

MEMORIA

I ENCUENTRO PRESENCIAL DE LA RED ESPAÑOLA DE INVESTIGACIÓN EN ELA

28 y 29 de mayo 2024

Hospital 12 de octubre, Madrid

Introducción de la Red Española de Investigación en ELA

En el Congreso Nacional de Investigación en Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) en 2016 salió a la luz la necesidad de interconexión entre los investigadores que trabajaban en ELA. Debido a que la ELA es una enfermedad rara, no hay muchos recursos para investigar el origen de la enfermedad, encontrar pruebas diagnósticas y conseguir un tratamiento que paralice la progresión o idealmente revierta los síntomas de la enfermedad. En aquel entonces, la investigación en ELA contaba con un reducido número de investigadores, dispersos por la geografía española. Ellos comunicaron la necesidad de crear sinergias para colaborar, compartir los resultados de sus estudios, y así promover un mayor conocimiento y resolución de problemas. Además, subrayaron la importancia de intercambiar materiales de laboratorio para optimizar los recursos disponibles.

Una mejor relación entre los investigadores permite acelerar nuevos descubrimientos, aumenta el impacto de los resultados, y la visibilización y el interés de la comunidad científica sobre la enfermedad.

Uno de los pilares de la Fundación Luzón es impulsar la investigación en ELA. Una manera de potenciar dicha investigación es fomentando la colaboración entre los investigadores, fomentando la cooperación, la retroalimentación del conocimiento y la creación de sinergias entre diversos grupos. Para ello, en la Fundación Luzón organizamos

reuniones virtuales de la Red Española de Investigación en ELA cada dos meses, en las que se conectan más de treinta investigadores. Además, gestionamos la base de datos de los científicos de ELA en España y las plataformas de comunicación entre ellos.

Tras la pandemia, varios de estos investigadores propusieron realizar un encuentro presencial, y es por ello que desde la Fundación Luzón organizamos este I Encuentro Presencial de la Red Española de Investigación en ELA.

Objetivo del encuentro

El objetivo principal de este encuentro es la generación, mantenimiento y mejora de estructuras colaborativas, entre investigadores clínicos y básicos, en el ámbito nacional español para el fomento de la investigación en Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) en diversos campos: biomarcadores, genética, tratamientos, modelos (celulares, organoides, animales) y epidemiología.

Otros objetivos secundarios son el fomento de la participación de los investigadores junior y en formación para que presenten la investigación de sus grupos y generen relaciones entre los mismos; el impulso del Registro Nacional de Pacientes con ELA; y el fomento y mejora de la divulgación científica en los grupos de investigación en ELA en España (generación de nuevos proyectos y redes de divulgación).

Destinatarios de este encuentro

Investigadores (senior, junior, predoc, postdoc, técnicos) de laboratorios donde se realice investigación en ELA.

Investigadores (senior, junior, predoc, postdoc, técnicos) de laboratorios donde, aunque actualmente no se realice investigación en ELA, estén interesados en el fomento de la investigación en esta enfermedad de forma colaborativa, o porque estén comenzando a abrir una nueva línea de investigación en ELA.

Profesionales de la salud (neurólogos, neumólogos, enfermeras, trabajadores sociales, fisioterapeutas, nutricionistas, otorrinolaringólogos, cirujanos digestivos, terapeutas ocupacionales, psicólogos, etc.) con interés en la ELA y en la investigación encaminada

a mejorar la calidad de vida de los pacientes y a la búsqueda y prueba de tratamientos efectivos que contrarresten el progreso de la enfermedad.

Comité Organizador

- **Alberto García Redondo** – Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario 12 de Octubre “i+12”, Madrid
- **Rosario Osta Pinzolas** – CIBERNED-IISA-Universidad de Zaragoza, Zaragoza
- **Mónica Povedano Panades** – Hospital de Bellvitge, Barcelona
- **Juan Francisco Vázquez Costa** – Hospital La Fe, Valencia
- **Miguel Ángel Rubio** – Hospital del Mar, Barcelona



Programa

I ENCUENTRO

RED ESPAÑOLA DE INVESTIGACIÓN EN ELA

PROGRAMACIÓN | HOSPITAL 12 DE OCTUBRE (MADRID)

MARTES, 28 DE MAYO

11:00 INAUGURACIÓN

11:30 - 12:00

SPEED DATING

Mini charlas con una duración de 3' (IPs)

12:00 - 12:30

PAUSA CAFÉ

12:30 - 14:00

SPEED DATING

Mini charlas con una duración de 3' (IPs)

14:00 - 15:00

COMIDA

15:00 - 17:00

POLINIZACIÓN

17:00 - 17:30

PAUSA CAFÉ

17:30 - 19:30

ALSGESCO* / Pósters

*SOLO PARA MIEMBROS DE ALSGESCO:

- 1) Propuesta de incorporación de nuevos miembros
- 2) Experiencia actual con Tofersen – ATLAS
- 3) Proyectos comunes en marcha (ALSGESCO)

20:00 - 21:30

CENA

MIÉRCOLES, 29 DE MAYO

09:00 - 10:00

PÓSTERS

10:00 - 10:30

PAUSA CAFÉ

10:30 - 12:00

Registro Nacional de Pacientes con ELA

CIBER

12:00 - 12:30

PAUSA CAFÉ

12:30 - 14:00

Puesta en común, conclusiones y premios

14:30 - 15:30

COMIDA

15:30 - 17:30

Grupo de trabajo *(opcional)*

Registro Nacional de Pacientes con ELA:
próximos pasos

Asistentes

Conseguimos reunir a más de 100 asistentes de toda España:



Speed Dating

En esta sesión, los investigadores principales de cada laboratorio expusieron los objetivos de su línea de investigación, la composición del personal de su grupo, su localización y las necesidades de colaboración.

En esta sesión participaron 27 investigadores principales (por orden alfabético):

- **Abraham Acevedo Arozena**, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife.
- **Alberto García Redondo**, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre, Madrid.
- **Ana Martínez**, Centro de Investigaciones Biológicas “Margarita Salas”.
- **Carmen M. Fernández Martos**, Universidad CEU-San Pablo, Madrid.
- **Carmen Paradas**, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.
- **Elena Tortosa Binacua**, Universidad Autónoma de Madrid.
- **Estela Area Gómez**, Centro de Investigaciones Biológicas “Margarita Salas”.
- **Eva de Lago Femia**, Universidad Complutense de Madrid.
- **Fernando Cardona**, Instituto de Biomedicina de Valencia.
- **Gorka Gereñu Lopetegui**, Instituto de Investigación Sanitaria Biogipuzkoa, San Sebastián.
- **Ivonne Jericó**, Hospital Universitario de Navarra.
- **Juan F. Vázquez Costa**, Hospital La Fe, Valencia.
- **Manuel Portero-Otin**, Institut de Recerca Biomèdica de Lleida.

- **Miguel Angel Rubio Pérez**, Hospital del Mar, Barcelona.
- **Mireia Herrando Grabulosa**, Universidad Autónoma de Barcelona.
- **Monica Povedano Panades**, Hospital de Bellvitge, Barcelona.
- **Natalia Arias del Castillo**, Universidad de Nebrija, Madrid.
- **Oriol Dols Icardo**, Instituto de Investigación Biomédica Sant Pau, Barcelona.
- **Óscar Fernandez-Capetillo**, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid.
- **Pascual Sánchez Juan**, Fundación CIEN.
- **Patricia Rico Tortosa**, Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular, Valencia.
- **Francisco Gil Bea**, Instituto de Investigación Sanitaria Biogipuzkoa, San Sebastián.
- **Rosario Osta Pinzolas**, Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón-Universidad de Zaragoza.
- **Silvia Corrochano Sánchez**, Hospital Clínico San Carlos, Madrid.
- **Sonia Alonso-Martín**, Instituto de Investigación Sanitaria Biogipuzkoa, San Sebastián.
- **Valle Palomo**, Instituto IMDEA Nanociencia, Madrid.
- **Xavier Navarro**, Universidad Autónoma de Barcelona.

Polinización

La audiencia se dividió en grupos que eran dirigidos por los jefes de mesa/moderadores para debatir sobre las dificultades y posibles soluciones de los siguientes temas:

Genética (moderado por Silvia Corrochano Sánchez y Jesús Esteban)

El avance de la ciencia y la tecnología hacen que la genética y su accesibilidad a nivel mundial esté cambiando y que debamos plantearnos cómo abordarla en el presente y en el futuro.

Hubo una clara distinción entre la necesidad de hacer genética para el avance de la investigación en la enfermedad y de forma clínica como diagnóstico.

Con respecto al avance de la investigación, casi la totalidad de las personas opinaban que se deberían hacer análisis completos, secuenciación de todo el genoma, epigenoma, etc.

Con respecto a la aplicación clínica como herramienta de diagnóstico hubo algunas diferencias de opiniones.

En primer lugar, hubo consenso en cuanto a que la decisión debe ser del paciente, pero esta decisión debe estar precedida de una correcta información. Es decir, al paciente se le debe informar de que su ELA puede ser genética y esto puede suponer tener un tratamiento eficaz (SOD1) y otras implicaciones (familiares, etc...). Este proceso de asesoramiento genético es fundamental. El médico puede recomendar a cada paciente en función de su tipo de ELA qué estudios genéticos recomienda y el paciente es el que debe aceptar o no. Esta decisión es individualizada, tanto para las formas familiares como para las no familiares. Además, se puntualizó que hay un coste económico que no está todavía aprobado en todas las unidades de ELA en la actualidad, aunque se hace cada vez más frecuentemente (y por ello se está llegando a consensos éticos en genética clínica). Debido a que no en todas las comunidades autónomas hay un acceso a estudios genéticos amplios en la enfermedad, se trabaja en torno a la centralización de los estudios en centros expertos, para conseguir equidad respetando la decisión del paciente.

En cuanto al tipo de test que se debe hacer, algunos participantes pensaban que debía ser un exoma completo, otros que un panel de ciertos genes, y otros que sólo los genes accionables (genes que cuando están significativamente alterados confieren un riesgo elevado de enfermedad severa, cuyo riesgo o penetrancia es conocido y que puede ser prevenida o mitigada con recomendaciones médicas establecidas, y para los que hay ensayos clínicos, o para los que hay tratamiento). También se puntualizó que se deberían hacer test genéticos para los que tienen descendencia o interés por tener hijos (estudio de portadores).

En cualquier caso, se matizaron cuatro puntos importantes: 1) tener una mutación no significa que se desarrollará la enfermedad con una certeza del 100 %, ya que la penetrancia de la mayoría de variantes es incompleta (se hizo referencia a la reciente publicación donde se observó que la penetrancia de la mutación de *c9orf72* es mucho menor de lo esperado, alrededor de un 30-40%); 2) para poder llevar a cabo un buen estudio genético, es muy importante que las unidades clínicas tengan formación para el asesoramiento genético; 3) las expansiones o mutaciones en la sangre no tienen por qué ser las mismas que en el cerebro; 4) puede haber más de un gen afectado que influye en la enfermedad, lo que llamamos oligogenia.

Modelos (moderado por Manuel Portero-Otin y Gorka Gereñu Lopetegui)

Tras el debate, concluimos que no existe un mejor modelo de ELA, sino que, en función de los objetivos del proyecto, así como de la pregunta científica a responder, se deben seleccionar los modelos más adecuados. Entre los modelos animales que tenemos en la actualidad destacamos:

- 1) los ratones transgénicos SOD1 G93A. Son los más comunes y representan el paradigma de degeneración de neurona motora, ya que reproducen muchas características de enfermedades de motoneurona humana incluso neurofisiológicamente, aunque presentan marcadas limitaciones en la traslación de tratamientos a humanos y es importante señalar que la prevalencia de esta mutación es poco representativa del total de los casos de ELA en humanos.
- 2) los ratones con mutaciones en FUS y TDP-43. Estos modelos pueden ampliar la comprensión genética y fisiopatológica de la ELA, aunque presentan un fenotipo menos pronunciado y la mayoría de ellos se encuentran actualmente en desarrollo.
- 3) las ratas y otros animales también son utilizables, principalmente para estudios específicos, debido a su mayor tamaño, aunque cuentan con menos herramientas genéticas, y pueden ser especialmente interesantes para el estudio de formas adquiridas de degeneración de neurona motora, por ejemplo, inducida por toxinas de origen cianobacteriano.
- 4) En este sentido, los modelos *in vivo* alternativos de organismos simples, como *Drosophila melanogaster* y *C. elegans*, son extremadamente útiles para estudios genéticos y fenotípico-funcionales, así como para un cribado farmacológico que permita seleccionar un número finito de tratamientos en modelos evolutivamente más avanzados y cercanos a los humanos. Aunque la relevancia traslacional de todos estos modelos sigue siendo limitada, su corto ciclo de vida y alta homología genética comparada con los humanos han proporcionado relevantes hallazgos en la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas, avance en el desarrollo de biomarcadores y en la identificación y caracterización de posibles dianas terapéuticas de desarrollo presente y futuro para la ELA.

Además de este repaso por los modelos animales, se mostró consenso en la necesidad de utilizar modelos animales que muestren aspectos asociados al envejecimiento (por ejemplo, senescencia) y que reproduzcan la influencia de la edad en la patogénesis de la enfermedad.

En cuanto a modelos *in vitro*, las motoneuronas derivadas de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) de pacientes con ELA permiten el estudio en un contexto humano y la personalización de tratamientos, pero pueden no replicar completamente el entorno del sistema nervioso central. Además, no hay un consenso claro en cual(es) es el mejor protocolo tanto para su diferenciación, como para su corrección isogénica, detectándose limitaciones en las técnicas más novedosas, como la transdiferenciación y la formación de quimeras o de organoides. Las líneas celulares estables son útiles para estudios mecanísticos y para un primer cribado de fármacos, aunque no representan la complejidad de la enfermedad *in vivo*.

