

MONOGRAFÍAS EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE



Avalado por



Sociedad Española
de Neurología

NEURODEGENERACIÓN EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Las manifestaciones aquí recogidas no reflejan necesariamente la opinión sustentada por Bayer.

© *Copyright* 2015 de los autores. Monografía XVIII



C/ Rosselló, 335, bajos. 08037 Barcelona
Telf.: 93 208 05 52 • Correo electrónico: info@ambosmarketing.com
ISSN: 1885-5520 • Depósito legal: B-7912-2015

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de producción, sin la autorización por escrito de los titulares del *copyright*.

[Consejo Editorial]

Dr. José Carlos Álvarez-Cermeño
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Dr. Txomin Arbizu Urdiain
Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Dr. Rafael Arroyo González
Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Dr. Bonaventura Casanova Estruch
Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Dr. Óscar Fernández y Fernández
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Dr. Miguel Ángel Hernández Pérez
Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

Dr. Guillermo Izquierdo Ayuso
Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Dr. J. Antonio García Merino
Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Majadahonda (Madrid)

Dr. Xavier Montalbán Gairin
Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona
Centre d'Esclerosi Múltiple de Catalunya (CEM-Cat)

Dr. José M.^a Prieto González
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (A Coruña)

Dr. Alfredo Rodríguez-Antigüedad
Hospital de Basurto. Bilbao

[Sumario]

Neurodegeneración en la esclerosis múltiple

Inmunopatología de la esclerosis múltiple

Autores: F.J. Quintana, A. Yeste, I.D. Mascalfroni

Editores: J.C. Álvarez-Cermeño, G. Izquierdo Ayuso 7

Marcadores de neurodegeneración

Autor: M. Comabella

Editores: J.A. García Merino, A. Rodríguez-Antigüedad 25

Tratamiento de la neurodegeneración

Autores: M.Á. Hernández, Y. Contreras, C. Solé, C. Villar

Editores: R. Arroyo González, Ó. Fernández y Fernández 47

{ Inmunopatología de la esclerosis múltiple }

Autores: Francisco J. Quintana¹, Ada Yeste¹, Ivan D. Mascanfroni¹

Editores: José Carlos Álvarez-Cermeño², Guillermo Izquierdo Ayuso³

¹ Center for Neurologic Diseases. Department of Neurology.
Brigham and Women's Hospital. Harvard Medical School. Boston (USA)

² Unidad de Esclerosis Múltiple. Servicio de Neurología.
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

³ Servicio de Neurología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

1/Introducción

2/Mecanismos inmunopatológicos en la esclerosis múltiple

3/Conclusiones

Bibliografía

Resumen

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante que afecta al sistema nervioso central (SNC) y que es considerada una de las principales causas de discapacidad en adultos jóvenes. Las causas de la EM son aún desconocidas, aunque se cree que una combinación de factores genéticos y ambientales resulta en una respuesta autoinmune que promueve la degeneración neuronal/axonal. En este capítulo se analiza la asociación entre la respuesta inmune y la neurodegeneración en la EM.

1 / Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante que afecta al sistema nervioso central (SNC)⁽¹⁻⁴⁾. En la mayoría de los casos, la EM se manifiesta inicialmente entre los 20 y los 40 años y es una de las principales causas de discapacidad en adultos jóvenes. El curso clínico y la presentación de la enfermedad son heterogéneos y varían entre pacientes o en un mismo paciente a lo largo del tiempo. En su forma más frecuente, presente en aproximadamente el 85% de los pacientes, la enfermedad se manifiesta inicialmente en forma de brotes seguidos de remisiones totales o parciales. Esta etapa de la enfermedad se denomina esclerosis múltiple recurrente-remittente (EMRR) y es la fase de la enfermedad que mejor respuesta clínica presenta a las intervenciones terapéuticas disponibles. Eventualmente, el curso clínico de la enfermedad evoluciona, mostrando un deterioro neurológico progresivo independiente de las recaídas y remisiones y muestra una respuesta limitada a las intervenciones usadas en el tratamiento de la EMRR. Esta etapa de la enfermedad se denomina esclerosis múltiple secundaria progresiva (EMSP). Finalmente, en un grupo reducido de pacientes la enfermedad se presenta desde su diagnóstico con un deterioro progresivo de la función neurológica, denominándose esclerosis múltiple primaria progresiva (EMPP).

Patológicamente, la EM se caracteriza por la presencia en el SNC de lesiones (placas) inflamatorias desmielinizadas que evolucionan en el tiempo y en el espacio⁽⁵⁻⁷⁾. Estas placas fueron identificadas por vez primera por Jean-Martin Charcot, de la Universidad de París, quien tuvo la oportunidad de examinar el cerebro de una de sus pacientes tras su muerte. Durante este examen, el doctor Charcot documentó la presencia de las placas en el cerebro en la EM, por lo que la denominó *la sclerose en plaques*.

Las lesiones del SNC detectadas en la EM se caracterizan por la disrupción de la barrera hematoencefálica, inflamación, desmielinización, pérdida de oligodendrocitos, gliosis reactiva y degeneración neuronal/axonal⁽⁵⁻⁷⁾. La pérdida neuronal/axonal progresiva se considera la causa más importante de discapacidad neurológica en la EM⁽⁸⁾. A pesar de que la neurodegeneración es detectable desde los estadios iniciales de la enfermedad, la acción de mecanismos compensatorios del SNC evita la aparición de síntomas neurológicos permanentes en esta etapa⁽⁷⁾. Sin embargo, la neurodegeneración acumulada a lo largo del curso de la enfermedad sobrepasa eventualmente la capacidad de estos mecanismos compensatorios, resultando en la acumulación progresiva de discapacidad que caracteriza a la EMSP.

Las causas de la EM son desconocidas, aunque se cree que una combinación de factores ambientales y genéticos contribuye a su patogénesis. Entre los **factores ambientales** pueden identificarse infecciones, tabaquismo y la disminución de los niveles de vitamina D⁽⁹⁻¹³⁾. Numerosos estudios han abordado la identificación de los **factores genéticos** asociados a la EM. Estos estudios identificaron variantes alélicas mayoritariamente asociadas con la respuesta inmune, pero no directamente con procesos neurodegenerativos^(14,15). Estas observaciones sugieren que la neurodegeneración, considerada la causante de la disfunción neurológica en la EM, es el resultado de procesos inflamatorios. Esta asociación entre inflamación y neurodegeneración es observada también en otras patologías del

SNC, como en la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. En este capítulo analizaremos la asociación entre la respuesta inmune y la neurodegeneración en la EM, centrándonos en los mecanismos efectores de la respuesta inmune. El análisis de los mecanismos fisiológicos de inmunorregulación (células T reguladoras, células B reguladoras, células dendríticas tolerogénicas y monocitos de tipo 2, entre otros) y su explotación en el desarrollo de nuevas terapias para la EM y otras enfermedades autoinmunes será discutido en otra ocasión.

2 / Mecanismos inmunopatológicos en la esclerosis múltiple

Células T CD4+

Las terapias que impiden la entrada de células T al SNC, ya sea a través del bloqueo de la interacción con el endotelio en vénulas (natalizumab)(20-22) o al inhibir la salida de células T de los nodulos linfáticos (fingolimod)(23-26), tienen fuertes efectos terapéuticos en la EMRR. La administración del alemtuzumab, un anticuerpo anti-CD52 que elimina células T CD4+ y CD8+ de la circulación, resulta en una significativa disminución de brotes y nuevas lesiones(23-26). Estas observaciones sugieren que las células T juegan un rol importante en esta etapa de la enfermedad.

Se ha postulado que los brotes y remisiones que caracterizan a la EMRR son el resultado de la propagación de epítomos (*epitope spreading*), el mecanismo por el cual las células T del paciente amplían el número de dianas de sus acciones patológicas en el SNC⁽²⁷⁾. Esta propagación de epítomos postula que la respuesta inmune dirigida por células T que reconocen un antígeno 1 en el SNC resulta en la destrucción de tejido que libera fragmentos de un antígeno 2, llevando como consecuencia de ello a la activación de un nuevo grupo de células T que reconocen el antígeno 2 en el SNC (**Figura 1**). Esto resulta en una nueva oleada de inflamación en el SNC, ahora encabezada por células T que reconocen el antígeno 2. Entonces, se ha postulado que cada oleada de propagación de epítomos es reflejada como un nuevo brote, seguido de remisión cuando mecanismos intrínsecos de inmunorregulación controlan a las células T patogénicas. Sin embargo, es importante resaltar que no existen estudios fehacientes que demuestren la contribución de este mecanismo en la EM y que estos estudios se basan principalmente en experimentos realizados en modelos experimentales en animales.

