisfechos con las opciones terapéuticas disponibles en la actualidad.

Existen muchos obstáculos en la investigación y el desarrollo de las enfermedades del sistema nervioso central. Los mecanismos de acción de los fármacos a menudo no se comprenden por completo y los modelos de experimentación animal no necesariamente predicen de forma precisa la eficacia de los fármacos en las enfermedades humanas. A pesar de estos obstáculos, se han identificado en los últimos años muchas dianas proteicas para enfermedades del sistema nervioso central y la unión de estas tres organizaciones permitirá desarrollar y comercializar más rápidamente medicamentos necesarios para ayudar potencialmente a millones de pacientes en todo el mundo.

### Referencias:

**"Otsuka Pharmaceutical to Acquire Avanir Pharmaceuticals". *Business Wire*. 2 de Diciembre de 2014. <http://www.businesswire.com/news/home/20141202005452/en/Otsuka-Pharmaceutical-Acquire-Avanir-Pharmaceuticals#.VLVhFyuG-wW>**

---

## GENÉTICA

---

### EXISTEN EVIDENCIAS QUE INDICAN QUE UN GEN MITOCONDRIAL ES UN FACTOR DE RIESGO PARA LA ELA Y DFT.

En junio 2014, Paquis-Flucklinger y su grupo describieron la existencia de una familia extensa con un fenotipo que incluía un deterioro cognitivo que se asemeja a la demencia frontotemporal (DFT), con enfermedad de motoneurona, ataxia cerebelosa y miopatía mitocondrial de inicio tardío con delecciones múltiples del ADNmt. Una mutación en CHCHD10 (c.176C> T; p.Ser59Leu), nombre abreviado de la proteína 10 que contiene un dominio espiral-bobina-hélice / espiral-bobina-hélice, fue identificado mediante secuenciación del exoma como la probable causa de la enfermedad en esta familia. La evidencia genética más importante para la causalidad de la mutación CHCHD10 fue que la variante Ser59Leu de este gen cosegrega con la enfermedad en otra familia de una cohorte de 21 familias con ELA-DFT. También se identificó un caso español con ELA-DFT con el mismo tipo de mutación, sin embargo, la falta de otras muestras de ADN impidió el análisis de segregación en esta familia. En julio, los mismos autores siguieron con la publicación de dos casos más, con la mutación prolina-34-serina en esta ocasión, de una cohorte francesa de pacientes con ELA-DFT de origen "esporádico". Finalmente se encontró la misma variante en un paciente de otra familia ELA-DFT. Conceptualmente, este es un hallazgo interesante, ya que muestra por primera vez que la mutación de un gen que codifica para una proteína mitocondrial y una subsecuente disfunción mitocondrial puede ser una causa primaria de la ELA contribuyendo al conocimiento de la etiología de esta enfermedad. Hasta la fecha, únicamente se había descrito el efecto modificador en la ELA de los polimorfismos hallados en el gen PGC-1 $\alpha$  regulador de la biogénesis mitocondrial.

Apenas tres meses después de la publicación de este gen codificante de una proteína mitocondrial, otras publicaciones han clarificado el caso. Según estos estudios, un conjunto de diferentes mutaciones en el gen CHCHD10 causan una serie de síntomas que comprenden desde una ELA-DFT, una ELA hasta una miopatía mitocondrial.

En agosto, Weishaupt y sus colegas añadieron dos alemanes con ELA debido a la mutación arginina-15-leucina y un finlandés con ELA causadas por una sustitución de glicina-66-valina tras la secuen-

ciación del exoma completo de 102 alemanes y 26 nórdicos (22 suecos y 4 finlandeses) pacientes con ELA familiar donde se excluyeron la expansión de la repetición en C9orf72 y mutaciones en SOD1. Luego, en septiembre, los científicos dirigidos por Teepu Siddique en Chicago, publicaron mutaciones en CHCHD10 en una familia puertorriqueña. En esta familia, que exhibió miopatía mitocondrial, los miembros portaban dos sustituciones en el gen, arginina-155-serina y glicina-58-arginina.

En un último artículo en septiembre, investigadores del Instituto Nacional sobre el Envejecimiento en Bethesda, Maryland, describen una familia con cuatro miembros afectados y dos casos de ELA no relacionados debido a una sustitución R15L por una transversión de G a T en la posición c.44 en CHCHD10. Aunque la sustitución CHCHD10 se produce en un exón, una dificultad técnica le impidió salir a la luz antes. En este caso tuvieron que utilizar por primera vez en un estudio de ELA familiar la secuenciación de todo el genoma poniendo de manifiesto que la cobertura y la fiabilidad de la secuenciación del genoma completo son mejor que la del exoma.

Hasta ahora se han publicado 11 familias o casos con mutaciones CHCHD10. Los expertos estiman que las mutaciones en este gen podrían explicar 2-5% de los casos de ELA y ELA-DFT.

La familia francesa publicada en junio tenía principalmente una enfermedad muscular con algunas características que recuerdan a la ELA y DFT, lo que condujo a los médicos que tratan la ELA a cuestionar lo adecuado que era en ese momento etiquetar a CHCHD10 como un gen de ELA. Incluyendo estos nuevos casos, los fenotipos abarcan desde una ELA pura, un ELA-DFT hasta una miopatía. Los síntomas bulbares (problemas al hablar o comer) son comunes en los casos publicados hasta el momento y varios de los nuevos casos se parecen más a una ELA que los casos del artículo original. La ELA es atípica debido a la lenta progresión, pero se encuentra dentro del rango de lo que se ve en clínica. Las personas con mutaciones CHCHD10 han sobrevivido hasta 17 años más allá de la aparición de los síntomas, en comparación de dos a tres años para una ELA típica.

CHCHD10 proporciona hasta ahora la evidencia más fuerte de que las mitocondrias contribuyen a enfermedad de neurona motora. Poco se conoce acerca de la función de la proteína; aunque se cree que contribuye a la fosforilación oxidativa (cadena de transporte electrónico). Paquis-Flucklinger y sus colegas publicaron que sus pacientes tenían miopatía mitocondrial desorganizada con ADN fragmentado y han sugerido que la mutación podría interferir con la estabilidad de la proteína o las

interacciones que tenga con otras proteínas. En los casos de ELA, la patología parece diferente. En un trabajo todavía no publicado, se analizó el tejido de la médula espinal de las personas con mutaciones CHCHD10 que murieron de ELA. Se encontraron inclusiones citoplasmáticas en forma de madeja y denervación, características de la enfermedad. Las mitocondrias puede contribuir a la enfermedad, pero el problema está en las proteínas que se agregan en otros lugares.

#### Referencias:

- 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.**
- Chausseot A, et al. "Screening of CHCHD10 in a French cohort confirms the involvement of this gene in frontotemporal dementia with amyotrophic lateral sclerosis patients". *Neurobiol Aging*. 2014.**
- Johnson JO, et al. "Mutations in the CHCHD10 gene are a common cause of familial amyotrophic lateral sclerosis". *Brain*. 2014 Dec;137 (Pt 12):e311.**
- Müller K, et al. "Two novel mutations in conserved codons indicate that CHCHD10 is a gene associated with motor neuron disease". *Brain*. 2014 Dec;137 (Pt 12):e309.**

---

### ¿LAS MUTACIONES EN CHCHD10 ESTÁN OBLIGATORIAMENTE ASOCIADAS CON LA ELA FAMILIAR?

Un estudio reciente publicado por Bannwarth en *Brain* identificó una nueva mutación (c.176C4T; p.Ser59Leu) en el gen CHCHD10, además Müller describe dos variantes nuevas en CHCHD10 en tres familias con ELA, apoyando fuertemente a CHCHD10 como un gen ELA novedoso.

Aunque sus hallazgos son extremadamente interesantes, y sus conclusiones atrayentes, Van Rheenen y sus colaboradores del Centro Médico Universitario de Utrecht realizaron varias observaciones en *Brain* a cerca de las evidencias genéticas que apoyan estas afirmaciones.