Biomarcadores (moderado por Pol Andrés Benito e Ivonne Jericó)

El campo de los biomarcadores en ELA está avanzando rápidamente, con los neurofilamentos a la vanguardia del diagnóstico y monitoreo de la enfermedad. Sin embargo, se requiere una investigación continua y un enfoque colaborativo y multidisciplinar para superar los desafíos actuales y desarrollar herramientas efectivas que puedan mejorar la vida de los pacientes con ELA. La heterogeneidad clínica de la ELA y la variabilidad en la presentación de síntomas complican la identificación de biomarcadores universales. Es necesario establecer nuevas herramientas con carácter multidisciplinar (neuroimagen, test clínicos, bioquímicos, etc.) que ayuden a paliar la heterogeneidad vigente en la enfermedad y doten a los especialistas clínicos de herramientas que mejoren el manejo de los pacientes en el diagnóstico temprano, la monitorización de la progresión de la enfermedad y la evaluación de la eficacia de los tratamientos.

Por tanto, es necesario que en patologías como la ELA se aplique un enfoque de medicina de precisión en su investigación, aprovechando que este mismo enfoque se está llevando a cabo en la clínica en la actualidad, donde el fenotipado se realiza de manera precisa. Pese a que pueda resultar más dificultoso, hay que olvidar el concepto generalizado de “ELA” y diseñar proyectos y experimentos de manera precisa, subfenotipando y agrupando pacientes. Este enfoque nos

permitirá homogeneizar grupos, obtener resultados más reproducibles y específicos para cada forma clínica, facilitando a su vez su implementación en la práctica clínica.

Tratamiento (moderado por Miguel Ángel Rubio Pérez y Carmen M. Fernández Martos)

La primera cuestión planteada fue la causa fundamental de la falta de éxito de los tratamientos cuando se trasladan del laboratorio a la clínica (“fracaso” de los ensayos clínicos)

Se detectaron los siguientes problemas relacionados con la preclínica:

- 1) La validez o traslación de buenos modelos preclínicos
- 2) La reproducibilidad interna
- 3) La dificultad de hacer la transferencia a la clínica, al ensayo clínico, una vez encontrada una molécula que puede resultar prometedora.

También se advirtió que algunas moléculas pueden haberse quedado en la preclínica y no haber pasado a clínica y no sabemos si algunos de estos podrían haber sido útiles.

Se pusieron de manifiesto los siguientes problemas relacionados con la clínica:

- 1) Los pacientes llegan a las terapias con enfermedades en estadio avanzado.
- 2) Los clústeres de pacientes deberían estar mejor endofenotipados.

Además, se trató el abordaje terapéutico clínico y experimental de la ELA. Por lo general se vio como positiva y “viable” la combinación de fármacos que hagan diana en diferentes vías. Una sola molécula se antoja insuficiente, teniendo en cuenta la complejidad de la enfermedad, que raramente es monogénica. Aunque es difícil trasladarlo a los ensayos clínicos si se tratan de moléculas de diferentes compañías.

Se comentó la posibilidad de usar incluso moléculas multifuncionales para optimizar el problema derivado del uso de dos moléculas con propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas diferentes, y donde debe hacerse una búsqueda de dosis adecuada en búsqueda de una sinergia.

Parte de esta combinación puede pasar por no centrarse únicamente en la búsqueda de fármacos que paren/enlentezcan la neurodegeneración, aunque sea lo prioritario, y una necesidad no resuelta, sino también en estimular la proliferación y mecanismos de reparación neuronal, promoción del *sprouting*..., que quizás están más presentes en modelos de lesión medular, radicular, nerviosa, o por ejemplo más recientemente, en otras enfermedades neurológicas como la Esclerosis Múltiple. Sin embargo, estos últimos ejemplos no son del todo aplicables a la ELA.

Se planteó el uso de la inteligencia artificial en la preclínica en el estudio de cara a optimizar combinaciones de fármacos en diferentes vías.

Finalmente se trató el contexto de la proteinopatía de TDP-43 y se estudió si tiene más peso, desde el punto de vista del desarrollo de nuevos tratamientos, combatir el efecto citotóxico de su agregación, o abordar la pérdida de función de la proteína. Se determinó que el efecto tóxico de los agregados citoplasmáticos de TDP-43 y la pérdida de función en el núcleo se ven como procesos interrelacionados. No sabemos si son tejido-específicos o si el peso de uno sobre el otro es diferente entre pacientes.

Ahora que se van a realizar ensayos clínicos en ELA esporádica, sobre pérdida de función sobre determinados transcritos de ARN, habrá que vigilar y tener en mente los resultados de los dos ensayos con oligonucleótidos antisentido sobre pacientes positivos para la expansión en *C9orf72* donde los pacientes empeoraron, teóricamente por un posible reforzamiento de la “pérdida de función”.

Hemos encontrado ventajas e inconvenientes en las dos posibilidades (combatir el efecto citotóxico de su agregación, o abordar la pérdida de función de la proteína), pero la postura más frecuente es la “intermedia”, no por ello menos cierta, de “se necesitan más estudios” para aclarar su verdadero rol.

Epidemiología (moderado por Alejandro Caravaca y Juan Francisco Vázquez Costa)

El primer tema tratado fueron las discrepancias epidemiológicas entre estudios de Europa y de otras poblaciones. Se habló de la importancia del estudio LAENALS (Uruguay, Cuba y Chile) donde Uruguay (población predominantemente europea) mostró tasas de incidencia similares a las encontradas en Europa, con Cuba y Chile mostrando

tasas significativamente menores tras ajustar por edad. Las diferencias pueden deberse al infradiagnóstico, o bien a diferencias genéticas o ambientales. Algunas observaciones a favor del origen genético de estas diferencias son el mayor riesgo de ELA en población caucásica en países con varias etnias (EEUU) o el mayor riesgo de ELA en países occidentales comparado con países asiáticos con nivel de vida similar. Ese mayor riesgo genético podría explicarse por mutaciones concretas que son mucho más frecuentes en población caucásica (por ejemplo, expansión *c9orf72*) o por un origen poligénico. Cabe destacar que las poblaciones caucásicas son genéticamente más homogéneas que, por ejemplo, las africanas, lo que podría aumentar el riesgo de enfermedades neurodegenerativas. Por otro lado, se ha observado que familiares de pacientes portadores de expansiones en *c9orf72* tienen más riesgo de ELA independientemente de no ser portadores de la expansión, lo que apoyaría la existencia de otros factores genéticos implicados pero relacionados con la expansión.

Sería interesante estudiar poblaciones migratorias para esclarecer la naturaleza de estas diferencias epidemiológicas.

En este sentido se señaló que otra explicación posible sería la presencia de mosaicismo en los distintos tejidos, de forma que los familiares negativos para la expansión en *C9orf72*, no fuesen realmente negativos.

A favor del ambiente, las diferencias fenotípicas observadas entre modelos animales genéticamente idénticos sólo pueden deberse al ambiente.

También se debatió sobre el papel que juega el sexo en el fenotipo de la enfermedad. Las diferencias entre ambos sexos son constantes entre estudios epidemiológicos en ELA. Las mujeres tienen una menor incidencia de la enfermedad en todas las edades, un pico en la edad de incidencia más tardío y una mayor frecuencia de formas bulbares a edades avanzadas.

Por otro lado, no está claro cómo influye el sexo en la supervivencia (existen resultados divergentes) y si esas diferencias se deben a factores genéticos o ambientales. Entre los factores genéticos o biológicos se comenta el posible papel protector de los estrógenos, que se perdería con la menopausia, lo que explicaría que a edades más avanzadas la incidencia de la enfermedad entre hombres y mujeres se iguale. Entre los factores ambientales, se comenta la diferente exposición a factores de riesgo y la diferente situación social entre hombres y mujeres. Estudios también han observado una influencia diferente del ejercicio

físico entre hombres, mujeres premenopáusicas y mujeres posmenopáusicas. Se necesitan más estudios para dilucidar las diferencias a nivel del fenotipo entre hombres y mujeres (por ejemplo, mujeres más bulbar y hombres más espinal). Algunos participantes sugirieron que las diferencias a nivel del fenotipo podrían deberse a diferencias en la innervación de las regiones afectadas en cada fenotipo.

Registro Nacional de Pacientes

Se estima que en España existen en este momento unas 4.000 personas afectadas por la ELA. Sin embargo, no se conoce el dato exacto. Debido a la alta mortalidad de los enfermos, la prevalencia es baja, y por ello la ELA es considerada una enfermedad minoritaria o rara. Como enfermedad rara, los recursos para la investigación son limitados y con frecuencia no se cubren las múltiples necesidades de atención y apoyo que requieren los pacientes. Además, la heterogeneidad clínica y genética de la enfermedad dificulta los esfuerzos para encontrar un tratamiento eficaz para la mayoría de pacientes. La ELA es una patología incurable por la falta de entendimiento de las causas y mecanismos de la enfermedad, pero la calidad de vida de los pacientes y su supervivencia, puede cambiar de forma significativa con una actuación médica adecuada.

En enfermedades raras, heterogéneas y graves como la ELA es imprescindible crear registros multicéntricos que permitan:

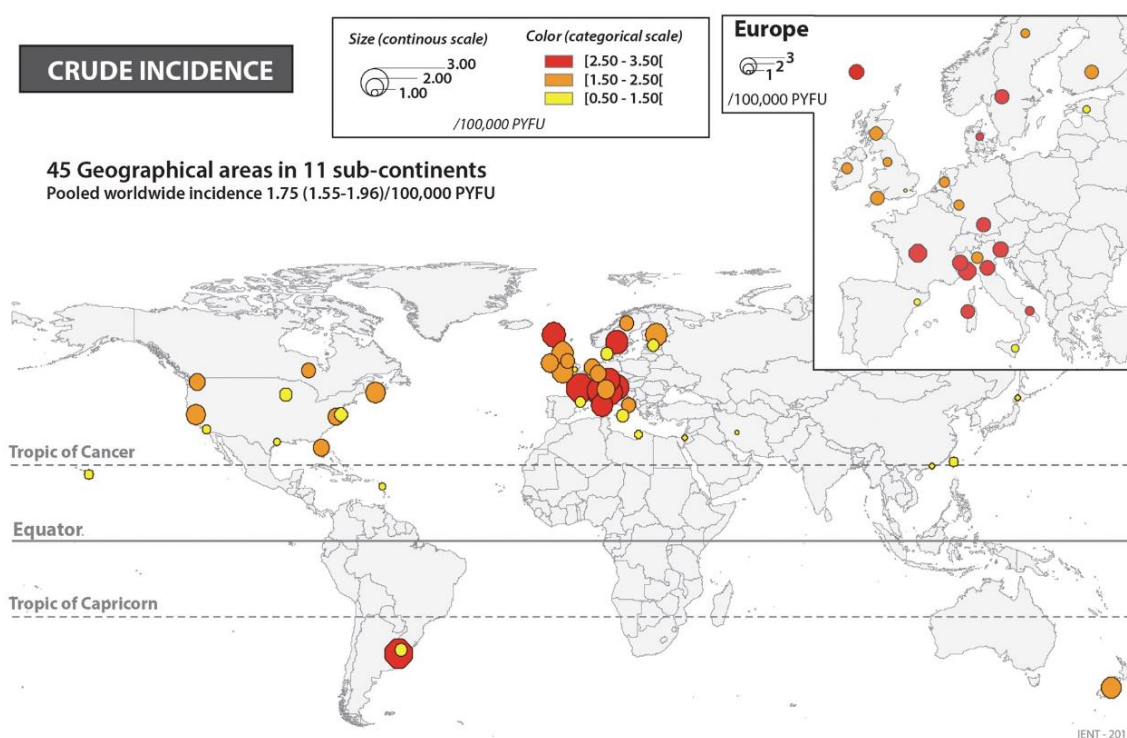
- Identificar pacientes aptos para su inclusión en ensayos clínicos en el momento adecuado para ello.
- Identificar y caracterizar subgrupos de pacientes de especial interés.
- Conectar los datos clínicos de los pacientes con las muestras de tejido o fluidos guardados en biobancos.
- Conocer la epidemiología de la enfermedad, lo que puede ayudar a identificar factores de riesgo o protectores, así como las tendencias en la incidencia de la enfermedad.
- Conocer la situación socioeconómica y asistencial de los pacientes, lo que servirá para realizar planes de actuación sanitaria y social que garanticen el cumplimiento de los estándares de cuidados en estos pacientes.

- Finalmente, representan un vínculo entre los pacientes y la comunidad investigadora, brindando la oportunidad a las personas de recibir y dar información directamente relevante para su enfermedad, por ejemplo, a través de boletines informativos o de la difusión de cuestionarios.

Tanta es la importancia que la Organización Mundial de la Salud lleva advirtiéndolo desde su informe de 2003 la necesidad de mejorar los sistemas de información sobre la salud admitiendo que “Los países se beneficiarán sobremanera si los sistemas de información sanitaria están basados en un plan nacional que ofrezca un marco, indicadores, y estrategias de acopio, análisis y difusión de datos.” Así, los datos de un registro nacional permitirán aumentar la visibilidad de esta enfermedad, fomentar la investigación y favorecer la toma de decisiones para una adecuada planificación sanitaria y una correcta distribución de recursos.

Registro de pacientes con ELA en España a día de hoy

Pese a que existen registros de pacientes con ELA en distintos países europeos y del mundo, los datos en España son escasos, como se muestra en este mapa de incidencia, publicado en el International Journal of Epidemiology:



Nuestra acción

Desde la Fundación Luzón nos pusimos manos a la obra. Gracias a las acciones de Juan Carlos Unzué con colaboradores, estamos iniciando el proceso de movilización del registro nacional de pacientes con ELA.