La respuesta a la activación de células T CD4+ por células presentadoras de antígeno en presencia de citocinas específicas es la diferenciación en distintos linajes efectores que juegan importantes roles en la inmunopatología de la EM. Entre células T CD4+ efectoras, las más importantes para la patogenia de la EM, se encuentran las células Th1 y Th17 (**Figura 2**). Las células Th1 se diferencian en respuesta a la activación en presencia de la interleucina 12 (IL-12) y se caracterizan por la expresión del factor de transcripción Tbet, el cual controla un programa de expresión génica que resulta en la producción de

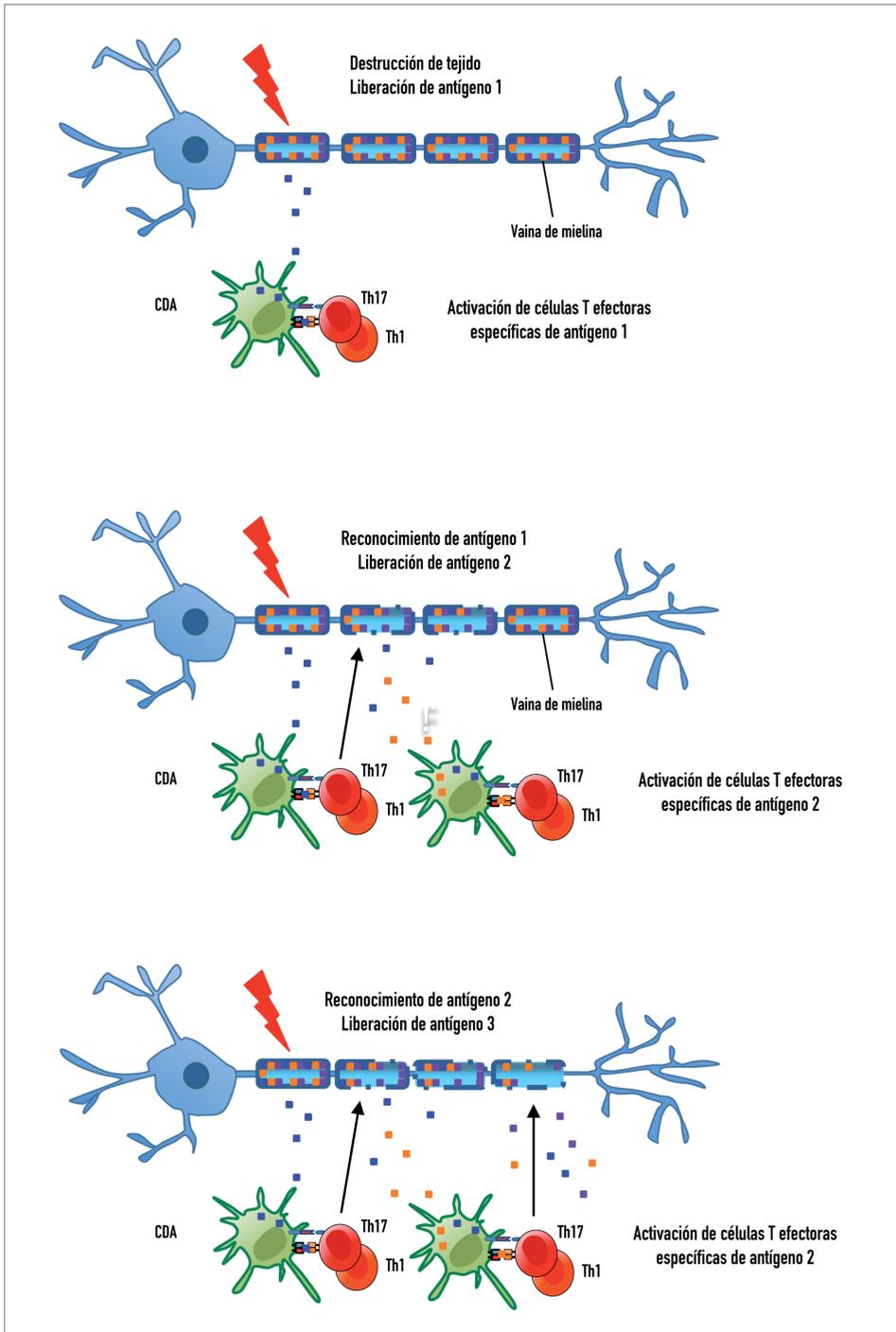


Figura 1.

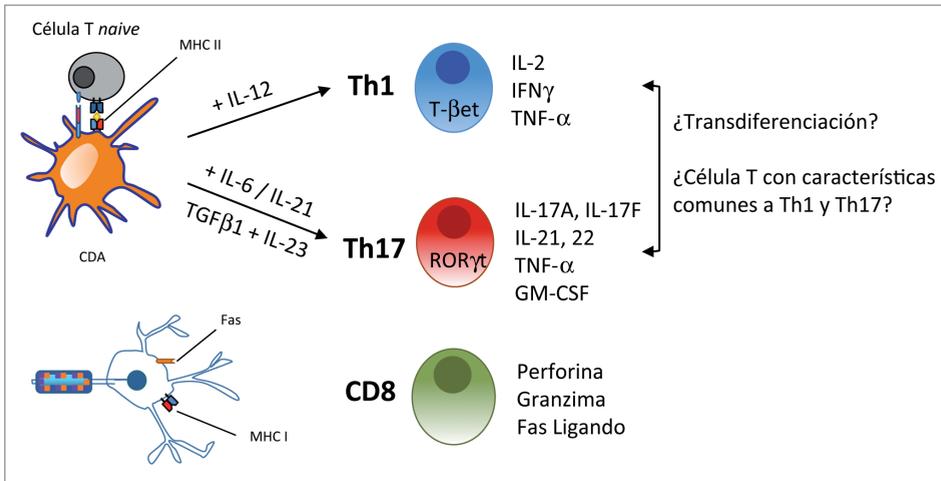


Figura 2.

interferón gamma (IFN γ) y otras moléculas efectoras^(28,29). Las células Th17 se diferencian en respuesta a la activación en presencia del factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β 1), IL-6 o IL-21 e IL-23, y se caracterizan por la expresión del factor de transcripción ROR γ t, quien controla un programa de expresión génica que resulta en la expresión de IL-17 y otras moléculas efectoras⁽³⁰⁻³²⁾. A pesar de que las células Th1 y Th17 diferenciadas *in vitro* tienen claras diferencias moleculares, fenotípicas y funcionales, *in vivo* estas diferencias son mínimas y es posible incluso que exista una significativa plasticidad que permita la transdiferenciación de un linaje en otro o la diferenciación de células con características comunes a ambos linajes. De esta forma, es posible detectar *in vivo* células T CD4+ que expresan IL-17 e IFN γ , en combinación con otras citocinas efectoras que contribuyen a la patogénesis de la neuroinflamación, como por ejemplo el factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF, por sus siglas en inglés)^(33,34).

Las células Th1 y Th17 contribuyen por distintos mecanismos a la patogénia de la EM. A pesar de que otras células del sistema inmune pueden producirlas, IFN γ e IL-17, citocinas clásicamente usadas para definir a las células Th1 y Th17, respectivamente, tienen efectos directos en el desarrollo de la EM. Panitch *et al.* administraron IFN γ a 18 pacientes con EMRR y observaron la inducción de brotes en 7 de esos pacientes^(35,36). Estas observaciones sugieren que el IFN γ (y probablemente otras moléculas producidas por las células Th1) contribuye directamente a la patogénia de la EM. Por otra parte, resultados recientes de ensayos clínicos en fase IIa sugieren que la IL-17, producida por células Th17 y también por otras células del sistema inmune, también contribuye. La administración de secukinumab, un anticuerpo que neutraliza la IL-17, reduce significativamente el número de lesiones en el SNC y muestra una tendencia a disminuir el número de brotes durante 6 meses^(37,38).

Además de la producción de IFN γ e IL-17, las células Th1 y Th17 contribuyen a la patogénia de la EM por otros mecanismos. Las células T CD4+ interactúan directamente con neuronas, formando una sinapsis inmunológica estabilizada por las moléculas

LFA-1 e ICAM^(39,40). En el caso de las células Th17, la detección de su interacción directa con neuronas *in vivo* sugiere que éste es otro mecanismo por el cual este linaje celular promueve la neurodegeneración y contribuye a la patología de la EM⁽⁴¹⁾.