La definición de evidencia genética, dada por el problema de hallazgos que no se replican, es un problema que en los pasados años han conducido a múltiples definiciones consenso en distintos diseños de estudios. Como evidencia genética de segregación de un gen con un fenotipo dentro de una familia se ha establecido estadísticamente un LOD score  $\geq 3$ , para estudios de asociación en el genoma completo se ha adoptado un nivel de significación de  $5 \times 10^{-8}$  y en el exoma completo de  $5 \times 10^{-7}$  debido al problema de pruebas múltiples. Aunque estos niveles

puedan parecer conservadores, es duro reconocer que la relajación habida en estudios pequeños en el pasado han conducido a un alto número de falsos positivos en las asociaciones. Únicamente un 3.6% de 166 asociaciones se repitieron en otros estudios. En el estudio de Müller los resultados de la secuenciación del genoma completo incluyen únicamente los resultados para CHCHD10. La pregunta es en qué medida este estudio representa una réplica del estudio de Bannwarth desde que los autores investigan todas las variantes en CHCHD10 entre casos de ELA familiar y Bannwarth una mutación específica en un subtipo muy distinto de ELA/DFT. Para probar esta hipótesis exclusivamente, los resultados deberían considerar que en el contexto de que un análisis de pruebas múltiples se requiere un control muy exigente de falsos positivos. Después de identificar las mutaciones en tres familias establecieron un modelo de heredabilidad autosómica dominante con penetrancia incompleta, sin embargo los autores no proporcionaron ningún valor de LOD y el alto número de portadores no afectados podría hacer pensar que otra variante no analizada podría explicar mejor la segregación dentro de la familia y una mayor penetrancia.

Los autores describen que las variantes no se han localizado en bases de datos públicas y aunque la presencia de estas variantes en estas bases de datos de individuos supuestamente sanos se ha probado que es una potente herramienta de filtro, la ausencia de una variante no es evidencia de su patogenicidad. Especialmente en variantes raras ya que las bases de datos están geográficamente agrupadas y es probable que no estén presentes individuos de otras poblaciones.

Para demostrar las cuestiones mencionadas Van Rheenen investigó cuántos genes cumplían estos criterios en un conjunto de 125 individuos control de una población holandesa no relacionada. En total encontró que 458 genes portaban una variante nueva compartida por dos sujetos control en combinación con una segunda mutación nueva de un tercer sujeto. Las 1070 variantes nuevas encontradas en estos genes se podrían considerar altamente patogénicas considerando que los individuos estudiados no comparten un fenotipo predefinido por definición. Además, asumir que las variantes nuevas en CHCHD10 causan necesariamente ELA/DFT en estas familias se deriva del hecho de que estas variantes están conservadas en diferentes especies, no proporcionan evidencias de una asociación con ELA/DFT, simplemente proporcionan pruebas circunstanciales de que podría ser importante para la función de la proteína. De hecho el 38.3% de las variantes encontradas por Van Rheenen están también conservadas.

Van Rheenen no proporciona ninguna evidencia sólida que demuestre que las mutaciones en CHCHD10 no sean la causa de la ELA en dichas familias, simplemente argumentan la falta de evidencias convincentes y pone de manifiesto la necesidad de seguir investigando el papel de las mutaciones en CHCHD10 en la ELA/DFT. Los estudios diseñados para probar variantes simples en los conjuntos de datos de secuenciación del exoma total son el producto de un estudio que analiza múltiples hipótesis y necesitan controlar de forma adecuada el error. Bannwarth sostiene que la principal evidencia de la patogenicidad de esta mutación es la segregación en una familia francesa donde está presente en ocho pacientes y ausente en dos individuos sanos con una exploración neurológica normal a una edad de 79 y 69 años. La alteración y fragmentación de la red mitocondrial encontrada en células HeLa que sobreexpresan el mutante S59L es similar a la observada en los fibroblastos de los pacientes y proporciona argumentos estables en relación con el efecto deletéreo de la variante. De forma secundaria, se secuenció CHCHD10 en una cohorte de 94 pacientes con ELA/DFT y se encontró una nueva mutación en el gen en dos individuos no relacionados. Además, describen la ausencia de esta variante en bases de datos públicas y en 200 controles étnica y geográficamente relacionados, en un segundo artículo que no menciona Van Rheenen. Para aclarar las consecuencias deletéreas de las variantes, han llevado a cabo pruebas funcionales que claramente indican una relación biológica con la neurodegeneración, datos que todavía no están publicados. En resumen, las estrategias genéticas que combinan el análisis de ligamiento con la secuenciación completa del exoma siguen siendo las mejores para encontrar genes responsables de la ELA, pero dependen considerablemente del tamaño de la familia y del número de individuos disponible para el análisis. Aclarar la ruta celular interrumpida por los alelos mutantes CHCHD10 será crucial para determinar el papel en la disfunción mitocondrial, no sólo en la ELA, sino además en otras enfermedades neurodegenerativas que se puedan considerar más complejas.

#### Referencias:

**Van Rheenen W., et al. "Are CHCHD10 mutations indeed associated with familial amyotrophic lateral sclerosis?" *Brain* 2014; 137; 1-2 | e313.**

<http://brain.oxfordjournals.org/content/137/12/e313.extract?etoc>

**Bannwarth S., et al. "Reply: Are CHCHD10 mutations indeed associated with familial amyotrophic lateral sclerosis?" *Brain* 2014; 137; 1-2 | e314.**

<http://brain.oxfordjournals.org/content/137/12/e314.extract?etoc>

## SE RELACIONAN ERRORES GENÉTICOS CON MÁS CASOS DE ELA DE LOS QUE LOS CIENTÍFICOS PENSABAN.

El estudiante graduado Janet Cady y el profesor asistente de neurología Matthew Harms de la Escuela de medicina de la Universidad de Washington, han encontrado evidencias de que las mutaciones genéticas podrían contribuir a más casos de ELA de lo que los científicos pensaban. El estudio que se publicó en colaboración con científicos del Centro Médico Cedars-Sinai en la revista online *Annals of Neurology* en noviembre mostró también que el número de genes mutados influye en la edad de inicio de esta enfermedad mortal. Los científicos han relacionado mutaciones en más de 30 genes en la ELA. Solos o en combinación, las mutaciones en cualquiera de estos genes pueden causar la enfermedad en los familiares que los heredan.

Aproximadamente el 90 por ciento de los pacientes con ELA no tienen antecedentes familiares de la enfermedad y su enfermedad se conoce como ELA esporádica. Los científicos pensaban que las mutaciones en genes contribuían a poco más de un 10 por ciento de cada caso de ELA esporádica. Sin embargo, los investigadores recientemente empezaron a sospechar que los pacientes con ELA esporádica portaban mutaciones con más frecuencia de lo que se pensaba en los 30 genes vinculados a la ELA. Este nuevo estudio es uno de los primeros en probar esta suposición, encontrando que el 26 por ciento de los pacientes con ELA esporádica tienen posibles mutaciones en uno de los genes conocidos de la ELA que se analizaron. Este hallazgo sugiere que las mutaciones pueden estar contribuyendo a muchos más casos de ELA. Los científicos utilizaron una técnica de secuenciación desarrollada en la Universidad de Washington para buscar 17 genes conocidos de ELA en el ADN de 391 pacientes con ELA. Al igual que la población total de pacientes de ELA, el 90 por ciento de los pacientes no tenía antecedentes familiares de la enfermedad. Todavía no está claro por qué algunos pacientes con ELA esporádica, sin antecedentes familiares de la enfermedad, tienen mutaciones ligadas a la enfermedad. Los investigadores no saben si estos pacientes son los primeros en sus familias en desarrollar estas mutaciones o si estos genes alterados están presentes en otros miembros de la familia, pero no causan la enfermedad. Harms señaló también que algunas de las mutaciones que identificaron pueden no contribuir



en absoluto a la enfermedad.

Es posible también que estas mutaciones puedan combinar con factores ambientales relacionados con la ELA. Esos factores pueden coincidir en un individuo y causar la enfermedad, mientras que otros miembros de su familia que tengan la mutación, pero no se expongan a esos factores ambientales, no se verán afectados.

El estudio muestra también que portar mutaciones en más de un gen ELA puede acelerar la aparición de los síntomas. En los pacientes con sólo una mutación, la edad media de inicio fue de 61, pero en los portadores de más de una mutación, la edad media de inicio fue de 51. Los científicos están analizando los datos genéticos en más pacientes con ELA para confirmar sus hallazgos.