Analizamos todas posibilidades, retos y dificultades que este registro podría suponer. Estudiamos también cuáles son las necesidades de los pacientes, clínicos e investigadores. Todo ello gracias a innumerables reuniones con distintas entidades públicas, como el Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER), el Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER), ambos pertenecientes al Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), asociaciones de pacientes como ONERO y Fundación Ana Carolina Díez Mahou, neurólogos, investigadores, responsables involucrados en el inicio y evolución de otros registros de enfermedades raras (como el de AME y POMPE) y nuestro Comité Científico.

Finalmente, nos estamos apoyando en la máxima entidad científica del país, el ISCIII, de quien depende el Registro de Enfermedades Genéticas y de baja prevalencia (GenRaRe) dentro de CIBER. A finales de enero de 2024, firmamos el convenio con CIBER para iniciar un subregistro de ELA dentro de GENRARE. CIBER cuenta con acuerdos en más de 50 hospitales de nuestro país, facilitando los trámites administrativos. Además, no sólo disponen ya de una plataforma informática para el soporte de dichos datos, sino que cuentan con personal especializado que implemente un registro con variables equivalentes a las que se utilizan en el registro europeo. Así, el registro de pacientes con ELA de España se verá proyectado a nivel internacional.

Objetivos del Proyecto

- Obtener datos completos y fiables que permitan conocer la situación de los afectados.
- Potenciar la red de clínicos: el registro fomenta la formación y la homogeneización de la recogida de datos.
- Fomentar la investigación en red. El Registro Nacional permite hacer estudios multicéntricos y comparativos que:
 - a. analicen los factores de riesgo asociados a la aparición de la enfermedad: exposición a tóxicos (profesiones, regiones geográficas...), fármacos, otras enfermedades, etc.
 - b. encuentren factores asociados al retraso en el diagnóstico en la ELA y diseñar estrategias para mitigarlo. Con esta información se pueden analizar los factores relacionados

con el pronóstico y la supervivencia de los pacientes y proponer estrategias para mejorarlo, como ocurrió por ejemplo durante la pandemia COVID-19, o encontrar determinantes socioeconómicos.

- c. evalúen la eficacia de los nuevos tratamientos en la vida real.
 - d. identifiquen pacientes. Un registro actualizado permitirá identificar subgrupos de pacientes con determinadas características clínicas y/o genéticas que podrían beneficiarse de determinadas estrategias terapéuticas.
 - e. Identifiquen buenas prácticas en algunos centros o comunidades autónomas, que puedan ser extrapoladas a otros centros o CCAA.
- Mejorar el repositorio de muestras con caracterización fenotípica profunda que ayude al avance de la investigación traslacional.
 - Incorporar la perspectiva del paciente y su entorno a la investigación.

El desarrollo del presente proyecto cuenta con un Comité Científico formado por los siguientes expertos:

- **Juan Francisco Vázquez Costa**, neurólogo del Hospital La Fe de Valencia, debido a sus conocimientos de neurología de ELA, y su implicación en registros de enfermedades de motoneurona, así como por su involucración en ensayos clínicos. Presidente de este Comité.

- **Rafael Genaro**, neurólogo del Hospital La Paz de Madrid, debido a sus conocimientos en registros nacionales de enfermedades raras (inició y lleva gestionando unos años el registro de la enfermedad POMPE).

- **Javier Mascías**, neurólogo del Hospital La Paz de Madrid, por ser el Jefe de la Unidad ELA de uno de los hospitales con mayor número de visitas de paciente con ELA.

- **Alberto García Redondo**, investigador del Hospital 12 de octubre de Madrid, por sus conocimientos en genética y por haber participado en otros registros nacionales.

- **Candela Caballero Eraso**, neumóloga del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla, debido a sus conocimientos en neumología y en la atención a pacientes con ELA en un hospital de referencia.

- **Mónica Povedano**, neurofisióloga del Hospital de Bellvitge de Barcelona, debido a sus conocimientos de neurología de ELA, su

implicación en el registro de su hospital, la promoción del registro nacional y registros internacionales (registro europeo de TRICALS) y por su proyección internacional.

- **Silvia Corrochano**, investigadora de la Universidad Complutense de Madrid, por sus conocimientos sobre variables metabólicas y su participación en otros registros nacionales.

Fases y *milestones* del Proyecto

Para los años 2024 y 2025, gracias a Juan Carlos Unzué y colaboradores, contamos con un presupuesto de 90.000 euros que nos ha permitido contratar a una persona con perfil de *project manager* que asista en la recolección de los datos y analice los resultados siguiendo las directrices de los miembros del Comité Científico y los objetivos del registro.

En una primera fase todos aquellos neurólogos interesados en contribuir al desarrollo del registro nacional de pacientes tendrán acceso a la plataforma para que vuelquen los datos retrospectivos de las 30 variables mínimas establecidas (como el tipo de ELA o el valor de ALSFRS) de sus pacientes desde su base de datos. Esta fase contará además con el soporte de CIBER. ¡Esperamos la colaboración de todos!

En una segunda fase, aquellos centros que hayan incluido estas variables, serán ayudados por la mencionada persona responsable de la gestión del proyecto, Project Manager, para introducir datos prospectivos de pacientes vivos. Además, se iniciará el análisis de datos de dichas variables que serán volcadas a proyectos europeos para su publicación.

En un futuro no muy lejano, esperamos conseguir financiación para ampliar el número de variables a recoger, hasta llegar a las casi 1.000 variables de la Plataforma Europea, y hacerlo extensivo a pacientes vivos.

Pósters

Durante las dos sesiones de pósters, los investigadores predoctorales y postdoctorales expusieron sus trabajos en formato póster. En total, se mostraron 28 trabajos:

1) Evaluación de vida real de la Rasch-built Overall ALS Disability Scale (ROADS) y el ALSFRS-R autoevaluado por medio de telemedicina.

A. Caravaca Puchades¹, R. Domínguez Rubio¹, A. Assialioui², S. Moll Moll¹, C. Terrafeta¹, E. Farrero³, E. Prats³, M. Sarasate³, M. Virgili-Casas⁴, V. Herrera-Rodríguez⁵, E. Romero-Gangonells⁵, M. Llauger⁶, C. Puig-Ram⁶, E. Sellés⁶, M. Povedano¹.

¹Unidad Funcional de Motoneurona. Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat — IDIBELL, Barcelona, España. ²Servicio de Neurología. Consorci Sanitari Alt Penedès-Garraf, España. ³Servicio de Neumología. Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España. ⁴Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España. ⁵Dietista. Departamento de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España. ⁶Fundació Catalana d'ELA Miquel Valls, Catalunya, España.

La Escala Revisada de Evaluación Funcional para la ELA (ALSFRS-R) es el estándar para evaluar a los pacientes con ELA, pero tiene limitaciones, como ser ordinal, no lineal y estar influenciada por intervenciones clínicas. La Escala de Discapacidad Global para la ELA construida con metodología Rasch (ROADS) aborda todos estos problemas y, por lo tanto, teóricamente cuenta con una mayor validez estadística. Dado que ambas pueden ser autoevaluadas, pueden incorporarse en estrategias basadas en telemedicina.

Ambas escalas fueron evaluadas longitudinalmente a través de LinkELA, una aplicación de telemedicina para el seguimiento de pacientes con ELA en el Hospital de Bellvitge y el Hospital del Mar. El estudio recopiló datos de 87 usuarios activos, con 72 proporcionando datos de ALSFRS-R (45,56 años-paciente) y 81 proporcionando datos de ROADS (53,87 años-paciente). Los puntajes de ROADS disminuyeron con el avance de las etapas King's y MiToS, con correlaciones significativas en todas las etapas después del análisis de influencia. Las evaluaciones emparejadas de 52 pacientes mostraron una excelente

correlación (Pearson $r = 0.84$, $p < 0.001$) y cambios longitudinales consistentes. Más pacientes mostraron un cambio en ROADS que en ALSFRS-R pasados al menos 6 meses (disminución: 87.1 vs 82.6 %; aumento: 12.9 vs 4.3 %; sin cambios: 0.0 vs 13.0 %).

En conclusión, este trabajo evaluó la validez interna y externa de ROADS en un entorno de telemedicina del mundo real y proporciona evidencia de que podría ser una medida más sensible que el ALSFRS-R.

2) Impacto del estatus socioeconómico en la evolución clínica de pacientes con ELA.

Irene Gómez Hernández, David Hervás, María del Carmen Soler, Pilar García Casanova, Juan Francisco Vázquez Costa.

Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

Introducción. La supervivencia en la ELA varía ampliamente, con una media de alrededor de 3 años, y actualmente no tiene cura. Diversas terapias prolongan la supervivencia, incluyendo el Riluzol, VNI, PEG, traqueostomía y cuidados paliativos. Estudios revelan que los pacientes con ELA se enfrentan a elevados costes indirectos. Aunque se han analizado los costes asociados a la ELA, no hay investigaciones sobre el impacto del nivel socioeconómico (SES) en la supervivencia global de estos pacientes.

Objetivos. El objetivo de esta investigación es examinar la influencia del SES en el tratamiento y la supervivencia de los pacientes con ELA.

Material y Métodos. Se estudiaron pacientes atendidos en la Unidad de ELA del Hospital La Fe desde 01/2014 a 02/2021 y seguidos hasta 02/2024. Se incluyeron pacientes que cumplieran criterios Gold-Coast. Los datos demográficos, clínicos y sociales (vida en pareja, última ocupación, situación laboral) se recopilaron prospectivamente. A partir de la ocupación se estimó, de forma retrospectiva, el salario anual y la clase social de los pacientes utilizando el CNO-11 del INE y la CSO-SEE12, respectivamente. En un subgrupo de pacientes se obtuvieron de forma prospectiva las condiciones de habitabilidad de la vivienda, los ingresos mensuales y la escala de Gijón. Se llevó a cabo un análisis descriptivo y un análisis inferencial con modelos multivariantes ajustados por variables confusoras para estudiar el impacto de las variables socioeconómicas de forma independiente.

Resultados. La población estudiada fue de 436 pacientes con un salario estimado mediano de 24,066€. En un subgrupo de 221 pacientes, se disponía de los ingresos reales, con una mediana de 13,200 € anuales. Mayores salarios medio estimado y reales se asociaron de forma independiente con una mayor supervivencia de la enfermedad. La CSO también mostró un efecto independiente sobre la supervivencia con una probabilidad del 96%.

Conclusiones. Este estudio confirma una asociación directa entre el SES y la supervivencia en pacientes con ELA en la Comunidad Valenciana. Futuros estudios deben analizar que intervención socioeconómica sería una medida costo-efectiva para prolongar la vida de los pacientes.

3) Evaluación de eficacia y seguridad del tratamiento con tofersen en pacientes con enfermedad de motoneurona asociada a mutaciones en SOD1.

Pilar H García-Casanova¹, Carmen Díaz Marín², Laura Lorene Gómez³, Rosa M Vilar Ventura⁴, Juan F Vázquez-Costa^{1,5}.

¹Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. ²Hospital General Universitario Doctor Balmis (Alicante). ³Hospital General Universitario de Elche, Alicante. ⁴Hospital General Universitario de Castelló. ⁵Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia)

Objetivos: Evaluar la seguridad y eficacia del tratamiento con tofersen (oligonucleótido antisentido que disminuye la síntesis de proteína SOD1), en un grupo de pacientes con enfermedad de motoneurona portadores de mutaciones SOD1 de nuestra comunidad autónoma.

Material y Métodos: Estudio descriptivo longitudinal prospectivo de pacientes portadores de mutaciones en SOD1 incluidos en el programa de acceso extendido de tofersen en nuestra comunidad autónoma. Se recogen datos demográficos, genéticos y clínicos (ALSFRS-R, fenotipo, balance muscular y NfL en LCR) al inicio del tratamiento y posteriormente cada 6 meses.

Resultados:

- Se incluyeron siete pacientes con ELA asociada a 4 mutaciones distintas en SOD1.
- El 71,4% eran varones y la mediana de edad al inicio del tratamiento fue de 64,5 años.

- Tres pacientes presentaron un fenotipo de atrofia muscular progresiva (43%) y 4 una forma clásica (57%).
- La mediana de tiempo de evolución al inicio del tratamiento fue de 46 meses, todos estaban en una fase moderada de la enfermedad (ALSFRS-R mediana de 36).
- Tres pacientes eran progresores lentos ($<0,5$) y 2 de ellos presentaban una concentración normal de NFL (LCR) al inicio del tratamiento.
- Los efectos adversos observados fueron similares a lo descrito en ensayos clínicos, de carácter leve y sin precisar discontinuación del tratamiento:
- En cuanto a eficacia, 5 de 6 pacientes con NFL basales elevados presenta una reducción entre 25-50%.
- A nivel clínico, 2 pacientes experimentan una ligera mejoría, estabilización clínica en 3 casos y un empeoramiento en 2 pacientes (mutación en p.Asp110Tyr).

Conclusiones: Nuestros datos sugieren la eficacia y seguridad a corto plazo de tofersen en práctica clínica, aunque con una respuesta desigual entre pacientes (p.Asp110Tyr). Es fundamental determinar la patogenicidad de variantes de significado incierto en SOD1.

4) ¿Es la Esclerosis Lateral Amiotrófica una ribosomopatía específica de neurona?

Anabel Sáez-Mas¹, Oleksandra Sirozh¹, Vanesa Lafarga¹ and Óscar Fernández-Capetillo^{1,2}.