Las células Th1 y Th17 también promueven la activación de microglía, macrófagos, astrocitos y linfocitos B a través de la producción de citocinas y factores de crecimiento, activando consecuentemente mecanismos adicionales neurodegenerativos. Por ejemplo, el GM-CSF producido por células Th1 y Th17 induce potentes propiedades neurotóxicas en microglía y monocitos^(33,34). El IFN γ y la IL-17 actúan directamente en astrocitos para promover la producción de moléculas neurotóxicas⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾. Finalmente, la proteína podoplanina, producida por las células Th17, promueve la formación de nódulos linfáticos terciarios en el SNC, en los cuales se establecen y diferencian células productoras de anticuerpos^(45,46).

Células T CD8+

Las células T CD8+ son de 3 a 10 veces más abundantes que las CD4+ en placas crónicamente inflamadas en el SNC de pacientes con EM⁽⁴⁷⁻⁵⁰⁾. El daño axonal correlaciona más fuertemente con el número de células T CD8+ y microglía/macrófagos que con las CD4+^(51,52). De hecho, las células T CD8+ se localizan y expanden clonalmente tanto en las lesiones perivasculares del SNC en la EM como en el parénquima, mientras que las células T CD4+ están mayoritariamente restringidas a las regiones perivasculares^(47,53). Además, las células T CD8+ inducen muerte neuronal en cultivo^(54,55). Estas observaciones sugieren que las células T CD8+ también participan en la patogenia de la EM⁽⁵⁰⁾. Lamentablemente, las células T CD8+ no han sido estudiadas en profundidad en los modelos experimentales murinos de EM, a pesar de que pueden ser fácilmente detectadas⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾; por ello, existe una información limitada respecto a su contribución al desarrollo de la EM.

Las células T CD8+ interactúan con células que expresan el complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHCI), el cual es expresado por todas las células nucleadas⁽⁵³⁾, formando una sinapsis inmunológica estabilizada por las moléculas de adhesión LFA-1 e ICAM-1⁽⁵⁰⁾. Durante el curso de la inflamación del SNC, la presencia de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y el IFN γ , junto con la baja actividad de las neuronas lesionadas, resulta en un incremento en la expresión del MHCI en neuronas y, consecuentemente, en una facilitación de la interacción entre neuronas y células T CD8+⁽⁵⁰⁾. Este proceso se ve aumentado por la acción de la microglía y los macrófagos activados, quienes secretan citocinas proinflamatorias que incrementan aún más la expresión del MHCI en neuronas y, como consecuencia, su interacción con células T CD8+. Estas observaciones sugieren que la producción de citocinas por células T CD4+, microglía, macrófagos y otras células en el SNC aumenta la capacidad de las células T CD8+ de interactuar con neuronas y, potencialmente, inducir neurodegeneración.

Diversos mecanismos están involucrados en la destrucción de neuronas por células T CD8+. La citotoxicidad mediada por células T CD8+ es mediada *in vivo* mayoritariamente por dos mecanismos: 1) la secreción de gránulos líticos que contienen perforina y

granzimas, las cuales pueden disparar la ruptura de la membrana celular y/o la apoptosis; y 2) la interacción de FasL con Fas expresado en neuronas^(55,59). Diferencias en la intensidad de la interacción MHC/TCR favorecen el uso de un mecanismo específico de citotoxicidad⁽⁶⁰⁾. Sin embargo, es probable que *in vivo* todos estos mecanismos contribuyan a los efectos patogénicos de las células T CD8+ en neuronas.

En el contexto de la neuroinflamación, es importante considerar que las células T CD8+ producen también grandes cantidades de TNF α e IFN γ . El TNF α altera directamente la estructura y funcionalidad de la membrana neuronal, interfiriendo con la funcionalidad de las neuronas^(60,61) e induciendo su apoptosis^(62,63). El IFN γ modula la actividad del receptor AMPA GluR1, incrementando la muerte neuronal por excitotoxicidad⁽⁶⁴⁾. Finalmente, células T CD8+ que producen IL-17 también han sido identificadas en el SNC de pacientes con EM, sugiriendo que la IL-17 producida por estas poblaciones celulares también participa en la patogenia de la enfermedad y en los efectos terapéuticos del secukinumab.

Las células T CD8+ pueden también producir un daño colateral significativo a neuronas con las cuales no establecieron una sinapsis inmunológica. Las moléculas efectoras (perforina, granzimas, etc.) son normalmente liberadas por las células T CD8+ en gránulos líticos contenidos en el espacio limitado por la sinapsis inmunológica. Sin embargo, estas moléculas efectoras pueden escapar al espacio circundante, provocando un daño colateral en las células cercanas⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾. A esto se suma que la activación repetitiva de las células T CD8+ o su interacción con componentes de la matriz extracelular resulta en la secreción indiscriminada de moléculas efectoras neurotóxicas a través de un mecanismo no direccional que también favorece el daño colateral^(65,68).

Células B

Los resultados clínicos positivos observados con el uso de rituximab para el tratamiento de la EM, un anticuerpo monoclonal anti-CD20 que elimina los linfocitos B circulantes, sugieren que las células B juegan un importante rol en el desarrollo de la enfermedad⁽⁶⁹⁾. El tratamiento con rituximab reduce el número de células B, pero no las bandas oligoclonales o la concentración de anticuerpos en el SNC, lo que sugiere que los efectos beneficiosos del tratamiento están asociados a la depleción de linfocitos B y no a la modificación de los niveles de autoanticuerpos. Como resultado de estas observaciones, se considera que el principal aporte de las células B a la patogenia de la EM es a través de la producción de citocinas proinflamatorias, como la linfotoxina y el TNF α , y su capacidad de actuar como células presentadoras de antígeno para activar células T. Esta hipótesis es respaldada por la disminución en la frecuencia de células patogénicas Th1 y Th17 observada en pacientes tratados con rituximab^(70,71).

A pesar de que los efectos terapéuticos del rituximab no están asociados a la eliminación de anticuerpos, autoanticuerpos reactivos en el SNC participan en la patogenia de la EM en determinadas subpoblaciones de pacientes. Se han detectado anticuerpos dirigidos contra epítomos conformacionales de proteínas de mielina en pacientes con EM y su patogenicidad ha sido demostrada en diversos sistemas experimentales^(72,73). Recientemente, se han identificado autoanticuerpos dirigidos contra el canal de potasio Kir4.1

en pacientes con EM y se ha sugerido que estos anticuerpos pueden provocar un daño directo en los astrocitos⁽⁷⁴⁾. Finalmente, los anticuerpos en la EM pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad al interferir con procesos fisiológicos de reparación e inmunorregulación. Por ejemplo, Steinman *et al.* recientemente indicaron que pacientes con EM presentan anticuerpos que bloquean la acción de lípidos endógenos antiinflamatorios, potenciando el avance de la enfermedad^(75,76).

Las observaciones antes mencionadas sugieren efectos patogénicos directos de autoanticuerpos en la progresión de la enfermedad. Sin embargo, además de su potencial contribución a la patogénesis de la EM, los anticuerpos ofrecen una ventana para estudiar la respuesta inmune y su respuesta al tratamiento. Las bandas oligoclonales de inmunoglobulina M (IgM), por ejemplo, tienen utilidad pronóstica para evaluar la progresión de la enfermedad⁽⁷⁷⁻⁷⁹⁾. Por otra parte, nuestro grupo ha demostrado que el estudio de la respuesta de anticuerpos usando microchips de antígenos permite la estratificación de los pacientes con EM, el análisis de la respuesta inmune local en el SNC y la monitorización de la respuesta al tratamiento⁽⁸⁰⁾.

Microglía y macrófagos inflamatorios

La microglía, los macrófagos residentes del SNC, constituyen aproximadamente el 10% de las células del SNC⁽⁸¹⁾. La microglía se genera a partir de precursores que migran al SNC durante el desarrollo fetal⁽⁸²⁻⁸⁴⁾. Las células de la microglía se encuentran constantemente abocadas a la eliminación de desechos celulares y a la detección de patógenos en el SNC. Al activarse en respuesta a lesiones, inflamación o infecciones, la microglía cambia su aspecto morfológico tomando un aspecto ameboso y aumenta la expresión de marcadores de superficie típicamente asociados a macrófagos como F4/80 y Mac-1. Sin embargo, el estímulo específico involucrado (citocinas, agonistas de receptores de tipo Toll) determina el fenotipo funcional que toma la microglía después de su activación: este fenotipo puede ser proinflamatorio (fenotipo M1) o antiinflamatorio y asociado al remodelado de tejidos y cicatrización (fenotipo M2)^(85,86) (Figura 3). Estos fenotipos están asociados a programas transcripcionales específicos⁽⁸⁷⁾; sin embargo, representan extremos de espectro de posibles fenotipos interconvertibles *in vivo*.