#### Referencias:

**Cady J, et al.** "ALS onset is influenced by the burden of rare variants in known ALS genes". *Ann Neurol.* 2014 Nov 7.

**Purdy M.** "Genetic errors linked to more ALS cases than scientists had thought". *Newsroom. Washington University of St. Louis.* 4 Diciembre 2014.

---

### TRÍOS TRAS LA BÚSQUEDA DE GENES CANDIDATOS RELACIONADOS CON LA ELA.

El grupo de Gitler ha localizado mutaciones relacionadas con la ELA sin depender de grandes familias, centrándose en "tríos", personas con ELA esporádica y sus padres.

Gitler y sus colaboradores de Stanford describieron su última estrategia en PLoS Genetics de octubre de 2014. En lugar de buscar en todo el exoma, utilizaron otro enfoque, la secuenciación de los exones de 169 genes que se sabe o se sospecha que contribuyen a la ELA. Al igual que los autores del estudio de Neuron, se buscaron los genes que mostraban una mayor variación en los 242 casos que en los 129 controles. Este método no es muy bueno para el descubrimiento de genes, pero es perfecto para la búsqueda de candidatos. Sólo hay que secuenciar lo que necesita. Los investigadores encontraron nuevas variantes. Por ejemplo, observaron que varias mutaciones puntuales en el gen de la ataxina-2 ocurren con más frecuencia en la ELA. Esto apoya los análisis previos que han vinculado la expansión de la repetición en ataxina-2 con el aumento del riesgo de ELA. También encontraron variantes de un gen llamado ALS2, que ha sido asociado con la enfermedad juvenil, sugiriendo que el gen podría contribuir al riesgo de

ELA en adultos. Estas y otras nuevas variantes es probable, aunque no esté probado, que estén relacionadas con los genes asociados a la ELA.

#### Referencias:

**Couthouis J, et al.** "Targeted exon capture and sequencing in sporadic amyotrophic lateral sclerosis". *PLoS Genet.* 2014 Oct 9;10(10).

---

## ESTUDIOS CELULARES

---

### ALGUNAS CHAPERONAS OBTENIDAS DE LEVADURAS "FUNDEN" LOS AGREGADOS DE PROTEÍNAS.

La reorganización de chaperonas deshacen los agregados y vuelven a plegar las proteínas mutantes asociadas con la ELA, demencia frontotemporal (DFT) y enfermedad de Parkinson (EP), según los datos que aparecen en un artículo publicado el 25 de julio online en la revista *Disease Models & Mechanisms*.

Las variantes de la proteína de choque térmico 104 (Hsp104), una chaperona modificada, revierten la toxicidad del mutante de  $\alpha$ -sinucleína, TDP-43, FUS, y TAF15 en células de levadura. "No se conoce nada más que pueda hacer esto", comentó el principal autor del trabajo James Shorter de la Escuela de Medicina de Perelman de la Universidad de Pennsylvania en Filadelfia.

Esto quiere decir que se podrían producir proteínas de diseño que eliminasen específicamente los agregados patogénicos sin interferir con los mecanismos normales de las chaperonas de la célula. Sin embargo, es difícil imaginar cómo este mecanismo específico se podría traducir directamente a las personas, ya que los humanos no tienen ningún homólogo de Hsp104.

Shorter y sus colaboradores seleccionaron Hsp104 debido a que ya era conocido que disolvía fibrillas amiloides y otros oligómeros solubles. Utilizaron la reacción en cadena de la polimerasa propensa a errores para producir aleatoriamente mutaciones en todo el gen Hsp104 y tras ello examinaron las variantes que permitirían a la levadura sobrevivir a la toxicidad de TDP-43. Ya a principios de este año Jackrel publicó que varios mutantes efectivos Hsp104 destruyeron agregados de tipo salvaje (no mutantes) de TDP-43,



FUS, y  $\alpha$ -sinucleína. En cambio, Hsp104 de tipo salvaje, no disolvía dichos agregados de proteínas. Los autores continúan combinando y mezclando las mutaciones individuales para averiguar cuál sería la que da lugar a la mejor desagregasa. Su hipótesis es que las distintas variantes podrían trabajar mejor según el tipo de agregado que deseemos disolver.

Debido a que las mutaciones en TDP-43, FUS, o  $\alpha$ -sinucleína causan una variedad de enfermedades neurodegenerativas hereditarias, Shorter y Jackrel probaron variantes Hsp104 contra estas proteínas mutantes. Se co-expresaron ocho versiones diferentes de Hsp104, individualmente, con una de las tres variantes de TDP-43, dos variantes FUS, y dos variantes de  $\alpha$ -sinucleína. Jackrel unieron los transgenes a un promotor activado por galactosa y probaron cómo crecía cada cepa doble mutante en un medio con galactosa. Mientras que el mutante TDP-43, FUS, y  $\alpha$ -sinucleína eran tóxicos para la levadura, la expresión adicional de las variantes de Hsp104 permitió a las células sobrevivir. Además, Jackrel observó a través de microscopía de fluorescencia que los agregados de las proteínas tóxicas disueltas en cepas coexpresaban con las variantes de Hsp104 alanina-503-valina (A503V) o valina-426-leucina, pero no con las normales no mutadas.

A continuación, Jackrel probó las desagregasas de Hsp104 contra otras proteínas con funciones similares a TDP-43, como lo son FUS, TAF15 y EWS. Las mutaciones en estas proteínas también se han vinculado a ELA y DFT, y se agregan tanto en tejidos de pacientes como en sistemas modelo. Una variante de Hsp104 (A503S) funcionó contra TAF15, pero ninguna de las variantes de Hsp104 funcionó con EWS. De hecho, varias de las chaperonas modificadas hacían a EWS más tóxica. Sospechan que para EWS, las variantes Hsp104 agravan el mal plegamiento en lugar de revertirlo, aunque no entienden por qué. Los resultados indican que las variantes Hsp104 no son desagregasas generales que atacan cualquier proteína desplegada, sino que poseen cierta especificidad por el sustrato, como hemos visto en este estudio.

¿Cómo seleccionan entonces las variantes de las chaperonas sus sustratos? Para investigarlo, se empleó Hsp104 purificada para desplegar la proteína verde fluorescente (GFP) hasta que perdía su fluorescencia. Añade seis residuos de histidina a la GFP que actúa como un gancho corto de desplegamiento

que permite a la chaperona engancharse. La Hsp104 de tipo salvaje desplegaba algo a GFP, pero la variante A503V lo consiguió en mayor medida. Ni Hsp104 de tipo salvaje ni la variante desplegaban GFP si la etiqueta de histidina faltaba. Además, Hsp104-A503V es una desagregasa más potente que reconoce incluso regiones muy cortas desplegadas de sustratos con mayor precisión que la Hsp104 de tipo salvaje. Estos hallazgos ayudarán a los autores a desarrollar variantes de Hsp104 que sean específicas para diferentes sustratos, como TDP-43 o FUS.

Aunque se haya descubierto una potente actividad bioquímica para revertir el mal plegamiento de proteínas. El reto está en conseguirla donde más se necesita, en las enfermedades humanas. Es increíble que se pueda tomar una proteína de choque térmico y adaptarla para reconocer las diferentes proteínas. La preocupación es, ¿cómo se consigue trasladarlo a la clínica? Las chaperonas modificadas tendrían que alcanzar el sistema nervioso, lo cual no es fácil.

Shorter y colaboradores están probando sus variantes en nemátodos, moscas de la fruta, ratones y ratas. En el estudio anterior, Jackrel expresó las variantes Hsp104 en un modelo de Parkinson en *Caenorhabditis elegans* – se eliminaba la  $\alpha$ -sinucleína de tipo salvaje (no mutada) de los agregados, devolviéndola a donde pertenecía y protegiendo a las neuronas dopaminérgicas. Además, la Hsp104 de tipo salvaje también se ha probado que minimiza el número de agregados y protegen a las neuronas de la neurodegeneración en un modelo de rata de EP.

Shorter planea modificar chaperonas humanas para promover la actividad desagregasa contra proteínas específicas de la enfermedad. Como estrategias terapéuticas potenciales, sugiere la administración de genes mediante virus, o la inyección directa de la proteína en el cerebro para la desagregación transitoria y evitar los efectos secundarios derivados de una respuesta inmune a la proteína de la levadura.