¹Grupo de Inestabilidad Genómica, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid, España. ²Laboratorio Science for Life, División de Medicina Traslacional y Biología Química, Departamento de Bioquímica Médica y Biofísica, Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa relacionada con la edad de muy mal pronóstico que actualmente carece de un tratamiento eficaz. Durante los últimos años, hemos estado explorando el mecanismo de toxicidad de los péptidos ricos en arginina derivados de la alteración genética más común en la ELA, la expansión de hexanucleótidos en C9orf72. Sin embargo, dado que las mutaciones genéticas sólo representan alrededor del 15% de los casos de ELA, ahora estamos interesados en explorar la contribución de otros factores, como el envejecimiento o las toxinas ambientales, a la enfermedad.

En este contexto, actualmente estamos explorando el mecanismo de toxicidad de la L-BMAA, que se ha asociado a una mayor incidencia de ELA en diferentes grupos geográficos de todo el mundo. En consonancia con nuestras observaciones con los péptidos ricos en arginina relacionados con C9ORF72, la exposición a L-BMAA desencadena estrés nucleolar, deterioro de la biogénesis ribosomal y la acumulación de proteínas ribosómicas libres, características distintivas de un grupo de enfermedades humanas denominadas ribosomopatías. Además, las terapias que alivian el estrés nucleolar también mitigan la toxicidad del L-BMAA.

Estos hallazgos apuntan a un mecanismo común entre dos causas aparentemente no relacionadas de ELA, una genética y otra ambiental, y sugieren la posibilidad de un modelo unificado de toxicidad detrás de las diferentes fuentes de ELA.

5) Secuenciación mediante la tecnología nanopore de un modelo celular de silenciamiento inducible del gen TARDBP revela nuevas vías patogénicas.

Santiago Rico-Rios, Pascual Torres, Reinald Pamplona, Manuel Portero-Otin.

Grupo de Investigación en Fisiopatología Metabólica. Departamento de Medicina Experimental, Universidad de Lleida-IRBLleida, Lleida.

El estudio de la fisiopatología de la ELA requiere enfoques innovadores para dilucidar sus mecanismos subyacentes. En este estudio, basándonos en la importancia de la proteína de unión a TAR ADN (TARDBP) en la patogénesis de la ELA, utilizamos la tecnología de secuenciación MinION® Nanopore para investigar los efectos de su silenciamiento en una línea celular humana, lo que se plantea como un modelo procedimental para la investigación de la ELA.

Empleando técnicas de interferencia de ARN, se silenció selectivamente la expresión de TARDBP en células HeLa inducibles usando doxiciclina, imitando así la disfunción de TARDBP potencialmente asociada con las etapas tardías de la patología de la ELA. Tras el silenciamiento de TARDBP, se extrajeron muestras de ARN y se sometieron a secuenciación por nanoporo, permitiendo un análisis transcriptómico de alta resolución. Alcanzamos una profundidad de lectura que varió de 7700 a 21271 lecturas con una longitud media de 567 a 1001 bases, obteniendo 9467 entradas en el análisis de expresión

diferencial (análisis edgeR) y 18067 entradas en el análisis de uso diferencial de isoformas (análisis DexSeq). El análisis de ontología genética reveló una desregulación en genes asociados con procesos biológicos clave, incluyendo organización celular, regulación del metabolismo y respuesta al estrés.

Las capacidades en tiempo real y de lectura larga de la secuenciación por nanoporo ofrecen valiosos conocimientos sobre los cambios en la expresión génica desencadenados por el silenciamiento de TARDBP. Esta herramienta promete ser una estrategia efectiva para desentrañar las complejas redes de regulación génica involucradas en la patogénesis de la ELA, ayudando a la individualización molecular de los pacientes con ELA.

6) La transcriptómica de células individuales identifica una subpoblación NK citotóxica asociada a la ELA.

Esther Álvarez-Sánchez^{1,2}, Carbayo Á^{3,4}, Valle-Tamayo N^{1,2}, Sirisi S^{1,2}, Muñoz-Llahuna L^{1,2}, Aumatell J^{1,2}, Perlaza D^{1,2}, Sánchez-Aced E^{1,2}, Lidón L^{1,2}, Cervantes-González A^{1,2}, Belbin O^{1,2}, Fortea J^{1,2}, Alcolea D^{1,2}, Rojas-García R^{3,4}, Lleó A^{1,2}, Dols Icardo O^{1,2}.

¹Unidad de Memoria Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Instituto de Investigación Biomédica, IIB Sant Pau, Barcelona, España.

²CIBERNED, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas, Madrid, España. ³Unidad Funcional de Enfermedades Neuromusculares, Departamento de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España.

⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, España.

Antecedentes: La neuroinflamación es crucial en la ELA, y hay evidencias que sugieren que la inflamación sistémica y la infiltración de células inmunitarias en el cerebro contribuyen a este proceso. Estudios previos han implicado a las células NK en la fisiopatología de la ELA y en la regulación de la neurodegeneración en el SNC de los pacientes con ELA. Sin embargo, no se ha investigado el papel de las células inmunitarias periféricas en la ELA utilizando secuenciación de ARN de célula única (scRNAseq).

Objetivos: Investigar las alteraciones en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de pacientes con ELA utilizando scRNAseq.

Métodos: Se incluyeron 16 pacientes con ELA y 16 controles sanos (HC),

emparejados por edad y sexo. Las PBMC se aislaron mediante centrifugación en gradiente de densidad de Ficoll y se criopreservaron hasta la preparación de la biblioteca (Single-cell 3' mRNA, 10xGenomics) y la secuenciación (NovaSeq6000). Para el control de calidad y procesamiento de datos se utilizaron Cellranger, Seurat, DecontX y DoubletFinder. El algoritmo MAST se aplicó para analizar la expresión génica diferencial, y CellChat se usó para inferir y analizar las redes de comunicación intercelular.

Resultados: Después del control de calidad, se retuvieron 127,892 células, identificándose 55 subpoblaciones de células inmunitarias. Los resultados muestran una mayor proporción de células NK en la ELA (16.48% en ELA vs 8.89% en HC, valor p-ajustado=0.004), impulsada por una subpoblación única de NK (NK2) (9.82% en ELA vs 3.5% en HC, valor p-ajustado=0.011), caracterizada por una mayor expresión de SPON2, FCER1G y FGFBP2 (valor p-ajustado $<1 \times 10^{-230}$). Se encontraron amplias alteraciones en la expresión génica en NK2 (por ejemplo, TYROBP, valor p-ajustado $<3.55 \times 10^{-63}$, cambio en la expresión=1.27; KLRC3, valor p-ajustado $<1.43 \times 10^{-13}$, cambio en la expresión=1.55; TNFRSF1B, valor p-ajustado $<7.72 \times 10^{-12}$, cambio en la expresión=1.45) indicando un papel importante en la citotoxicidad. La proporción de células NK2 se correlacionó con la duración de la enfermedad ($R=-0.62$, $p=0.01$). También se observaron alteraciones significativas en subpoblaciones de células T CD4 naïve y de memoria central, y células T CD8 naïve y de memoria efectora. Se evaluaron las alteraciones en la comunicación intercelular, detectándose las interacciones entrantes más fuertes entre las células NK2 en pacientes con ELA y las salientes más fuertes desde un subtipo de células T CD4 de memoria central y células NK2. En los controles sanos, la comunicación célula-célula involucraba principalmente a células T CD8 de memoria efectora y células T CD4 naïve y de memoria central. Se identificaron alteraciones en la señalización entre pares de ligando-receptor en células NK2 de pacientes con ELA, mostrando que la señalización entre HLA-E y CD94:NKG2C era única en la sangre de ELA.

Conclusión: Este estudio revela amplios cambios en la expresión génica en células inmunitarias de sangre y destaca el papel crucial de una subpoblación única de células NK citotóxicas en la fisiopatología de la ELA.

Referencias: 1.Murdock et al., JCI Insight.2021.6(11):e147129. 2.Garofalo S, et al., Nat Commun.2020;11(1):1773.

7) Asociación entre Mutaciones Genéticas y Deterioro Cognitivo en Esclerosis Lateral Amiotrófica y Demencia Frontotemporal: Un Meta-análisis.

Ana M. Jiménez- García, Natalia Arias.

Grupo BRABE. Departamento de Psicología, Facultad de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, Universidad Antonio de Nebrija (Madrid, España).

Introducción: La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) y la Demencia Frontotemporal (DFT) comparten un espectro clínico que sugiere una interconexión genética subyacente. La diversidad de síntomas cognitivos, conductuales y del estado de ánimo en estas mutaciones presenta retos para definir perfiles específicos. Este meta-análisis investiga los perfiles cognitivos relacionados con mutaciones genéticas específicas en pacientes con ELA/DFT.

Método: Se realizó una búsqueda sistemática en PubMed, Web of Science, ScienceDirect y Scopus. De 55390 artículos, se seleccionaron 26 estudios de los que se analizaron pruebas cognitivas en relación con mutaciones genéticas específicas como C9orf72seq, GRN, MAPT y TDP-43 en pacientes con ELA/FTD. El software R se utilizó para realizar metaanálisis basados en los tamaños del efecto entre grupos experimentales y de control.

Resultados: Se encontraron diferencias significativas en varios dominios cognitivos relacionados con las mutaciones genéticas estudiadas. Las pruebas cognitivas como el Mini Mental State Examination (MMSE), el Montreal Cognitive Assessment (MoCA) y el Clinical Dementia Rating (CDR) mostraron diferencias en relación con las mutaciones en C9orf72seq, GRN, MAPT y TDP-43. Se observaron diferencias significativas en la MoCA para MAPT en general, aunque no cuando se evaluó por separado ($Z = -0.8209$; $p = 0.4117$). Globalmente, en pruebas de memoria como el Benson Recall, se encontraron diferencias significativas en los pacientes, pero no se encontraron cuando se analizaron a los pacientes con la mutación MAPT ($Z = -0.8878$; $p = 0.3747$).

Conclusiones: Este estudio destaca la heterogeneidad en los perfiles cognitivos asociados a mutaciones específicas, subrayando la necesidad de una evaluación cuidadosa y detallada en pacientes con ELA/DFT. La variabilidad clínica y el solapamiento de características entre mutaciones indican la necesidad de evaluaciones individualizadas y una comprensión más profunda de los fenotipos cognitivos asociados.

8) CXCL12, un nuevo biomarcador del LCR para el diagnóstico diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA)

Sergio Roca-Pereira^{1,2}, Raúl Domínguez^{1,2,3}, Isabel Moreno León^{1,4}, María J. Colomina⁵, Antonio Martínez Yélamos^{1,4,6}, Sergio Martínez Yélamos^{1,4,6}, Mónica Povedano^{1,2,3} y Pol Andrés-Benito^{1,2}.

¹Grupo de Enfermedades Neurológicas y Neurogenética - Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL), L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, España. ²Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Instituto de Salud Carlos III, L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, España. ³Unidad Funcional de Esclerosis Lateral Amiotrófica (UFELA), Servicio de Neurología - Hospital Universitario de Bellvitge (HUB), L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, España. ⁴Unidad de Esclerosis Múltiple, Departamento de Neurología, Hospital Universitario de Bellvitge, (08907) L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, España. ⁵Servicio de Anestesia y Cuidados Críticos, Hospital Universitario de Bellvitge - Universidad de Barcelona (UB), L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, España. ⁶Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Barcelona (UB), L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, Spain.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por el deterioro gradual de motoneuronas superiores e inferiores. El diagnóstico de la ELA sigue siendo un reto debido a la ausencia de métodos altamente precisos. Recientemente, se ha establecido como biomarcador estándar de esta patología el aumento de los niveles de neurofilamentos de cadena ligera (NF-L) en el líquido cefalorraquídeo (LCR). No obstante, la especificidad de los NF-Ls presenta ciertas limitaciones. Este estudio evalúa los niveles de CXCL12 en LCR en controles sanos, pacientes con ELA y pacientes con trastornos neurodegenerativos similares a la ELA, valorando su potencial como biomarcador de diagnóstico y comparándolo con los niveles de NF-L.

Nuestros resultados confirmaron estudios previos, mostrando un aumento de ambos biomarcadores en el LCR de pacientes con ELA en comparación con los controles. Sin embargo, al comparar las concentraciones de ambos biomarcadores entre pacientes con ELA y aquellos con patologías similares, los niveles de CXCL12 fueron específicos de los pacientes con ELA, sin incrementos en pacientes con mielopatías, polineuropatías inflamatorias (PI) u otras enfermedades mímicas (OMD). En contraste, los niveles de NF-L en el LCR de pacientes

con ELA coincidían con los de mielopatías y OMD, pero no con los de PI. Además, se evaluó la precisión diagnóstica de ambos biomarcadores. El análisis de la curva ROC mostró diferencias significativas en los valores del área bajo la curva (AUC) entre CXCL12 y NF-L. CXCL12 permitió diferenciar correctamente entre ELA y mielopatías (AUC: $0,99 \pm 0,005$), PI (AUC: $0,962 \pm 0,027$) y OMD (AUC: $1,00 \pm 0,00$). En cambio, NF-L solo fue eficaz para diferenciar ELA de PI (AUC: $0,92 \pm 0,048$), pero no de mielopatías (AUC: $0,71 \pm 0,09$) ni de OMD (AUC: $0,69 \pm 0,14$). También se evaluaron los niveles de CXCL12 en plasma (ELA frente a controles sanos), pudiendo determinar que la cuantificación en LCR (AUC: $0,97 \pm 0,012$) era más precisa que en plasma (AUC: $0,65 \pm 0,063$). Además, la evaluación de NF-L en SIMOA (ALS vs HC) fue más concreto que la de CXCL12 en plasma (AUC: $0,98 \pm 0,01405$).

Estos hallazgos indican que los niveles de CXCL12 en LCR aumentan la especificidad diagnóstica en la distinción de ELA y trastornos mímicos, en comparación con los NF-L. Sin embargo, sería necesario realizar estudios adicionales en cohortes de mayor magnitud para validar estos resultados. La determinación de CXCL12 muestra un potencial significativo para mejorar las prácticas diagnósticas en ELA.