En los estadios tempranos de EM pueden identificarse, en las lesiones de pacientes con EM, grupos de microglía activada y macrófagos periféricos reclutados en el SNC, colocalizados con daño axonal y neuronal^(88,89). La microglía y los macrófagos son activados por citocinas producidas por las células T y, también, por productos de la degradación de mielina^(42,90). La activación de células de microglía y macrófagos resulta en la producción de citocinas, quimiocinas y metabolitos que regulan directa e indirectamente la neurodegeneración en la EM^(81,85,91,92). La quimiocina CCL-2 producida por microglía activada, por ejemplo, afecta a la integridad de la barrera hematoencefálica y atrae macrófagos periféricos al SNC. A su vez, una vez reclutados en el SNC, los macrófagos pueden adquirir también un fenotipo proinflamatorio (M1) que promueve la neurodegeneración. La microglía y los macrófagos M1 producen las citocinas IL-12 e IL-23, las cuales contribuyen a la diferenciación de células Th1 y Th17, respectivamente. Además, las células de la microglía y los macrófagos expresan moléculas MHC I y MHC II junto

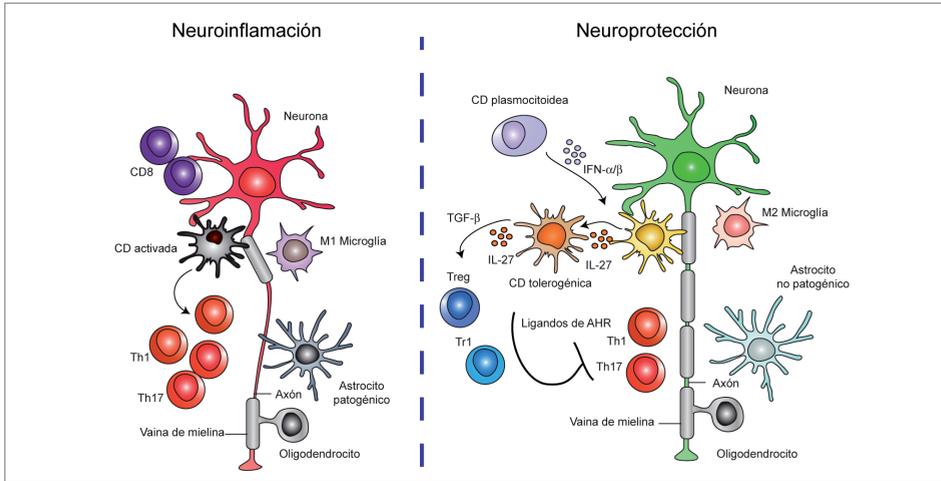


Figura 3.

con moléculas coestimulantes CD40, CD80, CD86, lo que les permite reactivar células T en el SNC, promoviendo la propagación de epítomos y la diferenciación de células patológicas Th1 y Th17.

La microglía y los macrófagos producen también moléculas con directa actividad neurotóxica. El $TNF\alpha$ induce apoptosis en neuronas y también actúa en forma autocrina para promover la secreción de glutamato, incrementando la muerte neuronal causada por excitotoxicidad⁽⁹³⁾. La $IL-1\beta$ también tiene actividades neurotóxicas e induce la producción de óxido nítrico (ON). El ON producido por la microglía y los macrófagos, junto con especies reactivas de oxígeno (ERO), interfiere directamente con la actividad de las mitocondrias en neuronas. La mitocondria es la fuente celular de ATP, la molécula que provee la energía necesaria para sostener la actividad metabólica de las neuronas y todas las células del organismo. A su vez, los axones desmielinizados tienen mayores necesidades energéticas que deben ser cubiertas incrementando la actividad de las mitocondrias. La combinación de un incremento en la demanda energética con una disminución en la función mitocondrial lleva a la muerte neuronal, por un proceso que ha sido denominado “hipoxia virtual”⁽⁷⁾.

Astrocitos

Los astrocitos constituyen el más abundante y diverso tipo de célula de la glía en el SNC, a cargo de importantes funciones metabólicas e inmunológicas⁽⁹⁴⁾. Los astrocitos constituyen una población celular heterogénea que puede subdividirse en función de diferencias funcionales, morfológicas y de localización; dichas diferencias reflejan los distintos orígenes y estímulos ambientales a los cuales estas subpoblaciones están sometidas^(95,96).

Los astrocitos regulan la actividad de la barrera hematoencefálica^(97,98), limitando el ingreso de sustancias tóxicas e iones como el potasio y el calcio⁽⁹⁹⁾. Por otra parte, los

astrocitos controlan los niveles extracelulares de glutamato, regulando por ello el ambiente extracelular en el SNC y limitando la excitotoxicidad⁽⁴⁴⁾. Los astrocitos controlan el flujo de líquido cefalorraquídeo, regulando los niveles locales de oxígeno y glucosa, y constituyen además los únicos depósitos de glucógeno en el SNC, proveyendo de soporte al metabolismo neuronal en condiciones de hipoglucemia^(94,100,101). La contribución de los astrocitos al metabolismo neuronal también incluye la producción de esteroides y lipoproteínas para proveer a las neuronas de precursores necesarios para su normal funcionamiento.

Los astrocitos perivasculares presentan un daño significativo en lesiones activas en la EM; este daño sugiere que las disfunciones en la barrera hematoencefálica que caracterizan a la enfermedad están asociadas a defectos en la funcionalidad de los astrocitos⁽¹⁰⁰⁾. De hecho, los astrocitos controlan la actividad de la barrera a través de distintos mecanismos: la producción de la glicoproteína *sonic hedgehog* que induce y mantiene la barrera y limita el acceso de células del sistema inmune al SNC⁽⁹⁷⁾. Durante el curso de la EM, distintos estímulos como citocinas y productos de degradación de la mielina producen la activación de los astrocitos, resultando en la producción de citocinas y quimiocinas que promueven la respuesta inflamatoria en el SNC^(42,44,94).

Los astrocitos son una fuente importante de la quimiocina CCL-2, que recluta macrófagos inflamatorios al SNC, y también de TNF α , que promueve la apoptosis en neuronas^(42,44,94). Los astrocitos producen cantidades biológicamente significativas de ON, ERO, glutamato y ATP en las lesiones en EM⁽¹⁰⁰⁾. Como ya mencionamos, el ON y los ERO interfieren con la actividad mitocondrial en las neuronas y promueven el desarrollo de hipoxia virtual, con la consiguiente pérdida de axones y neuronas. La secreción de ATP tiene también importantes efectos para la regulación de la respuesta inmune, activando respuestas proinflamatorias en distintos tipos celulares como microglía y células dendríticas^(102,103) y disparando además efectos neurotóxicos directos⁽¹⁰⁴⁾. Finalmente, la secreción de glutamato, acompañada de una reducida capacidad de limitar los niveles extracelulares de glutamato observada en los astrocitos en la EM, resulta en un incremento en la muerte neuronal inducida por excitotoxicidad^(42,105).

Finalmente, los astrocitos regulan la actividad de otras células involucradas en la inmunopatogenia de la EM, influenciando la actividad de oligodendrocitos, células T, microglía y macrófagos, células B, células dendríticas, células NK y células T $\gamma\delta$ ⁽⁴⁴⁾.

3 / Conclusiones

La neurodegeneración y la inflamación están intrínsecamente ligadas al curso de la EM. La activación desmedida del sistema inmune promueve la neurodegeneración y el daño neuronal resulta en la liberación de nuevos epítopos antigénicos y moléculas proinflamatorias que aumentan y perpetúan la respuesta inmune en el SNC. Estas observaciones sugieren que el tratamiento efectivo de los pacientes con EM requiere el control tanto del componente neurodegenerativo como del componente inflamatorio de la enferme-