#### Referencias:

**Jackrel ME, y Shorter J. "Potentiated Hsp104 variants suppress toxicity of diverse neurodegenerative disease-linked proteins". *Dis Model Mech.* 2014 Jul 25.**

## FÁRMACOS Y BIOMARCADORES CANDIDATOS PARA LA ELA Y DFT RELACIONADA CON C9ORF72.

El 14 de agosto en la revista *Neuron*, se publicó un posible tratamiento y un potencial biomarcador para la ELA y la demencia frontotemporal causada por mutaciones en el gen C9orf72. Leonard Petrucelli de la Clínica Mayo en Jacksonville, Florida, y Matthew Disney del Instituto de Investigación Scripps en Júpiter, Florida, desarrollaron pequeñas moléculas que se unen al ARN producido por el gen maligno. Los compuestos se adhieren a las repeticiones GGGGCC del ARN y evitan su traducción a polipéptidos. Los autores también publicaron que uno de esos péptidos, poli (glicina-prolina), se acumula en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los portadores de la expansión C9orf72, por lo que podría ser un biomarcador candidato para evaluar rápidamente si las terapias dirigidas a C9orf72 funcionan en las personas.

La expansión de las repeticiones del hexanucleótido en el intrón 1 del gen C9orf72 es la causa genética más común de la ELA y DFT. La mayoría de las personas portan algunas de las repeticiones GGGGCC, pero algunos tienen cientos o miles, lo que les predispone a la enfermedad. El gen corrupto produce ARN repetitivos que van tanto en dirección sentido (GGGGCC), como antisentido (CCCCGG) y forman foci que los investigadores sospechan que pueden ser tóxicos. Por otra parte, los ARNs se someten a traducción no estándar (RAN), dando lugar a cinco productos de la repetición del dipéptido diferentes (DPRs) que también podrían causar la enfermedad.

En este estudio, Disney y Petrucelli tenían como objetivo las repeticiones de ARN y péptidos, junto con moléculas pequeñas que se unen a los ARN y bloquean la traducción. Disney había desarrollado previamente una molécula pequeña que se une a repeticiones CGG en el retraso mental del gen X frágil 1 (FMR1), que causan el síndrome de temblor y ataxia asociado al X-frágil. Los científicos llamaron al fármaco 1a por simplicidad; el nombre completo de esta molécula de cinco anillos es 9-hidroxi-5,11-dimetil-2-(2(1-piperidin-il)etil) 6H-pirido [4,3-b] 2-carbozolum. Disney se preguntó si 1a también podría interactuar con las secuencias GGGGCC en la expansión de la repetición C9orf72.

Analizaron 132 moléculas que tenían estructuras que recordaban a 1a y podrían unirse al ARN. Esto a tres compuestos de plomo que interac-

cionaban con las repeticiones C9orf72, 1a y las repeticiones, los autores los nombró 2 y 3. En el grupo de Petrucelli, probaron los tres compuestos en cultivo de células de riñón de embrión humano (HEK) que expresan 66 repeticiones GGGGCC. Estos ARNs forman foci en las células, pero el tratamiento con cualquiera de los fármacos 1a o 2 disminuyó su número. Las células HEK traducen los ARN en dipéptidos poli (GP) y poli (glicina-alanina), pero 1a y 2 anulan la producción de esos péptidos. El compuesto 3, sin embargo, no afectó a los foci de ARN y sólo inhibieron ligeramente la producción de poli(GP). A continuación, el grupo de Petrucelli probaron los compuestos 1a y 2 en un modelo celular que imita mejor las neuronas afectadas en la DFT y ELA. Obtuvieron fibroblastos de las personas con la expansión de la repetición C9orf72 y los diferenciaron en neuronas (iNeurons). El compuesto 2 era tóxico para estas células, pero 1a redujo los foci de ARN y poli (GP).

Disney y sus colegas continuaron el análisis para detectar incluso compuestos mejores. Petrucelli espera probar 1a en otras líneas celulares de pacientes y en modelos animales, que están en desarrollo para extensiones C9orf72. Aunque 1a cruza la barrera hemato-encefálica, interactúa sólo con repeticiones que van en dirección sentido. Disney quiere desarrollar una pequeña molécula que podrían dirigirse al ARN antisentido, y también posiblemente a ambas repeticiones de ARN a la vez.

En el caso de que cualquier tratamiento específico para C9orf72 llegue a la fase de ensayo clínico, los investigadores se beneficiarían de una prueba rápida para ver si el medicamento funciona. El grupo de Petrucelli ha desarrollado un ensayo basado en anticuerpos para identificar uno de los péptidos de la repetición, poli (GP), en el líquido cefalorraquídeo. Probaron el ensayo en muestras de 14 personas con ELA debida a expansiones C9orf72, 25 personas con ELA, pero sin expansiones y cinco controles sanos. Las personas con expansiones tenían claramente más poli (GP) que los otros dos grupos. Fue bastante notable la separación entre personas sanas y pacientes C9orf72. Es casi una prueba de diagnóstico, más que un biomarcador. El biomarcador podría constituir un "cambio de situación" en los ensayos clínicos, permitiendo a los investigadores evaluar rápidamente la eficacia.

Entre las personas con la expansión C9orf72, los niveles de poli (GP) variaron más de 10 veces. Esto plantea muchas más preguntas sobre cómo las concentraciones de dipéptidos en el líquido

cefalorraquídeo pueden correlacionar con el número de repeticiones, inicio de la enfermedad, gravedad de la enfermedad, u otros factores. Petrucelli tiene previsto examinar el biomarcador más adelante en un estudio longitudinal. Su grupo tiene también como objetivo desarrollar ensayos contra las otras cuatro repeticiones dipeptídicas producidas por los ARNs expandidos de C9orf72.

#### Referencias:

**Su Z, Zhang Y, et al. "Discovery of a Biomarker and Lead Small Molecules to Target r(GGGGCC)-Associated Defects in c9FTD/ALS". *Neuron*. 2014 Aug 13.**

---

### INVESTIGADORES OBTIENEN CÉLULAS MADRE DE PACIENTES FALLECIDOS PARA ESTUDIAR ENFERMEDADES ACTUALES.

Investigadores científicos han desarrollado un nuevo método para recrear células madre cerebrales e intestinales a partir de células de pacientes que murieron hace décadas, empleando ADN de muestras de sangre almacenadas para estudiar las causas potenciales de enfermedades degenerativas como la enfermedad inflamatoria intestinal.

La investigación de laboratorio, publicada en la revista *Stem Cells Translational Medicine*, por Barret y su grupo del Centro Médico Cedars-Sinai en diciembre, podría producir nuevas terapias para personas que sufren enfermedad de neurona motora y otras relacionadas con el intestino que resultaron mortales para los pacientes fallecidos que hace mucho tiempo ofrecieron voluntariamente sus muestras de sangre.

Las implicaciones potenciales de esta investigación son enormes, empleando muestras sanguíneas almacenadas de pacientes muertos, Sareen y sus colaboradores encontraron que podían desarrollar células madre pluripotenciales inducidas conocidas como iPSCs en una placa Petri, esencialmente reanimando células enfermas de pacientes muertos hace mucho tiempo. Esta estrategia permite a los investigadores conectar las lagunas existentes entre los síntomas, la información genética de un paciente fallecido contenida en el ADN y el comportamiento de las células madre en el laboratorio. Esto, a su vez, permite a los investigadores estudiar los mecanismos biológicos de las enfermedades y diseñar nuevas terapias.

La técnica también permite a los médicos sus-

tituir los procedimientos invasivos de biopsia que se necesitan de pacientes vivos para crear células iPSC.

Estos nuevos desarrollos permiten crear nuevas líneas de células madre a partir de, literalmente, millones de muestras de pacientes almacenados en grandes depósitos. Además, algunos de estos pacientes fallecidos fueron diagnosticados con enfermedades raras e importantes.