9) En busca de biomarcadores de alteraciones de TDP-43 en la sangre de pacientes de ELA.

Laura Fernández¹, Irene García-Toledo¹, Juan Ig. Lopez-Carbonero¹, María J. Gil-Moreno¹, Antonio Guerrero-Sola¹, Jordi A. Matias-Guiu¹, Paula Fernández-Gómez², Valle Palomo², Silvia Corrochano¹.

¹Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos, Neurological disorders group, Madrid, Spain. ²Instituto Madrileño de Estudios Avanzados en Nanociencia (IMDEA Nanociencia), Madrid, 28049, Spain.

Nuestra propuesta consiste en la medición de alteraciones en la proteína TDP-43 en sangre, tanto su expresión y su localización relativa núcleo/citoplasma como su funcionalidad de splicing, como biomarcador diagnóstico de ELA fácilmente trasladable a la práctica clínica.

TDP-43 es una proteína de unión al DNA/RNA de expresión ubicua que cumple funciones de regulación transcripcional y respuesta al estrés celular. En las neuronas y glía del 95-98% de los pacientes con ELA esporádica y familiar (incluyendo expansiones en C9ORF72, la forma

genética más frecuente en población europea) encontramos una salida masiva de TDP-43 del núcleo al citoplasma, formando depósitos aberrantes de TDP-43 nativa, fragmentada, hiperfosforilada y ubiquitinada, conformando la denominada “proteionopatía TDP-43”. Actualmente, la única forma de diagnosticar proteionopatía TDP-43 es postmortem. Hay un gran interés a nivel mundial en el campo de la ELA y en otras enfermedades asociadas a proteionopatía de TDP-43, por encontrar un biomarcador relacionado con TDP-43, pero los intentos hasta ahora son inconclusos o fallidos. En este proyecto exploramos diferentes formas de medir alteraciones de TDP-43 en sangre periférica proporcionando soluciones a los posibles problemas que se han planteado para poder utilizar las alteraciones de TDP-43 en el diagnóstico precoz de ELA. Exploramos y optimizamos tres vías con gran potencial de éxito para la detección en sangre de alteraciones de TDP-43: a/ cribado y análisis de anticuerpos para medida de niveles de proteína total y fosforilada en suero y en vesículas extracelulares, b/ medida de translocación núcleo-citoplasmática en PBMCs con citometría para una validar una aplicación a la clínica real y c/ la detección de productos consecuencia de la alteración en su función (e.j. RNA diana con alteraciones en el splicing regulado por TDP-43).

10) Diseño de un panel de biomarcadores para ELA

Expósito-Blázquez, L.¹, Borrego-Hernández, D.¹, Moreno L.², Toivonen J.M.², Calvo, A.C.², Cordero-Vázquez, P.¹, Esteban-Pérez, J.¹, Osta, R.² and García-Redondo, A.¹

¹Departamento de Neurología – Unidad de ELA. CIBERER U-723. Instituto de Investigación Hospital Universitario 12 de Octubre –Avda. Córdoba s/n –28041 Madrid –España. ²LAGENBIO-I3A, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza –Miguel Servet, 177 –50013 Zaragoza – España.

Introducción: Existe una necesidad creciente de identificar biomarcadores específicos que faciliten el diagnóstico y pronóstico de la ELA. Actualmente los biomarcadores más prometedores en ELA son los neurofilamentos¹, el perfil de miARN circulantes², los niveles de circARNs³ y biomarcadores de neuroinflamación⁴.

El objetivo de este estudio es desarrollar un panel de biomarcadores basado en la identificación de biomoléculas para el diagnóstico y pronóstico de pacientes de ELA.

Métodos: Se estudiaron 6 circARNs, 10 genes y 7 proteínas involucradas en estrés oxidativo, neuroinflamación, fisiología muscular, procesos metabólicos y metabolismo del ARN mediante PCR cuantitativa, western blot y ELISA. Sus niveles fueron relacionados con las principales variables clínicas, como los días desde el inicio de los síntomas, la ALSFRS-r, el retraso diagnóstico, etc.

Resultados: Los circARNs “1” y “3” han mostrado un gran potencial diagnóstico como biomarcadores en ELA. En cuanto al potencial pronóstico, se encontró una asociación significativa entre elevados niveles de expresión de NOGO-A y el circARN “3” y una menor supervivencia.

Discusión: Las variaciones en los niveles de proteínas, ARNm y circARNs implicados en ELA indican la importancia de analizar el perfil proteómico y transcriptómico de cada paciente. El mejor enfoque implica el desarrollo de un panel de biomarcadores que, considerando la genómica del paciente, permita determinar su pronóstico y apoyar el diagnóstico clínico.

Bibliografía: 1. Benatar M, et al. Validation of serum neurofilaments as prognostic and potential pharmacodynamic biomarkers for ALS. *Neurology*. 2020 Jul 7;95(1):e59-e69. Epub 2020 May 8. 2. Wu Y et al. Circulating microRNAs: Biomarkers of disease. *Clin Chim Acta*. 2021 May;516:46-54. Epub 2021 Jan 21. 3. Ravník-Glavač M et al. Circulating RNAs as Potential Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 3;21(5):1714. 4. Staats KA et al. Blood-based biomarkers of inflammation in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurodegener*. 2022 Jan 24;17(1):11.

11) Nuevos conocimientos sobre el análisis bioinformático para identificar genes expresados diferencialmente y microRNAs como biomarcadores potenciales en enfermedades neurodegenerativas.

Elisa Gascón, Ana Cristina Calvo, Janne M Markus, Nora Molina, Laura Moreno-Martínez, Leticia Moreno-García, Tresa López, Paula Aparicio, Raquel Manzano, Gabriel Rada, Miriam de la Torre, Inmaculada Martín-Burriel, Pilar Zaragoza y Rosario Osta.

Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Universidad de Zaragoza; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED); Instituto

Agroalimentario de Aragón (IA2); Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS), Zaragoza, España.

Los avances en la secuenciación del genoma completo, la genómica, la transcriptómica, la proteómica y la bioinformática aportan datos sustanciales sobre las enfermedades neurodegenerativas, especialmente en lo que se refiere a la búsqueda e identificación de posibles biomarcadores. Los métodos bioinformáticos encuentran aplicaciones en la patogénesis de las enfermedades, el diagnóstico molecular, la selección de fármacos terapéuticos y la predicción del pronóstico. En particular, estos métodos bioinformáticos están cobrando importancia en el campo de las enfermedades de Alzheimer (EA) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Aunque estudios recientes destacan dianas relevantes en diferentes estadios de la EA y la ELA, especialmente en muestras post-mortem, nuestro trabajo puede aportar nuevas evidencias sobre nuevas dianas en ambas enfermedades mediante el uso de análisis bioinformáticos. Se utilizaron cohortes GEO (conjunto de datos GSE138260 para EA y conjunto de datos GSE41414 para ELA) para construir redes de interacciones proteína-proteína (PPI) en la base de datos STRING, en ambas enfermedades independientemente, considerando los genes regulados al alza y a la baja. Además, también se analizaron los genes centrales y se predijeron los miARN potenciales como dianas de los genes centrales. En ambas enfermedades, la EA y la ELA, se identificaron 20 genes centrales. Por otra parte, las redes de genes diana de miARN en la EA revelaron 112 miARN vinculados a los genes centrales, mientras que 17 miARN estaban vinculados a los genes centrales en la ELA. Los métodos y herramientas bioinformáticos pueden allanar el camino para validar los biomarcadores identificados mediante experimentos celulares, análisis de alto rendimiento, RT-qPCR, análisis de secuenciación de próxima generación y estudios preclínicos. Estas validaciones permitirán comprender mejor la genética o las variaciones genéticas entre los pacientes de estas enfermedades neurodegenerativas, facilitando así el seguimiento de los pacientes en la práctica clínica.

12) *Vesículas extracelulares plasmáticas como potenciales biomarcadores en la esclerosis lateral amiotrófica: Proyecto ELA «Manolo Barrós».*

Minerva Martínez-Castillo¹, Sonia Wagner-Reguero¹, Alicia Ruiz-González¹, Ivan Burgueño-García¹, Paloma Ruiz¹, Pamela Martino-

Adami², Selçuk Özdemir³, Alberto García-Redondo⁴, Alberto Rábano¹, Alfredo Ramírez^{2,3,5,6,7}, Anja Schneider³, Pascual Sánchez-Juan¹.

¹Centro Alzheimer Reina Sofía-Fundación CIEN-ISCIIL. Madrid, España.

²División de Neurogenética y Psiquiatría Molecular, Departamento de Psiquiatría y Psicoterapia, Facultad de Medicina y Hospital Universitario de Colonia, Universidad de Colonia. Colonia, Alemania. ³Centro Alemán de Enfermedades Neurodegenerativas (DZNE). Bonn, Alemania.

⁴Laboratorio de Investigación en ELA. Unidad de ELA. Departamento de Neurología, Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid, España.

⁵Departamento de Enfermedades Neurodegenerativas y Psiquiatría Geriátrica, Hospital Universitario de Bonn, Facultad de Medicina. Bonn, Alemania.

⁶Departamento de Psiquiatría e Instituto Glenn Biggs de Alzheimer y Enfermedades Neurodegenerativas. San Antonio, Estados Unidos de América. ⁷Clúster de Excelencia en Respuestas Celulares al Estrés en Enfermedades Asociadas al Envejecimiento (CECAD),

Universidad de Colonia. Colonia, Alemania.

La proteína TDP-43 se acumula en más del 95% de los cerebros de pacientes con ELA. Esta proteína se encuentra normalmente en el núcleo celular, pero en los pacientes con ELA se localiza en regiones atípicas. Su detección en el líquido cefalorraquídeo o en la sangre de estos pacientes es un potencial biomarcador diagnóstico de gran interés. Sin embargo, las determinaciones de esta proteína libre no han tenido éxito en el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas. La Fundación CIEN, en colaboración con los grupos de investigación de la Prof. Dr. Anja Schneider (DZNE, Bonn, Alemania) y el Prof. Dr. Alfredo Ramírez (Uniklinik Köln, Alemania), acaba de iniciar un nuevo proyecto para estudiar TDP-43, no en forma libre sino en el interior de vesículas extracelulares (VEs) circulantes en la sangre. El aislamiento y la caracterización de las VEs se realizan en muestras de plasma, siguiendo centrifugaciones seriadas y cromatografía de exclusión molecular para purificar VEs pequeñas (≈ 80 -150 nm) y medianas (≈ 100 -400 nm). La concentración de la proteína TDP-43 y otros posibles biomarcadores de interés en el interior vesicular se miden utilizando la tecnología ultrasensible Simoa. El análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) es necesario para determinar el número y el tamaño de las vesículas. Además, se pretende caracterizar completamente las muestras neuropatológicas de pacientes con ELA mediante la cuantificación de las lesiones histológicas. De este modo, los hallazgos neuropatológicos podrían correlacionarse con estos biomarcadores, y podrían llevarse a cabo análisis proteómicos tanto en su forma libre como intravesicular. En conclusión, el objetivo es descubrir biomarcadores periféricos que

nos permitan realizar un diagnóstico precoz y preciso de la ELA, así como estimar la progresión de la enfermedad y dar respuesta a futuros tratamientos.

13) *Dinámica mitocondrial alterada en el músculo esquelético de un modelo animal de Esclerosis Lateral Amiotrófica.*

Gabriel Rada, Laura Moreno-Martínez, Tresa López-Royo, Leticia Moreno-García, Nora Molina, Paula Aparicio, Elisa Gascón, Miriam de la Torre, Raquel Manzano, Janne Toivonen, Ana Cristina Calvo, Rosario Osta.

Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Universidad de Zaragoza, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBENED), Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IISA), Zaragoza, Spain.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta el sistema motor, causando una rápida degeneración de las motoneuronas y la musculatura esquelética. Conlleva debilidad, atrofia muscular y, en última instancia, la muerte del paciente. La ELA enfrenta dos desafíos principales: un diagnóstico complicado debido a su variabilidad clínica y la falta de tratamiento curativo.

Existe un gran desconocimiento en cuanto a los mecanismos patológicos de la enfermedad, pero entre otros, se ha observado que la disfunción mitocondrial podría jugar un papel crucial en la patología de la ELA. Las mitocondrias son organelos clave para suministrar energía al músculo y aunque se ha investigado esta disfunción en el sistema nervioso en esta patología, se sabe menos acerca de su impacto en el músculo esquelético.

Las mitocondrias son dinámicas y cambian constantemente a través de procesos de fusión y fisión. El equilibrio entre estos procesos se llama "dinámica mitocondrial" y regula el número y la funcionalidad de las mitocondrias para satisfacer las necesidades bioenergéticas.

Este trabajo tiene el objetivo de explorar la posible relación entre la dinámica mitocondrial y la ELA, para lo que se realizó un estudio en el modelo animal de la enfermedad SOD1G93A. En concreto se examinaron las moléculas clave relacionadas con la dinámica mitocondrial a nivel genético y proteico.

Los resultados revelaron procesos de regeneración muscular y alteraciones mitocondriales en el músculo esquelético en este modelo de ELA. Además, se identificó una desregulación de la dinámica mitocondrial, con una hiperactivación de las moléculas involucradas en la fisión mitocondrial en el músculo esquelético del modelo.

Estos hallazgos sugieren que alteraciones en la dinámica mitocondrial podrían contribuir a la progresión de la enfermedad y plantean la posibilidad de que las moléculas implicadas sean una diana terapéutica potencial en el tratamiento de la ELA.

14) Estudio del efecto de la glutamato oxalacetato transaminasa 1 humana recombinante (*hrgot1*) en un modelo murino de Esclerosis Lateral Amiotrófica.