dad. Las intervenciones terapéuticas disponibles en la actualidad modulan principalmente los aspectos inmunológicos de la enfermedad y, dentro de ellos, sólo aquellos relacionados con la respuesta inmune adaptativa (células B y T), generalmente en una forma antígeno-inespecífica. El reto para nuevas terapias de la EM es la inducción de tolerancia inmune antígeno-específica, por ejemplo, a través del uso de protocolos de tolerancia con péptidos^(106,107), vacunas de ADN⁽¹⁰⁸⁻¹¹⁴⁾ o nanopartículas^(115,116). Además, las futuras terapias para la EM deben estar dirigidas también a controlar los componentes innatos del sistema inmune (microglía, macrófagos, astrocitos) y a promover la remielinización. Es necesario un enfoque terapéutico combinado, que controle los componentes inflamatorios y neurodegenerativos de la enfermedad y monitorice su respuesta al tratamiento mediante el análisis continuado de biomarcadores, para optimizar el tratamiento de la EM.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Hauser SL, Chan JR, Oksenberg JR. Multiple sclerosis: prospects and promise. *Ann Neurol* 2013; 74 (3): 317-27.
- 2 McFarland HF, Martin R. Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol* 2007; 8 (9): 913-9.
- 3 Nylander A, Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2012; 122 (4): 1180-8.
- 4 Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 683-747.
- 5 Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol* 2012; 8 (11): 647-56.
- 6 Popescu BFG, Lucchinetti CF. Pathology of demyelinating diseases. *Annu Rev Pathol* 2012; 7: 185-217.
- 7 Trapp BD, Stys PK. Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2009; 8 (3): 280-91.
- 8 Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis. The plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 2006; 354 (9): 942-55.
- 9 Ascherio A, Munger K. Epidemiology of multiple sclerosis: from risk factors to prevention. *Semin Neurol* 2008; 28 (1): 17-28.
- 10 Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol* 2007; 61 (6): 504-13.
- 11 Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol* 2007; 61 (4): 288-99.
- 12 Ascherio A, Munger KL, Lunemann JD. The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2012; 8 (11): 602-12.
- 13 Simon KC, Munger KL, Ascherio A. Vitamin D and multiple sclerosis: epidemiology, immunology, and genetics. *Curr Opin Neurol* 2012; 25 (3): 246-51.
- 14 Beecham AH, Patsopoulos NA, Xifara DK, Davis MF, Kempainen A, Cotsapas C, et al. Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet* 2013; 45 (11): 1353-60.

- 15 **Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, Patsopoulos NA, Moutsianas L, et al.** Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011; 476 (7359): 214-9.
- 16 **Ellwardt E, Zipp F.** Molecular mechanisms linking neuroinflammation and neurodegeneration in MS. *Exp Neurol* 2014; 262 (Pt. A): 8-17.
- 17 **Fuller S, Steele M, Munch G.** Activated astroglia during chronic inflammation in Alzheimer's disease. Do they neglect their neurosupportive roles? *Mutat Res* 2010; 690 (1-2): 40-9.
- 18 **McGeer PL, Schwab C, Parent A, Doudet D.** Presence of reactive microglia in monkey substantia nigra years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine administration. *Ann Neurol* 2003; 54 (5): 599-604.
- 19 **Tansey MG, McCoy MK, Frank-Cannon TC.** Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Exp Neurol* 2007; 208 (1): 1-25.
- 20 **Havrdova E, Galetta S, Hutchinson M, Stefoski D, Bates D, Polman CH, et al.** Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis: a retrospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study. *Lancet Neurol* 2009; 8 (3): 254-60.
- 21 **Niino M, Bodner C, Simard ML, Alatab S, Gano D, Kim HJ, et al.** Natalizumab effects on immune cell responses in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2006; 59 (5): 748-54.
- 22 **Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al.** A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354 (9): 899-910.
- 23 **Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Khatri BO, Montalban X, et al.** Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362 (5): 402-15.
- 24 **Kappos L, Antel J, Comi G, et al.** Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 355 (11): 1124-40.
- 25 **Kappos L, Radaue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, et al.** A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362 (5): 387-401.
- 26 **Mehling M, Hilbert P, Fritz S, Durovic B, Eichin D, Gasser O, et al.** Antigen-specific adaptive immune responses in fingolimod-treated multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2011; 69 (2): 408-13.
- 27 **Vanderlugt CL, Miller SD.** Epitope spreading in immune-mediated diseases: implications for immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2002; 2 (2): 85-95.
- 28 **O'Garra A, Murphy KM.** From IL-10 to IL-12: how pathogens and their products stimulate APCs to induce T(H)1 development. *Nat Immunol* 2009; 10 (9): 929-32.
- 29 **Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH.** Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 713-58.
- 30 **Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK.** IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 485-517.
- 31 **Miossec P, Korn T, Kuchroo VK.** Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009; 361 (9): 888-98.
- 32 **Sie C, Korn T, Mitsdoerffer M.** Th17 cells in central nervous system autoimmunity. *Exp Neurol* 2014; 262 Pt A: 18-27.
- 33 **Codarri L, Gyölvéski G, Tosevski V, Hesske L, Fontana A, Magnenat L, et al.** ROR γ drives production of the cytokine GM-CSF in helper T cells, which is essential for the effector phase of autoimmune neuroinflammation. *Nat Immunol* 2011; 12 (6): 560-7.

- 34 El-Behi M, Ciric B, Dai H, Yan Y, Cullimore M, Safavi F, et al. The encephalitogenicity of T(H)17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nat Immunol* 2011; 12 (6): 568-75.
- 35 Panitch HS, Hirsch RL, Haley AS, Johnson KP. Exacerbations of multiple sclerosis in patients treated with gamma interferon. *Lancet* 1987; 1 (8538): 893-5.
- 36 Panitch HS, Hirsch RL, Schindler J, Johnson KP. Treatment of multiple sclerosis with gamma interferon: exacerbations associated with activation of the immune system. *Neurology* 1987; 37 (7): 1097-102.
- 37 Deiß A, Brecht I, Haarmann A, Buttmann M. Treating multiple sclerosis with monoclonal antibodies: a 2013 update. *Expert Rev Neurother* 2013; 13 (3): 313-35.
- 38 Fernández Ó, Arnal-García C, Arroyo-González R, Brieua L, Calles-Hernández MC, Casanova-Estruch B, et al. Review of the novelties presented at the 28th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS) (III). *Rev Neurol* 2013; 57 (7): 317-29.
- 39 Anikeeva N, Somersalo K, Sims TN, Thomas VK, Dustin ML, Sykulev Y. Distinct role of lymphocyte function-associated antigen-1 in mediating effective cytolytic activity by cytotoxic T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102 (18): 6437-42.
- 40 Miklossy J, Doudet DD, Schwab C, Yu S, McGeer EG, McGeer PL. Role of ICAM-1 in persisting inflammation in Parkinson disease and MPTP monkeys. *Exp Neurol* 2006; 197 (2): 275-83.
- 41 Siffrin V, Radbruch H, Glumm R, Niesner R, Paterka M, Herz J, et al. In vivo imaging of partially reversible th17 cell-induced neuronal dysfunction in the course of encephalomyelitis. *Immunity* 2010; 33 (3): 424-36.
- 42 Farez MF, Quintana FJ, Gandhi R, Izquierdo G, Lucas M, Weiner HL. Toll-like receptor 2 and poly(ADP-ribose) polymerase 1 promote central nervous system neuroinflammation in progressive EAE. *Nat Immunol* 2009; 10 (9): 958-64.
- 43 Kang Z, Altuntas CZ, Gulen MF, Liu C, Giltiay N, Qin H, et al. Astrocyte-restricted ablation of interleukin-17-induced Act1-mediated signaling ameliorates autoimmune encephalomyelitis. *Immunity* 2010; 32 (3): 414-25.
- 44 Mayo L, Quintana FJ, Weiner HL. The innate immune system in demyelinating disease. *Immunol Rev* 2012; 248 (1): 170-87.
- 45 Peters A, Pitcher LA, Sullivan JM, Mitsdoerffer M, Acton SE, Franz B, et al. Th17 cells induce ectopic lymphoid follicles in central nervous system tissue inflammation. *Immunity* 2011; 35 (6): 986-96.
- 46 Quintana FJ, Farez MF, Izquierdo G, Lucas M, Cohen IR, Weiner HL. Antigen microarrays identify CNS-produced autoantibodies in RRMS. *Neurology* 2012; 78 (8): 532-9.
- 47 Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, Hohlfeld R, et al. Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 2000; 192 (3): 393-404.
- 48 Booss J, Esiri MM, Tourtellotte WW, Mason DY. Immunohistological analysis of T lymphocyte subsets in the central nervous system in chronic progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1983; 62 (1-3): 219-32.
- 49 Hauser SL, Bhan AK, Gilles F, Kemp M, Kerr C, Weiner HL. Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1986; 19 (6): 578-87.
- 50 Melzer N, Meuth SG, Wiendl H. CD8+ T cells and neuronal damage: direct and collateral mechanisms of cytotoxicity and impaired electrical excitability. *FASEB J* 2009; 23 (11): 3659-73.
- 51 Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W. Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000; 123 (Pt. 6): 1174-83.