La investigación en el Centro Médico Cedars-Sinai representa un paso adelante en la búsqueda para avanzar en tratamientos médicos personalizados y precisos para pacientes que luchan contra muchos tipos de enfermedades. La enfermedad de Crohn es de las primeras en ser estudiadas de esta forma en el laboratorio. Los investigadores pueden ahora obtener un intestino completo en una placa Petri de pacientes fallecidos con un tipo específico de enfermedad de Crohn causada por una mutación rara. Esta investigación permitirá comprender mejor cómo estas mutaciones afectan el intestino.

#### Referencias:

**Barret, R. "Reliable Generation of Induced Pluripotent Stem Cells From Human Lymphoblastoid Cell Lines." *Stem Cells Transl Medicine*. Dec;3(12):1429-34.**

---

### LOS ASTROCITOS GERIÁTRICOS FALLAN A LAS NEURONAS MOTORAS EN MODELOS DE ELA.

Las personas mayores pueden recibir un impulso de la fuerza y vitalidad de los jóvenes y las células envejecidas podrían experimentar un beneficio similar. Según un artículo publicado en *Neurobiology of Aging* por el grupo de Svendsen y Das, del Centro Médico Cedars-Sinai, las neuronas motoras sobreviven más tiempo cuando están rodeadas por astrocitos jóvenes. Sin embargo, los astrocitos de mayor edad constituyen un equipo de apoyo débil. Además, los astrocitos mayores que albergan mutaciones que causan ELA desempeñan esta función de apoyo aún peor. Das y Svendsen han identificado un potencial elixir rejuvenecedor, encontraron que el factor neurotrófico derivado de la glia (GDNF) ayudó a los astrocitos mayores a proteger las neuronas motoras. El grupo de Svendsen planea generar astrocitos productores de GDNF a partir de células madre y probarlos en ratas envejecidas normalmente y en modelos de ratones de ELA. Se sabe que los astrocitos de animales modelo de ELA que expresan la forma mutante de la superóxido dismutasa humana 1 intoxican a las

neuronas motoras en co-cultivo. Sin embargo, Das encontró que no era el caso si los astrocitos que provenían de crías de rata de 2 días de edad. Lo mismo puede decirse de los astrocitos normales sin mutación. Además, las células jóvenes mantuvieron a las neuronas motoras mucho mejor que lo hizo la glía de ratones de 5 meses de edad. ¿Cuál es la diferencia con los astrocitos mayores? Das vio que presentaban más daño en el ADN que las células jóvenes. Si bien aunque esto sea a menudo un signo de senescencia celular, estos astrocitos permanecen. Para estudiar la senescencia de astrocitos in vivo, Das examinó la médula espinal de los ratones de normales de mediana edad, de mayor edad y de animales mutantes SOD1 en su etapa terminal. Los astrocitos de ratones normales, a los 150 días de edad, parecían también normales. Los astrocitos de ratones de 300 días de edad, de tipo salvaje (sin mutación) y los de 150 días de edad de ratones mSOD1, que es aproximadamente el tiempo que estos ratones sobreviven, expresaron marcadores de senescencia, incluyendo  $\beta$ -galactosidasa y supresores de tumores p16 y p21. La senescencia ocurre generalmente cuando una célula está estresada y acumulan daños. Los astrocitos mSOD1 parecían estar en un curso acelerado de envejecimiento por lo que Das sugirió que se están sobrecargando de trabajo.

¿Podría haber algo que pudiera nutrir a estos astrocitos? En estudios previos, el laboratorio de Svendsen encontró que el GDNF protege a las neuronas motoras en un modelo de rata mSOD1. Cuando Das trató a los astrocitos de ratas de tipo salvaje de mayor edad y ratones mSOD1 en fase terminal con GDNF durante una semana, las células parecían rejuvenecer. De esta manera disminuyeron la producción del marcador de senescencia p21 y también de la citoquina proinflamatoria IL-6. Por otra parte, los astrocitos tratados con GDNF mantuvieron las neuronas motoras vivas en co-cultivo durante más tiempo que los astrocitos sin tratar. Los investigadores todavía están tratando de averiguar cómo mSOD1 influye en la salud y la actividad de los astrocitos. Recientemente, algunos científicos publicaron que los astrocitos mutantes expresan una bomba de sodio/potasio. Es demasiado pronto para decir si el GDNF afecta esa bomba, o si el factor de crecimiento y la bomba forman parte de vías paralelas que afectan la salud de los astrocitos.

Das y Svendsen esperan que las células productoras de GDNF derivadas de células madre pluri-potentes inducidas puedan beneficiar tanto a los

astrocitos como a las neuronas motoras en las personas con ELA familiar debido a mutaciones SOD1. Si los astrocitos de edad también fallan en personas con otras formas de ELA, dicho tratamiento podría beneficiarles también.

#### **Referencias:**

**Das M, y Svendsen C. "Astrocytes show reduced support of motor neurons with aging that is accelerated in a rodent model of ALS". *Neurobiology of Aging*. Online 25 Sep. 2014.**

---

## **MECANISMOS DE LA ENFERMEDAD**

---

### **EL TRABAJO SUCIO DE C9ORF72 REALIZADO POR PROBLEMAS PROTEICOS.**

Las expansiones de la repetición en el gen C9orf72 son la principal causa genética de la demencia frontotemporal (DFT) y ELA, pero por desgracia, aún no se conoce si estas repeticiones causan estragos a través de las moléculas de ARN curvadas o a través de la agregación de las proteínas de la repetición del dipéptido repetido que se traduce. Ahora, un estudio publicado el 7 de agosto en Science Express señala directamente a los dipéptidos. Los investigadores dirigidos por Adrian Isaacs del Colegio Universitario de Londres modificaron secuencias C9orf72 en moscas para distinguir entre los efectos de ARN y las proteínas mal plegadas. Publicaron que las proteínas de repetición de dipéptidos traducidos son necesarias para causar la neurodegeneración y muerte en los insectos. Estos resultados pueden orientar a los investigadores hacia los mecanismos de traducción que producen los dipéptidos. Las expansiones de la repetición del hexanucleótido ocurren dentro de un intrón del gen C9orf72. Las personas sanas tienen menos de 33 repeticiones, mientras que las personas con ELA o DFT pueden llevar cientos de miles. La transcripción de estas secuencias conduce a especies de ARN que forman los agregados nucleares supuestamente tóxicos en las neuronas. Sin embargo, a través de un proceso inusual llamado traducción de la repetición no asociada a ATG (RAN), las repeticiones intrónicas generan proteínas de repetición del dipéptido que a su vez son propensas a agregar. La contribución relativa de estas proteínas patogénicas, de las especies de ARN a la enfermedad y las complejas relaciones que probablemente existen entre los dos, son un área

de intensa investigación.

El interés en la disección de la toxicidad de ARN y proteínas ha tenido lugar desde hace mucho tiempo, ya que si se quiere desarrollar una terapéutica adecuada, se tiene que saber lo que subyace a la neurodegeneración. Para desentrañar las contribuciones del ARN, así como de los dipéptidos, crearon repeticiones de "único ARN" (que no iban a poder generar los dipéptidos). Se clonaron cadenas perfectas, y estables de tres a 288 repeticiones del hexanucleótido y se insertaron codones de parada cada 12 repeticiones para evitar la traducción. Usando espectroscopía de dicroísmo circular para observar la estructura de las moléculas de ARN resultantes, los investigadores encontraron un complejo estable llamado G-cuádruplex. Esto se ha asociado con la ELA/DFT, formando ARNs con o sin los codones de parada adicionales. Ambos tipos de ARN también formaron foci de ARN cuando se transfectaron en células de neuroblastoma, lo que sugiere que los codones adicionales no impidieron la formación de estructuras de ARN asociados con la enfermedad.

Para discernir si estas estructuras de ARN podrían causar neurodegeneración por sí solas o si se requieren péptidos traducidos, los investigadores generaron varias líneas de moscas de la fruta que expresaban diversas construcciones. Las proteínas de 36 o 103 repeticiones de dipéptidos traducibles desencadenaban la degeneración en el ojo, una característica distintiva de la degeneración de los fotorreceptores de las neuronas que produce un fenotipo obvio y las moscas murieron. Por el contrario, las repeticiones de hasta 288 de "única-mente ARN" no provocaron en las moscas ningún daño, incluso cuando se intensificó la expresión de esas construcciones. Cuando se provocó la expresión de las repeticiones traducibles en las neuronas de la mosca adulta se disminuía su supervivencia, mientras que las moscas adultas que expresaban las construcciones intraducibles vivieron un tiempo de vida normal.