Lucía del Pozo Filíu¹, Clara Correa-Paz^{1,2}, Esteban López Arias¹, Sonia López Amodeo¹, Antonio Dopico López¹, Lara Pérez Gayol¹, Laura Moreno-Martínez³, Rosario Osta³, María Pérez Mato^{1,2}, Nuria Palomar Alonso¹, María Candamo Lourido¹, Francisco Campos¹.

¹Laboratorio de Ictus Traslacional (TREAT), Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), A Coruña, España.

²Laboratorio de Investigación Cardiovascular y en Neurociencia, Área de Neurociencias del Instituto de Investigación Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ), Madrid, España. ³Laboratorio de Genética y Bioquímica (LAGENBIO), Facultad de Veterinaria-IIS Aragón, IA2-CITA, CIBERNED, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España.

La pérdida de la homeostasis del glutamato (Glu) produce excitotoxicidad en el tejido neuronal, lo que genera patologías como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Reducir los niveles de Glu en el cerebro podría ser clave para proteger las motoneuronas y evitar la progresión de la enfermedad.

Una estrategia farmacológica prometedora consiste en la administración exógena de la enzima sanguínea glutamato oxaloacetato transaminasa 1 (GOT1). Los estudios realizados por el grupo del Dr. Campos en modelos de isquemia demostraron que la GOT1 reduce el daño cerebral isquémico y el déficit funcional. Las analogías entre el papel del Glu en la ELA y en el daño isquémico nos impulsan a investigar la aplicabilidad de la GOT1 como tratamiento de la ELA. Además, trabajos recientes de otros laboratorios (Nutrients. 2023 abr

10;15(8):1821) mostraron efectos beneficiosos del GOTI en un modelo de ratón de ELA.

En nuestro laboratorio utilizamos una forma humana recombinante de GOTI (hrGOTI) que podría ser utilizada directamente en ensayos clínicos sin modificaciones adicionales y ha sido valorada como un tratamiento seguro, por ello nuestra investigación estudia los efectos de esta forma humana en un ratón SOD1G93A.

Administramos el tratamiento por vía intraperitoneal cada dos días. Utilizamos ratones macho y hembra y tuvimos un grupo tratado y un grupo control salino. Controlamos su peso, comportamiento y supervivencia, y también recogimos suero sanguíneo en tres puntos: presintomático, sintomático y terminal.

No se encontraron diferencias significativas entre tratados y controles, pero nos hemos dado cuenta de que la hrGOTI pierde su efecto cuando se administra de forma crónica en ratones mediante un estudio farmacocinético longitudinal realizado tanto en ratones SOD1G93A como en ratones wild type (WT).

Estos resultados nos llevan a buscar nuevas formulaciones de hrGOTI que permitan a la proteína mantener su actividad durante todo el experimento.

15) Estudio de nuevos enfoques terapéuticos para las proteinopatías TDP-43: Evaluación de la eficacia de las moléculas MDFA en modelos de enfermedades neurodegenerativas.

Ángela Sánchez Molleda^{1,2}, Andrés Jiménez^{1,3}, José Luis Zúñiga¹, Jon Ondaro^{1,3}, Laura Rodríguez¹, Maddi Garciandía¹, Haizea Hernández¹, Saioa Moragón^{1,3}, Sonia Alonso^{1,2,3}, Adolfo López de Munain^{1,2,3,4,5,6}, Francisco Javier Gil^{1,2,3,7,8}, Gorka Gereñu^{1,2,3,7,9}.

¹Área Neurociencias, Instituto de investigación sanitaria Biodonostia, 20014, Donostia/San Sebastián, España. ²Miaker Developments, Paseo Miramón 170, edificio BIC Berrilan, 20014, Donostia/San Sebastián. ³CIBERNED España, ISCIII (CIBER, Instituto Carlos III, Ministerio de Ciencias e Innovación), 28031, Madrid, España. ⁴Departamento de Neurología, Organización de Salud Integrada Donostialdea, Servicio Vasco de Salud Osakidetza, 20014, Donostia/San Sebastián, España. ⁵Departamento de Neurociencias, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 20014 Donostia/San Sebastián, España. ⁶Facultad de Medicina, Universidad de Deusto, Bilbao, España.

⁷IKERBASQUE, Fundación Vasca para la Ciencia, 48013, Bilbao, España.

⁸Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España. ⁹Departamento de Fisiología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 48940 Leioa, España.

Las enfermedades neurodegenerativas (NDDs) se caracterizan por una pérdida neuronal progresiva y actualmente son incurables. Algunas de las NDDs más comunes, como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la demencia frontotemporal y la ELA, se caracterizan por déficits en diversas etapas del procesamiento y reciclaje de proteínas mal plegadas como beta-amiloide, tau, alfa-sinucleína o TDP-43, que se han descrito como principales marcadores de estas enfermedades. Las estrategias terapéuticas empleadas hasta la fecha se han basado principalmente en estrategias contra los marcadores distintivos, con resultados decepcionantes. Aunque el efector último de la degradación de orgánulos no funcionales y proteínas aberrantes es el lisosoma, el retículo endoplásmico es clave para su correcto procesamiento. Ambos orgánulos interactúan para mantener la homeostasis celular, especialmente en el metabolismo de proteínas y lípidos.

En las NDDs como la ELA, la respuesta integrada al estrés está gravemente alterada y Miaker Developments ha desarrollado una nueva familia de moléculas (MDFA) que promueven el mantenimiento de la homeostasis del retículo endoplásmico. Este estudio evaluará la toxicidad y eficacia in vitro de dos fármacos en una línea celular de neuroblastoma, y en una línea celular U2OS con sobreexpresión de TDP-43. Además, la eficacia de los dos fármacos se probó in vivo en un modelo de *Drosophila melanogaster* que expresa TDP-43 humano (hTDP-43) específicamente en células gliales. En conjunto, estos resultados sugieren que esta nueva familia de pequeñas moléculas puede ser un prometedor tratamiento modificador de la enfermedad para las proteinopatías de TDP-43.

16) Explorando el potencial terapéutico del dimetil fumarato en un modelo murino de demencia frontotemporal asociado a TDP-43.

Martín-Baquero, R.^{1-3*}, Berrojo-Armisen, A.^{4*}, Rodríguez-Cueto, C.¹⁻³, Fernández-Ruiz, J.¹⁻³, De Lago, E.¹⁻³, Lastres-Becker, I.⁴.

¹Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, UCM, Madrid, España. ²Instituto Ramón y Cajal de

Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, España. ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España. ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols” UAM-CSIC, Arturo Duperier, 4, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Instituto Teófilo Hernando para el Descubrimiento de Fármacos, Universidad Autónoma de Madrid, 28029 Madrid, España. *Han participado por igual en el trabajo.

La demencia frontotemporal (DFT) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a la cognición, el comportamiento y el lenguaje debido a la pérdida gradual de neuronas en los lóbulos frontal y temporal del cerebro. Estudios recientes han encontrado una conexión entre la DFT y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), centrándose en la proteína TDP-43. Debido a la falta de tratamientos efectivos, se requieren nuevas terapias. Se ha demostrado la importancia del factor de transcripción NRF2 en la restricción de la neurodegeneración al actuar sobre diversas vías moleculares. Su activación muestra resultados prometedores sobre la agregación proteica, la neuroinflamación y el estrés oxidativo en la DFT. Estudios previos demostraron que la activación de NRF2 a través del dimetil fumarato (DMF) ejerce un efecto neuroprotector en un modelo de TAU-DFT, reduciendo la neurodegeneración, la neuroinflamación, el estrés oxidativo y la hiperfosforilación de TAU, lo que respalda la reposición del DMF para el tratamiento de esta enfermedad. Además, se observó una relación entre TAU y TDP-43: la sobreexpresión de TAU provoca la deslocalización de TDP-43 del núcleo al citoplasma, mientras que el tratamiento con DMF revierte este proceso. Sin embargo, no se ha estudiado la eficacia de este tratamiento en la DFT relacionada con TDP-43. Por lo tanto, nuestro objetivo fue evaluar los efectos terapéuticos de la activación de NRF2 mediante DMF en un modelo murino de TDP-43-DFT, caracterizado por un deterioro cognitivo temprano debido a la sobreexpresión de TDP-43. Los ratones recibieron DMF oralmente (100 mg/kg) desde una etapa presintomática (PND45) hasta una sintomática (PND90), observando mejoras cognitivas reflejadas en la prueba de reconocimiento de objetos nuevos (NOR). Además, los análisis histopatológicos demostraron preservación neuronal en el giro dentado (GD) del hipocampo y en la corteza prefrontal (CPF). En resumen, nuestros hallazgos resaltan el potencial del DMF en la preservación cognitiva y neuroprotección mediante la modulación de NRF2 en modelos de TDP-43-DFT.

17) Nuevo enfoque terapéutico dirigido al músculo esquelético en la enfermedad de la ELA.

Ainhoa Vidal-Gil¹, Ignacio Azcue¹, Maddalen Cantero-Robles¹, Amaia Elicegui^{1,2}, Laura Moreno-Martinez^{2,3}, Oihane Pikatza-Menoio^{1,2}, Mariya Levchuk¹, Rosario Osta^{2,3,4}, Adolfo López de Munain^{1,2}, Sonia Alonso-Martín^{1,2}.

¹Grupo de Enfermedades Neuromusculares, Área de Neurociencias, Instituto de Investigación Sanitaria Biogipuzkoa, San Sebastián, España. ²CIBERNED, ISCIII (CIBER, Instituto Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España), Madrid, España.

³Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España. ⁴Instituto Agroalimentaria de Aragón (IA2), Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS), Zaragoza, España.

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la degeneración de las neuronas motoras (MN) y la atrofia muscular. Es una enfermedad devastadora sin tratamiento efectivo conocido hasta la fecha. El objetivo de este estudio consiste en investigar la implicación del músculo esquelético en la patología de la ELA, considerando que una señalización negativa retrógrada desde el músculo hacia la MN podría ser la causa de la degeneración observada. Por lo tanto, nuestro objetivo principal es abordar la progresión de la ELA en el modelo de ratón hSOD1-G93A mediante la preservación del tejido muscular y la supervivencia de las células musculares. Este enfoque involucra el uso de diferentes compuestos dirigidos al estrés celular o que actúan sobre las vías del metabolismo de la glucosa y de la atrofia muscular, específicamente interviniendo en los factores de transcripción FOXO. De este modo, tratamos ratones hSOD1-G93A sintomáticos (P90) con nuestros compuestos, realizamos ensayos de comportamiento y supervivencia in vivo, y tinciones histológicas en secciones de músculos de contracción rápida y lenta.

En resumen, no hemos observado mejoras significativas ni en la supervivencia ni en los ensayos motores de los ratones hSOD1-G93A tratados. Además, ninguno de los ratones tratados recuperó el fenotipo muscular de los ratones WT. Sin embargo, confirmamos que los pesos musculares de los ratones mutantes eran significativamente menores que los de los WT. En los músculos de contracción rápida y lenta analizados, los ratones hSOD1-G93A exhibieron un porcentaje mayor de fibras más pequeñas en comparación con los ratones WT. En

conclusión, nuestros compuestos no mejoraron la supervivencia, la función motora ni la atrofia muscular de los ratones hSOD1-G93A sintomáticos. Se han diseñado tratamientos en edades presintomáticas ($P < 60$) en un esfuerzo por preservar la estructura y función muscular antes de la aparición de los síntomas.

18) Inhibición de FAAH en el modelo murino PrP-TDP43A315T: implicaciones para nuevas terapias basadas en endocannabinoides en ELA.

Marta Gómez- Almería^{1,2,3}, Carmen Rodríguez-Cueto^{1,2,3}, Julián Romero⁴, Benjamin F. Cravatt⁵, Javier Fernández-Ruiz^{1,2,3} and Eva de Lago^{1,2,3}.

¹Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Spain; ²Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, Spain; ³Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain; ⁴Faculty of Experimental Sciences, Universidad Francisco de Vitoria, Pozuelo de Alarcón, Spain; ⁵Instituto Skaggs de Biología Química y Departamentos de Biología Celular y Química, Instituto de Investigación Scripps, La Jolla, California, EE. UU.

Numerosos estudios han destacado la implicación del sistema endocannabinoide en la patogénesis de la ELA, sugiriendo que las alteraciones en los niveles de endocannabinoides podrían ofrecer efectos protectores en la enfermedad. En estudios previos en ratones SOD1 se han detectado niveles elevados de endocannabinoides como una respuesta compensatoria al avance de la enfermedad, mientras que la eliminación de FAAH ralentiza la progresión, señalando a FAAH como una posible diana terapéutica. En este estudio, examinamos los efectos de la inhibición de FAAH en el modelo murino PrP-TDP43A315T, donde se ha descrito una reducción de FAAH y un aumento de los niveles de endocannabinoides en etapas presintomáticas.

Se emplearon dos enfoques en ratones PrP-TDP43A315T: (i) inactivación genética de la FAAH cruzando ratones knockout de la FAAH (FAAH^{-/-}) con ratones PrP-TDP43A315T para crear dobles mutantes (TDP43A315T/FAAH^{-/-}) y (ii) inhibición farmacológica de la FAAH mediante la administración del inhibidor selectivo URB597. La progresión de la enfermedad se controló semanalmente mediante pruebas de rotarod y de clasping. Tras el tratamiento, se extrajeron las médulas espinales

para evaluar la supervivencia neuronal y la reactividad glial mediante análisis histológicos y bioquímicos.

La eliminación genética de FAAH redujo la progresión de la enfermedad y aumentó la supervivencia en comparación con los animales PrP-TDP43A315T, mientras que la inhibición farmacológica no tuvo un efecto significativo en el comportamiento. Ambos métodos aumentaron la supervivencia de las neuronas motoras espinales y disminuyeron la inmunorreactividad de GFAP. Mientras que la ablación genética redujo los niveles de inmunorreactividad de Iba1, el tratamiento con URB597 redujo los niveles de expresión de marcadores genéticos de DAMs.