- 52 Kuhlmann T, Lingfeld G, Bitsch A, Schuchardt J, Brück W. Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain* 2002; 125 (Pt. 10): 2202-12.
- 53 Neumann H, Cavalié A, Jenne DE, Wekerle H. Induction of MHC class I genes in neurons. *Science* 1995; 269 (5223): 549-52.
- 54 Luessi F, Siffrin V, Zipp F. Neurodegeneration in multiple sclerosis: novel treatment strategies. *Expert Rev Neurother* 2012; 12 (9): 1061-77.
- 55 Medana IM, Gallimore A, Oxenius A, Martinic MM, Wekerle H, Neumann H. MHC class I-restricted killing of neurons by virus-specific CD8+ T lymphocytes is effected through the Fas/FasL, but not the perforin pathway. *Eur J Immunol* 2000; 30 (12): 3623-33.
- 56 Ford ML, Evavold BD. Specificity, magnitude, and kinetics of MOG-specific CD8+ T cell responses during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol* 2005; 35 (1): 76-85.
- 57 Sun D, Whitaker JN, Huang Z, Liu D, Coleclough C, Wekerle H, Raine CS. Myelin antigen-specific CD8+ T cells are encephalitogenic and produce severe disease in C57BL/6 mice. *J Immunol* 2001; 166 (12): 7579-87.
- 58 Sun D, Zhang Y, Wei B, Peiper SC, Shao H, Kaplan HJ. Encephalitogenic activity of truncated myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) peptides and their recognition by CD8+ MOG-specific T cells on oligomeric MHC class I molecules. *Int Immunol* 2003; 15 (2): 261-8.
- 59 Giuliani F, Goodyer CG, Antel JP, Yong VW. Vulnerability of human neurons to T cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol* 2003; 171 (1): 368-79.
- 60 Baldwin RL, Stolowitz ML, Hood L, Wisniewski BJ. Structural changes of tumor necrosis factor alpha associated with membrane insertion and channel formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93 (3): 1021-6.
- 61 Kagan BL, Baldwin RL, Munoz D, Wisniewski BJ. Formation of ion-permeable channels by tumor necrosis factor-alpha. *Science* 1992; 255 (5050): 1427-30.
- 62 Venters HD, Dantzer R, Kelley KW. Tumor necrosis factor-alpha induces neuronal death by silencing survival signals generated by the type I insulin-like growth factor receptor. *Ann NY Acad Sci* 2000; 917: 210-20.
- 63 Venters HD, Dantzer R, Kelley KW. A new concept in neurodegeneration: TNFalpha is a silencer of survival signals. *Trends Neurosci* 2000; 23 (4): 175-80.
- 64 Mizuno T, Zhang G, Takeuchi H, Kawanokuchi J, Wang J, Sonobe Y, et al. Interferon-gamma directly induces neurotoxicity through a neuron specific, calcium-permeable complex of IFN-gamma receptor and AMPA GluR1 receptor. *FASEB J* 2008; 22 (6): 1797-806.
- 65 Buzza MS, Bird PI. Extracellular granzymes: current perspectives. *Biol Chem* 2006; 387 (7): 827-37.
- 66 Purbhoo MA, Irvine DJ, Huppa JB, Davis MM. T cell killing does not require the formation of a stable mature immunological synapse. *Nat Immunol* 2004; 5 (5): 524-30.
- 67 Wiedemann A, Depoil D, Faroudi M, Valitutti S. Cytotoxic T lymphocytes kill multiple targets simultaneously via spatiotemporal uncoupling of lytic and stimulatory synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103 (29): 10985-90.
- 68 Takahashi K, Nakamura T, Adachi H, Yagita H, Okumura K. Antigen-independent T cell activation mediated by a very late activation antigen-like extracellular matrix receptor. *Eur J Immunol* 1991; 21 (6): 1559-62.
- 69 Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358 (7): 676-88.

- 70 Bar-Or A, Fawaz L, Fan B, Darlington PJ, Rieger A, Ghorayeb C, et al. Abnormal B-cell cytokine responses a trigger of T-cell-mediated disease in MS? *Ann Neurol* 2010; 67 (4): 452-61.
- 71 Piccio L, Naismith RT, Trinkaus K, Klein RS, Parks BJ, Lyons JA, Cross AH. Changes in B- and T-lymphocyte and chemokine levels with rituximab treatment in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2010; 67 (6): 707-14.
- 72 Aslam M, Kalluri SR, Cepok S, Kraus V, Buck D, Srivastava R, Hemmer B. The antibody response to oligodendrocyte specific protein in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2010; 221 (1-2): 81-6.
- 73 Chan A, Decard BF, Franke C, Grummel V, Zhou D, Schottstedt V, et al. Serum antibodies to conformational and linear epitopes of myelin oligodendrocyte glycoprotein are not elevated in the pre-clinical phase of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16 (10): 1189-92.
- 74 Srivastava R, Aslam M, Kalluri SR, Schirmer L, Buck D, Tackenberg B, et al. Potassium channel KIR4.1 as an immune target in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 367 (2): 115-23.
- 75 Ho PP, Kanter JL, Johnson AM, Srinagesh HK, Chang EJ, Purdy TM, et al. Identification of naturally occurring fatty acids of the myelin sheath that resolve neuroinflammation. *Sci Transl Med* 2012; 4 (137): 137ra73.
- 76 Quintana FJ, Yeste A, Weiner HL, Covacu R. Lipids and lipid-reactive antibodies as biomarkers for multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2012; 248 (1-2): 53-7.
- 77 Alvarez-Cermeno JC, Villar LM. Multiple sclerosis: oligoclonal bands, a useful tool to avoid MS misdiagnosis. *Nat Rev Neurol* 2013; 9 (6): 303-4.
- 78 Villar LM, Masjuan J, González-Porqué P, Plaza J, Sádaba MC, Roldán E, et al. Intrathecal IgM synthesis is a prognostic factor in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2003; 53 (2): 222-6.
- 79 Villar LM, Sádaba MC, Roldán E, Masjuan J, González-Porqué P, Villarrubia N, et al. Intrathecal synthesis of oligoclonal IgM against myelin lipids predicts an aggressive disease course in MS. *J Clin Invest* 2005; 115 (1): 187-94.
- 80 Yeste A, Quintana FJ. Antigen microarrays for the study of autoimmune diseases. *Clin Chem* 2013; 59 (7): 1036-44.
- 81 Ransohoff RM, Perry VH. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 119-45.
- 82 Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 2010; 330 (6005): 841-5.
- 83 Kierdorf K, Erny D, Goldmann T, Sander V, Schulz C, Perdiguero EG, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways. *Nat Neurosci* 2013; 16 (3): 273-80.
- 84 Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science* 2012; 336 (6077): 86-90.
- 85 Goldmann T, Prinz M. Role of microglia in CNS autoimmunity. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013 (9): 1-8.
- 86 Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol* 2013; 229 (2): 176-85.
- 87 Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, Alzabin S, Lockstone H, Sahgal N, et al. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nat Immunol* 2011; 12 (3): 231-8.
- 88 Peterson JW, Bö L, Mörk S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001; 50 (3): 389-400.
- 89 Singh S, Metz I, Amor S, van der Valk P, Stadelmann C, Brück W. Microglial nodules in early multiple sclerosis white matter are associated with degenerating axons. *Acta Neuropathol* 2013; 125 (4): 595-608.

- 90 Diestel A, Aktas O, Hackel D, Hake I, Meier S, Raine CS, et al. Activation of microglial poly(ADP-ribose)-polymerase-1 by cholesterol breakdown products during neuroinflammation: a link between demyelination and neuronal damage. *J Exp Med* 2003; 198 (11): 1729-40.
- 91 Hanisch UK. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 2002; 40 (2): 140-55.
- 92 Olson JK, Miller SD. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs. *J Immunol* 2004; 173 (6): 3916-24.
- 93 Takeuchi H, Jin S, Wang J, Zhang G, Kawanokuchi J, Kuno R, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces neurotoxicity via glutamate release from hemichannels of activated microglia in an autocrine manner. *J Biol Chem* 2006; 281 (30): 21362-8.
- 94 Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 2010; 119 (1): 7-35.
- 95 Anderson MA, Ao Y, Sofroniew MV. Heterogeneity of reactive astrocytes. *Neurosci Lett* 2014; 565C: 23-9.
- 96 Sofroniew MV. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci* 2009; 32 (12): 638-47.
- 97 Alvarez JI, Dodelet-Devillers A, Kebir H, Ifergan I, Fabre PJ, Terouz S, et al. The Hedgehog pathway promotes blood-brain barrier integrity and CNS immune quiescence. *Science* 2011; 334 (6063): 1727-31.
- 98 Alvarez JI, Katayama T, Prat A. Glial influence on the blood brain barrier. *Glia* 2013; 61 (12): 1939-58.
- 99 Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7 (1): 41-53.
- 100 Brosnan CF, Raine CS. The astrocyte in multiple sclerosis revisited. *Glia* 2013; 61 (4): 453-65.
- 101 Lundgaard I, Osório MJ, Kress BT, Sanggaard S, Nedergaard M. White matter astrocytes in health and disease. *Neuroscience* 2014; 276: 161-73.
- 102 Mascanfroni ID, Yeste A, Vieira SM, Burns EJ, Patel B, Sloma I, et al. IL-27 acts on DCs to suppress the T cell response and autoimmunity by inducing expression of the immunoregulatory molecule CD39. *Nat Immunol* 2013; 14 (10): 1054-63.
- 103 Monif M, Burnstock G, Williams DA. Microglia: proliferation and activation driven by the P2X7 receptor. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42 (11): 1753-6.
- 104 Matute C, Torre I, Pérez-Cerdá F, Pérez-Samartín A, Alberdi E, Etxebarria E, et al. P2X(7) receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in oligodendrocytes and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci* 2007; 27 (35): 9525-33.
- 105 Basso AS, Frenkel D, Quintana FJ, Costa-Pinto FA, Petrovic-Stojkovic S, Puckett L, et al. Reversal of axonal loss and disability in a mouse model of progressive multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2008; 118 (4): 1532-43.
- 106 Walczak A, Siger M, Ciach A, Szczepanik M, Selmaj K. Transdermal application of myelin peptides in multiple sclerosis treatment. *JAMA Neurol* 2013; 70 (9): 1105-9.
- 107 Wraith DC. Therapeutic peptide vaccines for treatment of autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2009; 122 (2): 134-6.
- 108 Bar-Or A, Vollmer T, Antel J, Arnold DL, Bodner CA, Campagnolo D, et al. Induction of antigen-specific tolerance in multiple sclerosis after immunization with DNA encoding myelin basic protein in a randomized, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Arch Neurol* 2007; 64 (10): 1407-15.
- 109 Garren H, Robinson WH, Krasulová E, Havrdová E, Nadj C, Selmaj K, et al. Phase 2 trial of a DNA vaccine encoding myelin basic protein for multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2008; 63 (5): 611-20.