Debido a que los resultados con "único ARN" sugirieron que las proteínas juegan un papel crucial en la mediación de la degeneración, a continuación los investigadores crearon construcciones de "única proteína" para analizar el papel de las repeticiones de dipéptidos en la enfermedad. Para ello, utilizaron codones alternativos que dieron lugar a la traducción de las proteínas con las repeticiones pero no del ARN. Obtuvieron construcciones de "única proteína" para los cuatro tipos de proteínas de repetición de dipéptidos que se encuentran en las expansiones de C9orf72: glicina-alanina, prolina-alanina, glicina-arginina, y prolina-arginina. Las moscas que expresan

proteínas de repetición de 36 o 100 dipéptidos que contiene arginina presentaban deformidades grotescas en sus ojos y murieron antes de lo habitual. Los investigadores llegaron a la conclusión de que existía algo en relación a la naturaleza altamente básica de residuos de arginina que podría ser responsable de causar problemas con la homeostasis de las proteínas en las células. Este trabajo pone el mecanismo de traducción RAN realmente en el centro de la investigación, y demuestra claramente que incluso las repeticiones cortas producidas a través de este mecanismo son altamente tóxicas.

¿Los resultados descartan un papel para el ARN en la toxicidad C9orf72?... Probablemente no, La cadena más larga de repeticiones "único ARN" que construyeron los investigadores contenía 288 repeticiones, y es posible que secuencias más largas podrían causar patogenicidad a nivel del ARN. Los datos sugieren que si se trabaja con repeticiones cortas, probablemente se modele la toxicidad de proteínas. Una vez que se desarrollen repeticiones más largas, entonces se podrá empezar a ver la toxicidad del ARN.

En un paciente con repeticiones muy extensas, es posible que exista una contribución del ARN a la toxicidad. Se tendría que aceptar que se pueden tener mecanismos duales que sean concomitantes y no se concentren en uno sólo. Los dipéptidos pueden afectar también a la producción de ARN. Otros investigadores publicaron en la misma edición impresa de Science que dipéptidos C9orf72 que contienen arginina atravesaron el nucléolo y malograron la producción de ribosomas y de ARN mensajero en cultivos celulares. ¿Qué significan para la enfermedad humana estos hallazgos en las células y en las moscas? La toxicidad de dipéptidos que contienen arginina debe ser confirmada en las células y tejidos humanos y se deben medir los niveles de los péptidos en las células de pacientes. Sin embargo, la fuerza de la toxicidad en las moscas sugiere un posible efecto en los seres humanos. Los resultados apuntan hacia posibles enfoques terapéuticos tales como pequeñas moléculas que impidan la traducción RAN. También sugieren que los portadores de la expansión C9orf72 que tienen niveles más altos de estos productos de la traducción pueden ser más propensos a desarrollar antes síntomas de la enfermedad.

#### **Referencias:**

**Mizielinska S, et al. "C9orf72 repeat expansions cause neurodegeneration in *Drosophila* through arginine-rich proteins". *Science*. 2014 Aug 7.**



## LOS DIPÉPTIDOS ANTISENTIDO RAN PROLINA-ARGININA RELACIONADOS CON C9ORF72 EN ELA/DFT FORMAN AGREGADOS NUCLEARES TÓXICOS.

La expansión de la repetición de nucleótidos GGGGCC (G4C2) dentro del gen C9orf72 es la causa genética más común asociada con la ELA y la demencia frontotemporal (ELA/DFT). La expansión de repeticiones en genes causan muchas enfermedades en humanos, los pacientes C9orf72 portan desde decenas a centenas de estas repeticiones G4C2, mientras que la mayoría de los individuos sin afectar no poseen más de 2 a 25 repeticiones. La correlación entre estas repeticiones expandidas y la severidad clínica de los síntomas ya se ha establecido, sin embargo los mecanismos por los que causan la neurodegeneración continúan bajo investigación.

Las hipótesis de la pérdida de función se apoyan en investigaciones en el pez cebra aunque la confirmación se encuentra pendiente en modelos de mamíferos. Por otro lado, las líneas de evidencias que apoyan una hipótesis de ganancia de función tóxica en la patogénesis de la ELA/DFT relacionada con C9orf72 han empezado a surgir recientemente. Por ejemplo, los transcritos RAN (repeticiones traducidas no asociadas a ATG) sentido y antisentido de G4C2 que forman 5 proteínas de repetición de dipéptidos (DPRs) se acumulan en foci nucleares de neuronas de diferentes áreas del sistema nervioso central en pacientes C9-ELA/DFT; los oligonucleótidos antisentido contra C9orf72 reducen el secuestro de proteínas de unión a ARN e incrementa la sensibilidad a glutamato de las neuronas derivadas de células madre pluripotentes inducidas de pacientes; y las expansiones de las repeticiones de G4C2 adoptan motivos G-cuádruplex estables, que secuestran ribonucleoproteínas críticas para la supervivencia celular. En el trabajo publicado en la revista *Neuron* por Wen de la Universidad Thomas Jefferson de Philadelphia y sus grupos de colaboradores muestran que los dipéptidos ricos en arginina, en particular Prolina-Arginina (PR) son potencialmente neurotóxicos. Para ello transfectan neuronas corticales y motoras de cultivos primarios con construcciones obtenidas mediante una estrategia de codones aleatorios para expresar proteínas con repeticiones traducidas no asociadas a ATG evitando la repetición de secuencias GC, y por otro lado construcciones que codifican las secuencias intrónicas expandidas G4C2 que no inician la traducción RAN, o construcciones

que eliminan eficientemente C9orf72. También emplean técnicas de imagen in vivo y modelos con *D. melanogaster*.

Los factores que anticipan la neurotoxicidad de los dipéptidos de repetición (PR) incluyen la agregación en nucléolos, el descenso del número de cuerpos procesados y la formación de gránulos de estrés, que inicia una cascada de eventos dirigidos a la neurodegeneración mediante la alteración del procesamiento de ARN y la regulación postranscripcional de la expresión de genes. Los agregados nucleares PR se han encontrado también en neuronas motoras humanas y tejidos postmortem de la médula espinal de pacientes C9-ELA y C9-ELA/DFT. Los transcritos intrónicos G4C2, pero no la pérdida de la proteína C9orf72, también son tóxicos para las neuronas motoras y corticales. Es interesante que la neurotoxicidad mediada por los transcritos G4C2 sinergice con los agregados PR sugiriendo una convergencia de mecanismos. En general, los datos presentados en el artículo apoyan un mecanismo de ganancia de función de C9orf72-ELA/DFT por toxicidad e identifica especies tóxicas relevantes en esta vía. La pérdida de función de C9orf72 empleando aproximaciones con knockdown no tienen impacto en la supervivencia ni de las neuronas corticales, ni de las motoras, sugiriendo que la pérdida de la función de C9orf72 podría no ser el único mecanismo que contribuya a la neurodegeneración. Sin embargo, no se conoce cuál podría ser el impacto de la eliminación de C9orf72 sobre las neuronas a lo largo de la vida humana. Además, no se puede excluir con seguridad la hipótesis de la pérdida de función como un mecanismo que contribuya a la neurodegeneración en C9-ELA/DFT.

La identificación de las especies tóxicas relacionadas con C9orf72 podría permitir el diseño de terapias dirigidas que específicamente estén orientadas a interrumpir la formación más que a afectar la cascada de eventos por debajo de su posición en la ruta metabólica en que está implicado. En particular, esto podría reducir el riesgo de efectos secundarios indeseados. Puesto que la toxicidad de las proteínas de repetición de dipéptidos parece ser dependiente de la acumulación de dipéptidos PR, quizás una estrategia dirigida selectivamente a prevenir o romper estos agregados nucleares tendría más posibilidades de éxito.

### Referencias:

Wen X., et al. "Antisense Proline-Arginine RAN Dipeptides Linked to C9ORF72-ALS/FTD Form Toxic nuclear Aggregates that Initiate In Vitro and In Vivo Neuronal Death". *Neuron*. 2014 Dec 17;84(6):1213-25.