En conclusión, nuestros hallazgos demostraron el potencial neuroprotector de la inactivación de la FAAH. Esta inactivación mejora la supervivencia neuronal y reduce la reactividad glial, lo que sugiere un prometedor valor terapéutico para la ELA.

19) Cambios en la dinámica de los microtúbulos por la regulación de FMRP-MAP1b en el modelo animal C9orf72seq.

Javier Benítez¹, Laura Mañas¹, Natalia Arias^{1,2,3}.

¹Grupo BRABE, Departamento de Psicología, Facultad de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, Universidad Nebrija, Madrid, España. ²Instituto de Investigación Universitaria del Principado de Asturias, Oviedo, España. ³INEUROPA, Instituto de Neurociencias del Principado de Asturias, Oviedo, España.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa en la que se produce una pérdida de neuronas motoras. Entre el 5% y el 10% de los afectados presentan una mutación en el gen C9orf72seq. Por otro lado, el citoesqueleto es esencial en el mantenimiento de estructuras celulares complejas, como las sinapsis y el transporte axonal. Así, se ha demostrado que las mutaciones causantes de enfermedades neurodegenerativas también están asociadas a disfunciones en el citoesqueleto. En este trabajo estudiamos la variación de la expresión a lo largo del tiempo de marcadores de estabilidad del citoesqueleto en un modelo transgénico de mutación del gen humano C9orf72seq. El estudio ayudaría a comprender la implicación de las mutaciones del gen C9orf72seq en la dinámica de los microtúbulos en las fases presintomática y sintomática de la enfermedad ELA, así como el impacto del envejecimiento en estos

cambios. Un grupo de 30 ratones transgénicos para el gen humano C9orf72seq (C9) y otro grupo de 30 ratones C57BL/6 (controles) se dividieron en grupos de 5 animales para cada condición y se analizó la expresión de las cascadas moleculares asociadas a la estabilización de microtúbulos (FMRP, MAP1b, LC3 I y II), y NeuN (marcador neuronal) a los 1, 3, 6, 12, 18 y 24 meses, así como la variación en la expresión de C9orf72 (formas corta y larga) y TDP-43, mediante western blot y posterior análisis de imagen. Las regiones estudiadas fueron el córtex prefrontal y el hipocampo. Nuestros datos revelaron diferencias en los marcadores neuronales tanto en el córtex prefrontal como en el hipocampo a lo largo del tiempo. Asimismo, se observaron cambios en la expresión de proteínas como FMRP, MAP1B, LC3 I y II, y proteínas asociadas a la ELA como C9ORF72 y TDP-43 en diferentes puntos temporales. Las diferencias temporales y regionales en la expresión de estos marcadores ponen de manifiesto la complejidad de los mecanismos patogénicos de la ELA y subrayan la importancia de abordar estas alteraciones específicas para desarrollar terapias eficaces.

20) *Single-cell RNAseq en modelos de ELA de Drosophila para investigar mecanismos no autónomos de neurodegeneración*

Andrés Jiménez Zúñiga^{1,2}, Alex Martínez¹, José Luis Zúñiga¹, Jon Ondaro^{1,2}, Laura Rodríguez¹, Maddi Garciandía¹, Haizea Hernández¹, Saioa Moragón^{1,2}, Ángela Sánchez^{1,3}, Adolfo López de Munain^{1,2,3,4,5,6}, Francisco Javier Gil^{1,2,3,7,8}, Gorka Gereñu^{1,2,3,7,9}.

¹Área de Neurociencias, Instituto de Investigación Sanitaria Instituto de Investigación Sanitaria Biogipuzkoa, 20014, Donostia/San Sebastián, España. ²CIBERNED, ISCIII (CIBER, Instituto Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación), 28031, Madrid, España. ³Miaker Developments, Paseo Miramon 170, edificio BIC Berrilan, 20014, Donostia/San Sebastián, España. ⁴Departamento de Neurología, Organización Sanitaria Integrada Donostialdea, Osakidetza Servicio Vasco de Salud, 20014, Donostia/San Sebastián, España. ⁵Departamento de Neurociencias, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 20014 Donostia/San Sebastián, España. ⁶Facultad de Medicina, Universidad de Deusto, Bilbao, España. ⁷IKERBASQUE, Fundación Vasca para la Ciencia, 48013, Bilbao, España. ⁸Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España. ⁹Departamento de Fisiología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 48940 Leioa, España.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta rápidamente a las motoneuronas (MN) del cerebro y la médula espinal. Actualmente no existe cura para esta enfermedad. En aproximadamente el 90% de los casos se desconoce el origen de la enfermedad, pero en el 10% está causada por mutaciones genéticas mendelianas en más de 20 genes, entre ellos TARDBP, que codifica la proteína TDP-43. Pruebas recientes han cuestionado el origen neurogénico de la enfermedad al sugerir que las células gliales, las células de soporte de las neuronas motoras dentro de la unión neuromuscular (NMJ), contribuyen a la toxicidad de la MN. El objetivo de este estudio es analizar cómo inputs patológicos asociados a la ELA en las células gliales afectan al transcriptoma de la MN, con el fin de identificar cambios tempranos sobre los que actuar. Para ello, hemos generado un modelo de *Drosophila melanogaster* que expresa TDP-43 humano específicamente en células gliales y muestra un fenotipo similar a la ELA. Mediante la tecnología de secuenciación de RNA-single cell estamos analizando la evolución del perfil transcriptómico del cerebro según progresa la enfermedad en este modelo de *Drosophila*. Este estudio revela una reducción significativa de las neuronas glutamatérgicas y colinérgicas, lo que sugiere un proceso neurodegenerativo, junto con la aparición de nuevos «subtipos» gliales y neuronales a lo largo de la progresión, lo que nos permitirá identificar dianas moleculares para diseñar nuevas intervenciones terapéuticas.

21) Estudio de alteraciones tempranas del metabolismo lipídico en el modelo murino de patología neuromuscular SOD1G93A.

Luis C. Fernández-Beltrán^{1,2}, Juan M. Godoy-Corchuelo¹, Irene Jimenez-Coca¹, Irene Garcia-Toledo¹, Juan Ig. Lopez-Carboner¹, Laura Fernández¹, Jorge Matias-Guiu¹, and Silvia Corrochano¹.

¹Grupo de enfermedades neurológicas, Hospital Clínico San Carlos, IdISSC, Madrid, Spain. ²Departamento de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es un trastorno degenerativo mortal multifactorial. Hay muchas incógnitas en la etiología de la ELA aún por resolver. Tanto los pacientes como los modelos animales presentan una desregulación metabólica significativa, como hipermetabolismo, dislipidemia y pérdida de peso progresiva. El origen de estas alteraciones metabólicas lipídicas sigue sin estar claro. Nuestro

objetivo es identificar las vías metabólicas lipídicas tempranas alteradas al inicio de la enfermedad (p90) en la médula espinal de ratones modelo de ELA. Para ello realizamos un análisis transcriptómico de la médula espinal de ratones SOD1G93A y WT en p90 e identificamos tres vías lipídicas principales desreguladas relacionadas con los esfingolípidos, los eicosanoides y el metabolismo del colesterol. Las alteraciones del metabolismo del colesterol en la médula espinal fueron validadas por qPCRs donde se observó una inhibición de la síntesis de colesterol y un aumento del transporte y acumulación de colesterol en las fases iniciales de la patología (p90). Todas estas alteraciones transcriptómicas se exacerbaban en las fases sintomáticas de la enfermedad (p120). Finalmente, para verificar la relevancia de estas alteraciones en el metabolismo del colesterol, se ha realizado un estudio in vivo en el que se ha administrado un modulador del transporte y acumulación de colesterol (agonista LXR) desde el estadio presintomático (p60) hasta el punto final ético. Los ratones SOD1G93A tratados con el agonista LXR en la dieta muestran un aumento de la supervivencia y una mejora de la fuerza de agarre, la coordinación locomotora (rotarod), la respuesta eléctrica muscular (EMG) en p120 en comparación con los ratones SOD1G93A con dieta control.

22) Descifrando el efecto de las alteraciones de TDP43 sobre el metabolismo lipídico cerebral.

I. García-Toledo¹, J.M. Godoy-Corchuelo¹, L.C. Fernández-Beltrán¹, L. Fernández¹, I. Jimenez-Coca¹, J. Matias-Guiu¹, E. Area-Gomez², S. Corrochano¹.

¹Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos, Grupo de enfermedades Neurológicas, Madrid, España. ²Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas-CSIC, Departamento de Biología Celular y Molecular, Madrid, España.

TDP-43, una proteína nuclear codificada por el gen TARDBP, se acumula en inclusiones citoplasmáticas en diversos trastornos neurodegenerativos, como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y la demencia frontotemporal (FTD). Estos trastornos implican mecanismos patológicos complejos, y se reconoce cada vez más el papel crucial del metabolismo lipídico en su fisiopatología. Hay poco conocimiento sobre el papel de TDP-43 en la regulación del metabolismo de los lípidos y si las alteraciones metabólicas de los lípidos observadas en las proteinopatías por TDP-43 tienen un perfil

similar o si lo implicados en las diferentes rutas metabólicas tienen algún papel modulando TDP-43.

Para abordar esta cuestión, llevamos a cabo un estudio completo utilizando dos modelos de ratones portadores de diferentes mutaciones en el gen TARDBP: el Tg-hTDP43-A315T y el knockin fisiológico TardbpM323K/M323K, bajo diferentes condiciones de estilo de vida. Implementamos un enfoque multi-ómico que incluyó análisis transcriptómicos y lipidómicos, así como análisis funcionales, como tomografía por emisión de positrones (PET) de glucosa y ácidos grasos, para evaluar el metabolismo cerebral. Además, empleamos espectrometría de masas de ionización por electropulverización y desorción (DESI-MS) para visualizar la distribución espacial de los lípidos.

Este abordaje nos permitirá explorar el papel y la interacción de TDP-43 con el metabolismo lipídico. Dilucidando así, si las alteraciones en TDP-43 afectan a la regulación de vías metabólicas, especialmente las lipídicas a nivel cerebral, así como comprender cómo estas alteraciones metabólicas podrían influir en la patología asociada a TDP-43.

23) Hacia una medicina de precisión en ELA: papel del metabolismo lipídico en la enfermedad.

Juan Ignacio López Carbonero¹, Angélica Larrad Sainz², Irene García Toledo¹, Laura Fernández Hernández¹, Pablo Bascuñana Almarcha³, Alejandro Horga Hernández¹, José Luis Ayala Rodrigo⁴, Jordi Matías-Guiu Antem¹, María José Gil Moreno¹, Antonio Guerrero Sola¹ and Silvia Corrochano Sánchez¹.

¹Grupo de Enfermedades Neurológicas. Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos. Hospital Clínico San Carlos (Madrid). ²Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico San Carlos (Madrid).

³Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Clínico San Carlos (Madrid).

⁴Departamento de Arquitectura de Computadores y Automática. Facultad de Informática. Universidad Complutense de Madrid.

Existe una creciente evidencia científica acerca de la influencia de factores ambientales en el desarrollo de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). La observación clínica de que el metabolismo corporal podría influir en la presentación clínica de ELA ha dirigido las nuevas investigaciones hacia conocer mejor el papel de estos factores para elaborar estrategias de prevención. La proteína TDP-43, asociada a la

gran mayoría de los casos de ELA, es de expresión ubicua, especialmente en tejidos de alta importancia metabólica, como el músculo, la grasa o el hígado.

Esto eleva la hipótesis de una proteinopatía TDP-43 multisistémica más allá del fenotipo neurológico. Estos hallazgos se han observado en modelos animales de mutaciones en TARDBP y en algunos estudios preliminares en pacientes. Presentamos un proyecto de investigación translacional en el que se busca integrar múltiples variables clínicas, metabólicas, analíticas, genéticas y epigenéticas en una cohorte de pacientes con ELA y/o variante conductual de demencia frontotemporal (DFT), así como portadores asintomáticos de mutaciones causantes de enfermedades del espectro DFT/ELA y controles voluntarios sanos, para elaborar perfiles de riesgo que fundamenten futuras estrategias no farmacológicas de medicina de precisión. La visita clínica consta, entre otros parámetros clínicos, de una encuesta de vida previa desarrollada por el grupo de investigación, una evaluación neuropsicológica, un estudio de composición corporal con bioimpedanciometría y una extensa analítica de sangre en la que se analizarán parámetros metabólicos convencionales, analitos relacionados con neurodegeneración (NfL, GFAP, TDP-43), lipidómica y análisis genético, epigenético y transcriptómico. Todos los datos se integrarán mediante métodos bioinformáticos y de inteligencia artificial para definir herramientas predictivas que permitan dirigir recomendaciones de salud de forma global para cada patología y de forma personalizada para cada participante en función de sus resultados.

24) Explorando el universo lipídico en la ELA: Expedición de TDP-43

Anna Fernàndez-Bernal¹, Natàlia Mota-Martorell¹, Miriam Ceron¹, Pol Andrés-Benito², Mònica Povedano³, Elia Obis¹, Mariona Jové¹, Isidro Ferrer³, Reinald Pamplona¹, Manuel Portero-Otin¹.

¹Fisiopatología Metabólica, Departamento de Medicina Experimental, Universidad de Lleida-IRB Lleida, Lleida, España. ²Universidad de Barcelona-CIBERNED, l'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España. ³Servicio de Neurología, Hospital Universitario de Bellvitge, l'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España.