- 110 Quintana FJ, Carmi P, Cohen IR. DNA vaccination with heat shock protein 60 inhibits cyclophosphamide-accelerated diabetes. *J Immunol* 2002; 169 (10): 6030-5.
- 111 Quintana FJ, Carmi P, Mor F, Cohen IR. Inhibition of adjuvant arthritis by a DNA vaccine encoding human heat shock protein 60. *J Immunol* 2002; 169 (6): 3422-8.
- 112 Quintana FJ, Carmi P, Mor F, Cohen IR. DNA fragments of the human 60-kDa heat shock protein (HSP60) vaccinate against adjuvant arthritis: identification of a regulatory HSP60 peptide. *J Immunol* 2003; 171 (7): 3533-41.
- 113 Quintana FJ, Carmi P, Mor F, Cohen IR. Inhibition of adjuvant-induced arthritis by DNA vaccination with the 70-kd or the 90-kd human heat-shock protein: immune cross-regulation with the 60-kd heat-shock protein. *Arthritis Rheum* 2004; 50 (11): 3712-20.
- 114 Quintana FJ, Cohen IR. DNA vaccines coding for heat-shock proteins (HSPs): tools for the activation of HSP-specific regulatory T cells. *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5 (4): 545-54.
- 115 Quintana FJ. Nanoparticles for the induction of antigen-specific Tregs. *Immunotherapy* 2013; 5 (5): 437-40.
- 116 Yeste A, Nadeau M, Burns EJ, Weiner HL, Quintana FJ. Nanoparticle-mediated codelivery of myelin antigen and a tolerogenic small molecule suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109 (28): 11270-5.

[Índice]

{ Marcadores de neurodegeneración }

Autor: Manuel Comabella López¹

Editores: J. Antonio García Merino², Alfredo Rodríguez-Antigüedad³

¹ Centre d'Esclerosi Múltiple de Catalunya, Cemcat. Unitat de Neuroimmunologia Clínica. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

² Unidad de Neuroinmunología. Servicio de Neurología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Majadahonda (Madrid)

³ Servicio de Neurología. Unidad de Esclerosis Múltiple. Hospital Universitario de Basurto. Bilbao

1/Introducción

2/Biomarcadores moleculares

3/Marcadores clínicos

4/Marcadores radiológicos

5/Tomografía de coherencia óptica

Bibliografía

Resumen

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica del sistema nervioso central (SNC) de probable etiología autoinmune. Desde un punto de vista histopatológico, en la EM se pueden diferenciar dos componentes, inflamatorio y neurodegenerativo, posiblemente presentes en todas las fases de la enfermedad, aunque con claro predominio del componente inflamatorio en las fases iniciales y del neurodegenerativo en las fases más avanzadas de EM. Los biomarcadores son características que se pueden medir de forma objetiva y proporcionan información sobre procesos tanto normales como patológicos. En este contexto, se han descrito en la enfermedad biomarcadores que reflejan con mayor o menor especificidad el proceso neurodegenerativo que está teniendo lugar en el SNC de los pacientes con EM. Aunque tradicionalmente el biomarcador se ha asociado a una molécula biológica de naturaleza proteica o de expresión génica cuyos niveles se cuantifican en fluidos corporales, el concepto de biomarcador también se extiende a variables de tipo radiológico y clínico.

En este capítulo se describirán los principales marcadores biológicos moleculares, como por ejemplo los neurofilamentos o la proteína fibrilar ácida de la glía; marcadores clínicos como la progresión de la discapacidad o el deterioro cognitivo; y radiológicos como la atrofia cerebral o las lesiones hipointensas en T1, relacionados de forma más o menos directa con el proceso de neurodegeneración en la EM. Finalmente, también se mencionará la tomografía de coherencia óptica como marcador de neurodegeneración. Es importante mencionar que, a pesar del número elevado de biomarcadores de neurodegeneración propuestos en la enfermedad, existe todavía en la actualidad una carencia de criterios de valoración indirectos o “marcadores sustitutos” sólidos en la EM. En este contexto, los esfuerzos se deberían concentrar en la identificación de criterios de valoración indirectos fiables en la enfermedad mediante la incorporación de los marcadores candidatos en ensayos clínicos que valoren, por ejemplo, la eficacia de tratamientos con potenciales efectos neuroprotectores.

1 / Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad compleja en la que factores genéticos y ambientales interaccionarán mediante mecanismos hasta hoy desconocidos para dar lugar al fenotipo de la enfermedad. Desde una perspectiva histopatológica, en la EM se diferencian dos componentes, inflamatorio y neurodegenerativo. Aunque ambos componentes posiblemente coexisten en mayor o menor grado a lo largo de la duración de la enfermedad, se podría concluir que el componente inflamatorio predominaría en las fases iniciales de la enfermedad, mientras que el componente neurodegenerativo sería más evidente en las fases más tardías de la EM.

Un biomarcador se podría definir como una característica que puede medirse de forma objetiva, y va a ser un indicador de procesos biológicos tanto normales como patológicos, o de la respuesta farmacológica a una intervención terapéutica. Además del concepto de biomarcador, es importante introducir otras dos definiciones. Un criterio de valoración clínico (*clinical endpoint*) corresponde a una variable o característica que refleja cómo se encuentra un paciente, su funcionamiento o su supervivencia. Es importante destacar que los criterios de valoración clínicos se emplean en los ensayos clínicos para reflejar el efecto de una intervención terapéutica. Finalmente, un criterio de valoración indirecto (*surrogate endpoint*), mal llamado también marcador surrogado, es un subtipo de biomarcador que sustituye a un criterio de valoración clínico. Es relevante subrayar que, aunque todos los criterios de valoración indirectos pueden considerarse biomarcadores, muy pocos biomarcadores van a alcanzar finalmente la condición de criterio de valoración indirecto.

En la EM, los biomarcadores pueden clasificarse de dos formas. La primera sería en función de aspectos clínicos, y la segunda, en función de aspectos patológicos. En el primer caso, los biomarcadores podrían agruparse en 4 subgrupos. Brevemente, los biomarcadores con capacidad predictiva permitirían identificar a los individuos con mayor riesgo de desarrollar EM. Los biomarcadores con valor diagnóstico permitirían identificar pacientes con EM y diferenciarlos de individuos con otras enfermedades neurológicas o autoinmunes, o de individuos sanos. Los biomarcadores de actividad de la enfermedad permitirían diferenciar entre diferentes formas clínicas, por ejemplo, formas de inicio con brotes de formas progresivas, y diferenciar también entre pacientes con cursos benignos y agresivos de la enfermedad. Finalmente, los biomarcadores de respuesta permitirán predecir cómo responderá un paciente frente a un tratamiento concreto, evitando de esta forma tratamientos ineficaces o tratamientos asociados a reacciones adversas.

Otra forma de clasificar los biomarcadores estaría más relacionada con los diferentes procesos fisiopatológicos descritos en la enfermedad: inflamación, desmielinización, estrés oxidativo, activación/disfunción de la glía, remielinización/repelación y daño neuroaxonal.