## LA ESTRUCTURA DE TDP-43 REVELA UN EXTREMO AMINO DE DOS CARAS.

El extremo amino de TDP-43 ha evitado su caracterización estructural debido a su tendencia a agregar. Sin embargo, se ha revelado por fin su forma, de hecho dos formas: el dominio cambia entre una conformación bien plegada de unión a ácidos nucleicos y una mezcla poco definida propensa a agregar, según un artículo publicado en *Proceedings of the National Academy of Sciences* en diciembre.

Inesperadamente, la conformación plegada se parece mucho a la ubiquitina, pero este modelo se une a ácidos nucleicos en lugar de proteínas. Los autores de la Universidad Nacional de Singapur proponen que la configuración plegada podría desempeñar su función en el núcleo, donde TDP-43 regula la expresión de genes, mientras que probablemente la configuración desorganizada promueva la agregación citoplasmática. Algunas pequeñas moléculas que bloqueen el dominio de forma constante podrían tener propiedades terapéuticas para las protei-nopatías TDP-43, que incluyen la ELA y la demencia frontotemporal, según sugiere el autor principal Jianxing Song.

Además del dominio amino terminal, TDP-43 contiene dos motivos de unión a ARN y un dominio carboxilo terminal rico en glicina. La mayoría de las mutaciones relacionadas con estas enfermedades se agrupan en el extremo carboxilo, por lo que los científicos centraron su atención en esta región. Sin embargo, en los últimos años el grupo de investigadores de la Clínica Mayo en Jacksonville, Florida, publicaron que el extremo amino de la proteína media la función de TDP-43 en el procesamiento de ARN y en su agregación. Las estructuras duales de Song muestran cómo el extremo amino puede estar involucrado en estos procesos.

TDP-43, al igual que muchas proteínas implicadas en la neurodegeneración, confunden a los biólogos estructurales con su agregación. En TDP-43, el extremo amino terminal tiene la mayor propensión a agruparse. A Song y al primer autor del estudio Haina Qin se les ocurrió un truco para descifrar las estructuras de estas proteínas normalmente insolubles por simple disolución en agua purificada libre de sales. Ya habían aplicado esta técnica para romper las estructuras de las proteínas relacionadas con la ELA, SOD1 y VAPB. Con el dominio amino TDP-43 en agua pura, fueron capaces de utilizar tanto resonancia magnética nuclear (RMN), como

dicroísmo circular para resolver sus estructuras. Observaron la forma desordenada en equilibrio con la forma bien plegada y cuanto más concentrada estaba la proteína, más probable era que adoptara la forma propensa a agregar.

La versión más rígida, sorprendentemente, se pliega como la ubiquitina. Sin embargo, la secuencia de aminoácidos de TDP-43 no posee similitud con la ubiquitina; ni siquiera contiene las lisinas utilizadas por la ubiquitina para conectar con proteínas diana. Algunos investigadores eran escépticos respecto a que TDP-43 pudiera formar un pliegue de tipo ubiquitina, pero se encontró que los datos de RMN eran convincentes. Sin esas lisinas, ¿a qué se une esta imitadora de la ubiquitina? TDP-43 contiene dos regiones de interacción con ARN conocidos y se había publicado que el extremo amino terminal se unía al ADN. Song y sus colaboradores incubaron el dominio amino con ácidos nucleicos para buscar estas interacciones. Se sabe que TDP-43 se une a ARNs con uridinas y guaninas que se alternan, así que lo intentó con el constructo UGUGUG y con el correspondiente ADN monocatenario con timinas y guaninas. El extremo amino, cuando se pliega, se une a ambos ácidos nucleicos. Las proteínas de unión al ARN suelen exhibir afinidad por el ADN por lo que se ha sugerido que en la célula, el dominio amino TDP-43 sería más probable que se uniese a ARN que a ADN. Se sabe que miles de ARNs interactúan con TDP-43, mientras que sólo un par de secuencias de ADN lo hacen.

Lo mejor de este descubrimiento es que el dominio amino terminal de TDP-43 es el primer pliegue de tipo ubiquitina que se puede unir directamente a ácidos nucleicos. Otras proteínas podrían contener dominios de estructura similar, pero que no serían evidentes mirando únicamente la secuencia. Tal vez, la técnica de agua pura empleada por Song revele otros hermanos estructurales de la ubiquitina.

Típicamente, las proteínas con conformaciones alternativas cambian entre dos estados firmemente plegados, aunque al menos existe otro tipo de dominio que presenta dos conformeros: un estado estructurado y otro no estructurado. En el caso de TDP-43, los primeros 25 residuos de la proteína son más desordenados que los de la ubiquitina, lo que podría explicar su tendencia a relajarse.

Song propone que en TDP-43 existe un equilibrio entre formas bien estructuradas y las relajadas. La versión plegada forma oligómeros funcionales en el núcleo, donde regula la expresión génica. Las proteínas mal plegadas se unen para formar inclusiones en el citoplasma.

¿Por qué la proteína contiene una región que la hace propensa a plegarse mal y a agregarse? Se piensa que es un compromiso de la naturaleza, se especula con que los pliegues inusualmente relajados del extremo amino de TDP-43 podrían permitir que sea algo inespecífico en su unión, por lo que podría encontrar todos esos diferentes objetivos de ARN. Sin embargo, este estudio in vitro no podría confirmar que el mismo cambio plegado-desplegado ocurra en las células.

Si las dos conformaciones surgen en las células, Song y sus colaboradores sugieren un modelo en el que la versión bien plegada asiste al ARN en el núcleo, mientras que la versión flexible agrega en el citoplasma. La alta concentración de TDP-43 en los gránulos de estrés podría promover el cambio a esta última conformación e iniciar la agregación. Los resultados sugieren una posible vía para tratar las proteinopatías de TDP-43 impidiendo su despliegue y agregación. Ahora se están centrando en el descubrimiento y diseño de moléculas para estabilizar la forma plegada del extremo amino-terminal de TDP-43, en un intento de desarrollar fármacos guías.

#### Referencias:

**Song, J. "TDP-43 N terminus encodes a novel ubiquitin-like fold and its unfolded form in equilibrium that can be shifted by binding to ssDNA". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Dec 30;111(52):18619-24.**

---

### CRISIS ENERGÉTICA: EN UN MODELO COMPUTACIONAL, LA DEFICIENCIA DE ATP CONDENA A LAS NEURONAS MOTORAS.

Por primera vez, los investigadores de la ELA han utilizado un modelo computacional para examinar por qué las neuronas motoras son tan susceptibles a la degeneración. Publicaron online en la revista *Neuron* el 31 de julio que incluso una ligera escasez de ATP conduce a las neuronas in silico a un circuito de retroalimentación mortal, en el que las bombas de sodio-potasio demandan cada vez más y más energía de un suministro celular cada vez más escaso. En una neurona real, esto probablemente sería mortal, comentó el coautor del estudio Serge Przedborski, de la Universidad de Columbia en Nueva York. Los autores no tienen conocimiento de que existan otros investigadores que hayan intentado modelar la enfermedad neurodegenerativa en un sistema computacional similar basado en