Introducción. La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la pérdida progresiva de motoneuronas. Existen evidencias de alteraciones en el

metabolismo de los lípidos en diversas enfermedades neurodegenerativas, incluida la ELA. Los lípidos son los principales componentes de las membranas celulares y desempeñan un papel crucial en diversos procesos celulares, como el almacenamiento de energía, la señalización y el mantenimiento de la estructura y la fluidez de las membranas celulares. En el contexto de la enfermedad, tenemos resultados previos que indican que la disfunción de TDP-43 puede afectar al lipidoma de las MAMs (membranas asociadas a mitocondrias), plataformas celulares involucradas en la regulación del metabolismo de los lípidos. Para seguir en esta línea de investigación, hemos decidido evaluar el metabolismo de los lípidos en pacientes con proteinopatía de TDP-43 (incluyendo ELA) y en modelos animales y celulares de la enfermedad.

Objetivo. Evaluar los posibles cambios en el lipidoma secundarios a las alteraciones de TDP-43 y establecer una relación entre TDP-43 y el metabolismo de los lípidos.

Metodología. Hemos evaluado el lipidoma en: (i) muestras de córtex frontal humano (n=5 grupo control; n=20 grupo de enfermedades neurodegenerativas, incluyendo ELA y DFT-ELA); (ii) tejido de ratones transgénicos B6N-Cg-Tg(Prnp-TARDBP*Q331K)103Dwc/J (TDP-43 Q331K), tanto en muestras de cerebro como de médula espinal; (iii) un modelo celular que expresa un sistema inducible para reducir la expresión de TARDBP mediante la exposición a doxiciclina. Para llevar a cabo el análisis del lipidoma, hemos utilizado una técnica de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC/MS-QQQ) con un enfoque dirigido (evaluación de 700 especies lipídicas).

Resultados. El análisis lipidómico dirigido revela cambios en el lipidoma, secundarios a las alteraciones en la proteína TDP-43. En cuanto a las muestras humanas, observamos cambios significativos en los lípidos estructurales, lo que podría indicar que las membranas celulares del sistema nervioso están comprometidas. Aunque los resultados observados en los modelos animales y celulares son parcialmente diferentes, los principales cambios parecen estar en los lípidos con función estructural.

Conclusión. Las alteraciones en TDP-43 pueden afectar el metabolismo lipídico en humanos y en modelos animales y celulares de disfunción de TDP-43. Los cambios en los lípidos estructurales podrían comprometer las membranas celulares, interfiriendo con su función normal y llevando a la disfunción e incluso a la muerte celular.

25) Desvelando el impacto de TDP-43 en la homeostasis metabólica: Implicaciones para la esclerosis lateral amiotrófica.

Miriam Ceron-Codorniu, Anna Fernàndez-Bernal, Marta Vilaseca-Santacreu, Pascual Torres, Santiago Rico-Rios, José CE Serrano, Reinald Pamplona, and Manuel Portero-Otín.

Fisiopatología Metabólica, Departamento de Medicina Experimental, Universidad de Lleida-IRB Lleida, Lleida, España.

La agregación citoplasmática de la proteína de unión al ADN TAR 43 (TDP-43) representa una característica patológica observada en la mayoría de los casos de esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y dentro del espectro de la demencia frontotemporal-ELA. Sin embargo, las implicaciones patológicas concretas de la insuficiencia de TDP-43 asociada con estas inclusiones todavía no se conocen. Abordar esta incógnita requiere el empleo de modelos celulares robustos y de alto rendimiento basados en el transcriptoma humano. Aquí, delineamos las consecuencias metabólicas derivadas de la depleción de TDP-43, dada la bien establecida asociación entre la ELA y las alteraciones en la homeostasis energética dentro de las neuronas motoras. En consonancia con las observaciones en neuronas motoras derivadas de células madre pluripotentes inducidas (iPSC), la pérdida inducible de TDP-43 en un clon celular derivado de HeLa muestra una notable reducción en la actividad reductora de la célula, evaluada mediante un ensayo de resazurina, junto con alteraciones en la viabilidad celular. Estos cambios metabólicos se correlacionan con disfunción mitocondrial, como muestran las alteraciones en la tasa de consumo de oxígeno, aunque de forma dependiente del tipo celular. Específicamente, la deficiencia de TDP-43 conduce a una disminución pronunciada en la respiración basal y el consumo de oxígeno ligado a la producción de ATP en ambos modelos. Sin embargo, mientras que el consumo de oxígeno no mitocondrial disminuye en el clon de HeLa, aumenta en las motoneuronas. Los análisis morfológicos revelan además un aumento de la producción de superóxido en el clon de HeLa, implicando potencialmente vías de mitofagia desreguladas. Además, la pérdida de TDP-43 en el clon derivado de HeLa conduce a una mayor acumulación de gotas lipídicas y una mayor expresión de ACSL4, sugiriendo una mayor susceptibilidad a fenómenos compatibles con ferroptosis. Nuestros hallazgos arrojan luz sobre la complicada interacción entre la desregulación de TDP-43 y las perturbaciones metabólicas, enfatizando la posible implicación de la

disfunción mitocondrial y la desregulación del metabolismo lipídico en la patogénesis de la ELA y trastornos neurodegenerativos relacionados.

26) Alteraciones de hormonas implicadas en la regulación del metabolismo en la esclerosis lateral amiotrófica y la demencia frontotemporal.

Cristina Benito-Casado¹, Rachel Atkinson², Jessica Collins², Águeda Ferrer-Donato¹, Jemeen Sreedharan³, Anna King², Carmen M. Fernandez-Martos^{1,2}.

¹Facultad de Farmacia, Universidad CEU-San Pablo, España. ²Centro de Demencia Wicking, Facultad de Salud y Medicina, Universidad de Tasmania, Hobart, Tasmania, Australia. ³Instituto de Neurociencia Clínica Maurice Wohl, Instituto de Psiquiatría, Psicología y Neurociencia, King's College de Londres, Londres, Reino Unido.

Son cada vez más numerosos los estudios que han puesto el foco de sus investigaciones en estudiar y evaluar el impacto que las alteraciones del metabolismo ejercen sobre el origen y la progresión de enfermedades neurodegenerativas (NDDs) sin un tratamiento clínico efectivo. Tanto en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), como en la demencia frontotemporal (DFT), se observan alteraciones del metabolismo. Aunque la regulación de los procesos metabólicos en el sistema nervioso central (SNC) se lleva a cabo, principalmente, en el hipotálamo, las regiones extra-hipotalámicas del SNC expresan un importante número de receptores hormonales metabólicos, entre los que se incluyen el receptor largo de la leptina (LEPR), los receptores de insulina (INSR), y el neuropéptido Y (NPY). Sin embargo, a pesar de que su localización celular en estas regiones apunta a que pueden desempeñar un papel clave en los procesos patogénicos subyacentes a estas devastadoras NDDs, actualmente existe un gran desconocimiento científico sobre los mecanismos moleculares y celulares regulados por estas hormonas y su contribución a la ELA/DFT. Nuestro estudio ha tratado de determinar si la expresión de estas hormonas, y de sus receptores, están alteradas en regiones vulnerables en la DFT (giro frontal superior [SFG] y corteza insular [insular] y en la ELA (corteza motora primaria [MCtx] y médula espinal lumbar [LumSC], empleando muestras humanas con patología de TDP-43, en comparación con muestras control de personas sanas. Los niveles de ARNm de LEPR estaban aumentados en SFG de los casos de DFT y en MCtx y LumSC de los casos de ELA, mientras que el ARNm INSR estaba

aumentado en SFG e insular de los casos de DFT. La proteína NPY estaba disminuida en MCtx y LumSC de los casos de ELA. Nuestros resultados demuestran que las hormonas metabólicas podrían desempeñar papeles críticos en la patogénesis de estas enfermedades.

27) La síntesis de ácidos grasos saturados como diana terapéutica para mitigar los mecanismos no-autónomos de la motoneurona en la ELA.

Garciandia-Arcelus, M^{1,3}; Rodríguez-Gómez, L^{1,3}; Ondaro, J^{1,2}; Jiménez-Zúñiga, A^{1,2}; Zúñiga-Elizari, JL¹; Ruiz-Larrea, MB³; Ruiz-Sanz, JI³; López de Munain, A^{1,2,4,5,6}; Gereñu, G^{1,2,3,7}; Gil-Bea, FJ^{1,2,7,8}.

¹Departamento de Neurociencias, Instituto de Investigación Sanitaria Biogipuzkoa, San Sebastián, España. ²CIBERNED, ISCIII (CIBER, Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación de España), Madrid, España. ³Departamento de Fisiología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa, España. ⁴Departamento de Neurología, Hospital Universitario Donostia, Osakidetza Servicio Vasco de Salud, San Sebastián, España. ⁵Facultad de Medicina, Universidad del País Vasco, San Sebastián, España. ⁶Facultad de Medicina, Universidad de Deusto, Bilbao, España. ⁷Ikerbasque, Fundación Vasca para la Ciencia, Bilbao, España. ⁸Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad degenerativa de las motoneuronas (MNs) de rápida progresión y sin tratamiento efectivo. La exploración del metabolismo lipídico ha llevado a la identificación de biomarcadores descriptivos de la enfermedad, proporcionando información sobre los procesos biológicos subyacentes involucrados en una amplia gama de trastornos psiquiátricos y neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer y Parkinson. Los lípidos sirven como componentes estructurales de las membranas, moléculas de señalización y son contribuyentes a la conductividad neuronal en el sistema nervioso central. Mientras que las neuronas evitan usar lípidos como sustratos metabólicos, los astrocitos mantienen la homeostasis lipídica a través de la fosforilación oxidativa (OxPhos). Las disfunciones en las células gliales y la homeostasis lipídica están profundamente involucradas en la patogénesis de enfermedades de la motoneurona como la ELA, según lo evidenciado por análisis de ontología genética y enriquecimiento de vías. Nuestro trabajo tiene como objetivo investigar cómo los factores patogénicos de la ELA,

particularmente la pérdida de función de TDP-43, influyen en la capacidad metabólica de los astrocitos y podrían impactar en la desintoxicación de lípidos y la salud neuronal. Las vías de producción de energía alteradas en los astrocitos con silenciamiento de TDP-43, potencialmente vinculadas a la oxidación de ácidos grasos (FAO) y la acumulación de lípidos, abren camino a futuras investigaciones y posibles estrategias terapéuticas en la ELA.

28) Caracterización de la concentración, fenotipo y cargo de vesículas extracelulares producidas por linfoblastos de ELA.

J. Alejandro Bueso¹, Carmen Péreza¹, Rocío Bravo^{2,3}, David Otaegui^{2,3}, Valle Palomo^{1,3}.

¹IMDEA Nanociencia, Calle Faraday 9, 28049 Madrid, Spain. ²IIS Biogipuzkoa, Paseo Dr. Begiristain, s/n, 20014 San Sebastián, Gipuzkoa Spain, ³CIBERNED Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Neurodegenerativas, Calle de Valderrebollo 5, 28031 Madrid, Spain.

La esclerosis lateral amiotrófica (ALS) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a las motoneuronas superiores e inferiores, que están relacionadas con los movimientos voluntarios. Los modelos animales actuales no reflejan la patología humana y no son tan heterogéneos como la enfermedad.(1) La proteína TDP-43 se encuentra gravemente desregulada y agregada en el 97% de pacientes esporádicos (sALS), y muestra una propagación de tipo priónico.(2) La proteinopatía de TDP-43 se observa en los modelos linfoblásticos.(1) En este estudio, nuestro objetivo es caracterizar las vesículas extracelulares (EVs) producidas por el modelo linfoblástico en cuanto a concentración, fenotipo y cargo, y ver cómo afectan los tratamientos a estos parámetros.

Los linfoblastos derivados de controles sanos y de pacientes de sALS fueron tratados con IGS-2.7 (IGS) y riluzol. Las EVs obtenidas a partir de estas células fueron aisladas utilizando el kit Total Exosome Isolation Reagent (TEIR) o ultracentrifugación (UC). La concentración de partículas se midió utilizando el Nanosight NS300. Después del aislamiento de EVs, se marcaron con Quantum Dots (QD): aproximadamente 1x10⁸ EVs se incubaron con 20 ng de anticuerpo anti-CD9/CD63/CD81 y 0.17 nM QD. Los anticuerpos y los QD se unen mediante biotina-estreptavidina. Las tetraspaninas fueron evaluadas en el ExoView. Se realizó un estudio de identificación masiva de

proteínas (shotgun proteomics) para las EVs, en el que 5725 proteínas fueron identificadas inicialmente. Después del filtrado, 5551 proteínas fueron evaluadas. Al comparar los métodos de aislamiento, 7 proteínas diferencialmente expresadas se comparten entre los grupos ($p = 0.05$). Estas proteínas son AK1A1, PR38A, CKLF3, RFA2, BMPR2, CD82, WSDU1.

Referencias: Posa D, Martínez-González L, Bartolomé F, et al. Recapitulation of Pathological TDP-43 Features in Immortalized Lymphocytes from Sporadic ALS Patients. *Mol Neurobiol*. 2019;56(4):2424-2432. (2) Sproviero D, La Salvia S, Giannini M, et al. Pathological Proteins Are Transported by Extracellular Vesicles of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients. *Front Neurosci*. 2018;12:487

Premios

- **Premio a la mejor exposición científica clínica en formato póster**

Evaluación de vida real de la Rasch-built Overall ALS Disability Scale (ROADS) y el ALSFRS-R autoevaluado por medio de telemedicina. Alejandro Caravaca Purchades, Hospital de Bellvitge, Barcelona.

- **Premio a la mejor exposición científica básica en formato póster**

¿Es la Esclerosis Lateral Amiotrófica una ribosomopatía específica de neurona? Anabel Sáez-Mas, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid.





Patrocinadores



POR SOLIDARIDAD
OTROS FINES DE INTERÉS SOCIAL