células. El primer autor Gwendal Le Masson visitó la Universidad de Columbia durante su año sabático en la Universidad de Burdeos, Francia. Ya en Nueva York, desarrolló el modelo en colaboración con Przedborski, que proporcionó una orientación sobre neurociencia, y Larry Abbott, quien proporcionó su experiencia computacional. Los autores modificaron una neurona genérica, en un simulador de uso común llamado NEURON, de modo que se pareciera a una neurona motora. Alargaron su axón y ajustaron a la distribución de bombas de iones de sodio, potasio y calcio para que coincidiese con los parámetros conocidos de las neuronas motoras reales. Przedborski estaba interesado en analizar la contribución de la mitocondria en la ELA, por lo que decidió probar la hipótesis de que un menor suministro de ATP, podría conducir a que las mitocondrias enfermasen, afectando a las propiedades electrofisiológicas de la neurona. Si bien esta sería una cuestión complicada de analizar en un sistema vivo, computacionalmente fue capaz de concentrarse únicamente en las bombas de ATP y de iones. Eliminar únicamente el 15 por ciento de ATP de la neurona computacional resultaba desastroso, afectaba tanto a los transportadores de sodio-potasio como a la homeostasis del calcio. Las bombas de sodio y potasio dependiente de ATP normalmente entran en acción inmediatamente después del paso del impulso nervioso, restableciendo la polaridad adecuada en la membrana celular. Con menos ATP disponible para ello, los transportadores se desbordaron rápidamente. La neurona no se repolarizaba completamente, por lo que se hizo más propensa a la activación y a una nueva despolarización. Esto dio lugar a que los autores denominaron "bucle mortal" como la forma en la que las bombas de iones seguían tratando de repolarizar la membrana, utilizando más ATP, conduciendo al descenso de las reservas de ATP y al empeoramiento de la situación. Los transportadores de calcio también necesitan ATP para bombear este ion fuera del citosol, al retículo endoplásmico o fuera de la célula. Cuando se dejan caer los niveles de ATP, se observa que falla el almacenamiento amortiguador de calcio. Esto podría tener numerosas consecuencias negativas para la célula, debido a que una variedad de enzimas y factores de regulación son sensibles a las concentraciones de calcio. Se hipotetizó con que, a lo largo la vida, niveles de ATP bajos podrían sensibilizar a las neuronas motoras de una persona a la degeneración. Incluso entre las neuronas motoras, algunas son más vulnerables que otras. La energética de la

neurona computacional explica por qué podría ser esto. Le Masson modeló neuronas motoras denominadas rápidamente fatigables, que son particularmente propensas a la degeneración en la ELA y neuronas motoras lentas, que sobreviven más tiempo. Las células rápidamente fatigables son más grandes y están más ramificadas. Consumen más ATP por potencial de acción que las lentas y por supuesto, son más susceptibles al bucle mortal.

Los mecanismos potenciales por los que se produce la degeneración de las neuronas motoras no son nuevos. Lo novedoso de esta investigación es la simulación acerca de cómo las neuronas motoras pueden "morir de forma descendente" desde los terminales axónicos, tal y como se observa en los modelos animales. Incluso cuando el suministro de ATP se reduce sólo a los terminales de los axones, los efectos finalmente llegan al cuerpo celular y condenan a toda la célula.

Este modelo puede fusionar muchas observaciones relativas a la patogénesis de la ELA, reavivando el interés en los problemas energéticos globales. Mientras que los investigadores sospechaban que los defectos mitocondriales y la alteración bioenergética contribuyen a la ELA, este estudio es el primero en demostrar cómo una crisis energética celular puede dañar específicamente las neuronas. Por supuesto, cualquier estudio computacional presenta el inconveniente de ser artificial, aunque se verifique cuidadosamente el programa para asegurar que el comportamiento de la neurona computacional es como una de verdad. Es absolutamente posible que todavía se hayan omitido algunos elementos evidentes y lo modelado nunca vaya a suceder. Para comprobar sus resultados, Przedborski y Le Masson están llevando a cabo estudios electrofisiológicos y de imágenes de calcio en cultivos de neuronas. Przedborski espera examinar también computacionalmente otras cuestiones. Todo lo que se puede conceptualizar de una manera matemática puede ser modelado. Tiene la esperanza de estimular a otros investigadores para tratar por sí mismos el modelado computacional de la enfermedad neurodegenerativa. Es muy interesante y realmente potente para probar todo tipo de ideas en un sistema simplificado.

#### **Referencias:**

**Le Masson G, et al. "A Computational Model of Motor Neuron Degeneration". *Neuron*. 2014 Aug 20;83(4):975-988.**

## **EL SISTEMA XC ES UN MEDIADOR DE LA FUNCIÓN MICROGLIAL Y SU ELIMINACIÓN REDUCE LOS SÍNTOMAS EN RATONES CON ELA.**

La ELA es la enfermedad más común de la neurona motora del adulto y las evidencias a partir de ratones que expresan mutaciones SOD1 que causan la enfermedad sugieren que la neurodegeneración es un proceso de células no autónomas donde las células microgliales influyen en la progresión de la enfermedad. En estos modelos, la expresión ubicua de SOD1 mutante conduce a la progresiva muerte neuronal a través de una ganancia de función tóxica para la que se han propuesto varias hipótesis entre las que se incluyen la excitotoxicidad y neuroinflamación. En particular la reducción de la expresión de SOD1 mutante selectivamente en células de la microglía/macrófagos frenó claramente la progresión de la enfermedad. Sin embargo, los factores neurotóxicos derivados de células de la microglía siguen sin estar en gran parte identificados en la ELA. Al ser la excitotoxicidad un importante mecanismo propuesto para causar la muerte de las neuronas motoras en la ELA, la hipótesis planteada por el grupo de Mesci de la Universidad de la Sorbona en París fue que la excesiva liberación de glutamato, uno de los mecanismos patológicos más antiguos propuestos para la ELA, por la microglía activada a través de su sistema xCT (sistema antiporte cistina/glutamato con la subunidad específica xCT/Slc7a11) podría contribuir a la neurodegeneración.

La modulación del sistema xC en la ELA podría ser beneficiosa por dos vías. Primero, la microglía activada podría liberar un exceso de glutamato. De este modo, la delección del sistema xC podría reducir la excitotoxicidad del glutamato. Segundo, el glutamato extracelular y el glutatión intracelular podría influir en la activación de la microglía, mediante la expresión de receptores de glutamato o por activación de las cascadas de señalización intracelular modulada por redox, en el caso del glutatión. En el trabajo publicado en la revista *Brain* en Enero de 2015 se evaluó si la modulación del sistema Xc puede influir sobre la reactividad de la microglía, el curso de la enfermedad y la degeneración de la neurona motora en ratones mutantes ELA hmSOD1. Para analizar si las células de la microglía son la fuente principal del incremento de la expresión de xCT asociada a la enfermedad, aislaron la microglía y las neuronas motoras de la médula espinal de ratones ELA adultos durante la enfer-

medad. De este modo muestran que la expresión de xCT está enriquecida en la microglía en comparación con la médula espinal de ratón total y está ausente en las neuronas motoras. La microglía activada induce la expresión de xCT y, durante la enfermedad, los niveles de xCT se incrementaron tanto en la médula espinal y en mayor medida en la microglía aislada de ratones mutantes hm-SOD1 con ELA. El aumento de la expresión de xCT también se detectó en tejido post-mortem de la médula espinal de pacientes con ELA y se correlacionó con el aumento de la inflamación.

La supresión genética mediante delección del gen xCT(Slc7a11) en ratones demostró que la microglía activada libera glutamato principalmente a través de este sistema Xc. Curiosamente, la supresión de xCT también condujo a la disminución de la producción de factores específicos pro-inflamatorios/neurotóxicos microgliales que incluyen óxido nítrico, TNF $\alpha$  e IL6, mientras que la expresión de marcadores neuroprotectores/anti-inflamatorios tales como YM1/Chil3 se incrementaron, lo que indica que xCT regula las funciones microgliales. En ratones con ELA, la supresión de xCT sorprendentemente condujo a un inicio más temprano de los síntomas, pero, de manera más importante, le siguió una desaceleración significativa de la fase de progresión de la enfermedad, lo que resultó en más neuronas motoras supervivientes.

Estos resultados son consistentes con una contribución deletérea del glutamato derivado de la microglía durante la enfermedad sintomática y con los hallazgos en otros modelos de enfermedades neurodegenerativas. La supresión del sistema Xc en modelos de ratón o in vivo de la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple y gliomas muestran una protección frente a la neurodegeneración.

En este trabajo, además, se demuestra que el sistema Xc participa en la reactividad microglial y modula la degeneración de las neuronas motoras en la ELA, revelando la inactivación farmacológica del sistema como una posible estrategia para frenar la progresión de la enfermedad después del inicio de los síntomas clínicos para evitar los efectos negativos tempranos. Sin embargo, para esto, se necesitan primero mejores y más específicos antagonistas del sistema Xc ya que los disponibles comercialmente no son lo suficiente específicos y su biodisponibilidad para el sistema nervioso central no es óptima.

#### **Referencias:**

**Mesci P, et al. "System xC- is a mediator of microglial function and its deletion slows symptoms in amyotrophic lateral sclerosis mice". *Brain*. 2015 Jan;138(Pt 1):53-68.**