Volviendo al concepto introducido al comienzo de este capítulo, que considera la EM como una enfermedad con dos componentes bien definidos, inflamatorio y neurodegenerativo, será importante enfatizar que los biomarcadores, como indicadores objetivos

de un proceso patológico, van a poder reflejar con mayor o menor grado de especificidad la presencia de inflamación y/o neurodegeneración en un momento determinado de la enfermedad, así como la evolución a lo largo del tiempo de dichos componentes. En este capítulo se abordarán los principales biomarcadores moleculares, clínicos y radiológicos relacionados con el proceso de neurodegeneración. También se hará alusión a la tomografía de coherencia óptica como potencial biomarcador de neurodegeneración.

2 / Biomarcadores moleculares

Los biomarcadores van a poder determinarse en diferentes fluidos corporales, siendo los más habituales sangre periférica, líquido cefalorraquídeo (LCR) y orina. Aunque cada uno de ellos va a tener sus ventajas e inconvenientes, es obvio pensar que el LCR va a ser el fluido corporal más empleado para la determinación de biomarcadores asociados con el proceso de neurodegeneración. Por su proximidad al órgano diana, los biomarcadores cuantificados en LCR van a tener mayor sensibilidad y especificidad para detectar los cambios patológicos que tienen lugar en el sistema nervioso central (SNC) de los pacientes con EM. Sin embargo, la obtención de dichos biomarcadores necesita de un procedimiento invasivo, la punción lumbar, que limita el uso del LCR más allá de intenciones diagnósticas.

Los biomarcadores moleculares de neurodegeneración deberían proporcionar información sobre el desarrollo de discapacidad neurológica o atrofia cerebral en los pacientes con EM y podrían, por tanto, emplearse para determinar el pronóstico de la enfermedad, así como para evaluar o monitorizar la eficacia terapéutica de agentes con potencial acción neuroprotectora. Algunos de los principales biomarcadores de neurodegeneración se encuentran resumidos en la [Tabla 1](#).

Neurofilamentos

Los neurofilamentos son componentes del citoesqueleto neuronal formados por 3 cadenas que se diferencian en función de su tamaño molecular: cadena ligera (NF-L), cadena pesada (NF-H) y cadena intermedia (NF-M). Los neurofilamentos se encuentran fosforilados y el grado de fosforilación influirá en el diámetro axonal. Los procesos patológicos que cursen con daño axonal, como en el caso de la EM, resultarán en la liberación de neurofilamentos al LCR, donde los niveles de las diferentes cadenas se podrán determinar mediante diferentes técnicas. La mayoría de los estudios en EM han cuantificado los NF-L y NF-H en muestras de LCR, principalmente mediante la técnica ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*).

Los niveles de NF-L y NF-H se han encontrado aumentados en el LCR de pacientes con EM en comparación con controles neurológicos no inflamatorios y, dentro del grupo de EM, los pacientes con formas progresivas de EM suelen presentar niveles de neurofilamentos más elevados. Un estudio reciente mostró un aumento de NF-H y NF-L en

Tabla 1. Principales biomarcadores moleculares de neurodegeneración en la esclerosis múltiple (EM)

Biomarcador	Comentario
Neurofilamentos	<ul style="list-style-type: none"> • Los niveles de neurofilamentos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) están cogiendo cada vez más peso en la práctica clínica como criterios de valoración indirectos o marcadores surrogados de daño neuroaxonal en la EM • Requiere de una punción lumbar que puede limitar su uso más allá de intenciones diagnósticas
Proteína tau	<ul style="list-style-type: none"> • Progresión más rápida de la discapacidad neurológica en los pacientes con niveles elevados en el LCR • Los niveles de proteína parecen relacionarse con el grado de inflamación presente en el sistema nervioso central (SNC)
Proteína 14-3-3	<ul style="list-style-type: none"> • Se ha propuesto como marcador de daño axonal temprano con valor pronóstico, por ejemplo, en pacientes con síndromes clínicos aislados (CIS) • Su determinación está limitada por el porcentaje bajo de pacientes en los que se detecta la proteína en el LCR
N-acetil-aspartato	<ul style="list-style-type: none"> • La disminución del N-acetil-aspartato (NAA) se ha asociado con mayor discapacidad neurológica, menor volumen cerebral y mayor carga lesional de agujeros negros • El efecto del NAA como biomarcador de neurodegeneración parece ser bastante moderado
Proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP)	<ul style="list-style-type: none"> • Niveles basales en el LCR mostraron valor predictivo sobre la discapacidad neurológica evaluada tras 8-10 años de seguimiento • Los niveles no parecen modificarse por el fenómeno inflamatorio ni tampoco por los tratamientos
Proteína S100b	<ul style="list-style-type: none"> • Niveles aumentados en el LCR de pacientes con formas progresivas de la enfermedad • A diferencia de la GFAP, los niveles de la proteína S100b parecen modificarse por la inflamación

pacientes con EM secundariamente progresiva (EMSP) y EM primariamente progresiva (EMPP) respecto a controles no inflamatorios, sin observarse diferencias entre ambos grupos de pacientes con formas progresivas, hallazgo que podría indicar mecanismos de daño axonal similares en las formas clínicas de EMSP y EMPP⁽¹⁾. En algunos estudios, los niveles de NF-L y NF-H se relacionaron con medidas de discapacidad como el EDSS (escala expandida del estado de discapacidad), el índice de progresión y el MSSS (escala de severidad de EM)^(1,2).

Finalmente, los niveles de neurofilamentos en el LCR pueden modificarse por la acción de tratamientos empleados en los pacientes con EM. En este contexto, los niveles de NF-H y NF-L disminuyeron tras el tratamiento con natalizumab⁽³⁾ y los niveles de NF-L se redujeron por la acción del tratamiento con mitoxantrona y rituximab⁽⁴⁾.

A modo de resumen, se puede decir que los NF-L reflejan el daño axonal agudo mediado por mecanismos inflamatorios. La subunidad intermedia no se ha estudiado todavía. Los NF-H reflejarían el daño irreversible crónico y tienen valor pronóstico sobre la progresión de la discapacidad. Los niveles de neurofilamentos en el LCR están adquiriendo cada vez más fuerza como criterios de valoración indirectos del daño neuroaxonal en la EM. Sin embargo, el hecho de que su determinación se tenga que hacer en el LCR mediante una prueba invasiva, la punción lumbar, podría suponer un obstáculo a su uso como biomarcador de neurodegeneración en la práctica clínica. En este sentido, los niveles de neurofilamentos en sangre periférica son por lo general bajos o no se detectan. También se requiere una mayor optimización de las técnicas para determinar los niveles de neurofilamentos, principalmente los NF-H.

Anticuerpos contra neurofilamentos

Además de la detección de los neurofilamentos propiamente dichos, también se pueden detectar anticuerpos dirigidos contra neurofilamentos. En este contexto, se ha observado un aumento en la frecuencia de autoanticuerpos de tipo inmunoglobulina G (IgG) en el LCR contra NF-L en pacientes con EM en comparación con controles sanos y pacientes con otras enfermedades neurológicas. La producción intratecal de anticuerpos contra NF-L se encontró aumentada en pacientes con formas progresivas de EM (EMSP y EMPP) y dichas respuestas humorales mostraron asociación con medidas radiológicas de atrofia cerebral, sugiriendo una relación de los anticuerpos contra NF-L con la progresión de la enfermedad. Sin embargo, otros estudios han mostrado resultados negativos, proporcionando por tanto una evidencia débil de su uso como biomarcadores de neurodegeneración. Los títulos de anticuerpos contra NF-L también se han determinado en suero y parecen relacionarse bien con los títulos en LCR; sin embargo, su determinación no parece aportar un valor añadido significativo, ya que en sangre periférica no se observaron diferencias en las respuestas humorales entre formas clínicas.

Proteína tau

La proteína tau se encuentra en los axones neuronales, donde promueve el ensamblaje y la estabilización de los microtúbulos. En procesos patológicos como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la proteína tau se acumula en las neuronas. En estas condiciones patológicas, la proteína tau total o fosforilada se podrá detectar en el LCR y sus niveles reflejarán el grado de daño axonal.

En la EM, un estudio de seguimiento a 3 años mostró que los pacientes con EM recurrente-remitente (EMRR) y niveles basales más altos de tau en el LCR progresaron más rápido en su discapacidad neurológica, y los niveles se relacionaron con el aumento de la discapacidad al final del seguimiento⁽⁵⁾. En un estudio reciente, los autores concluyeron que la concentración de proteína tau total disminuía con el curso de la enfermedad, en función del hallazgo de niveles más bajos de proteína tau en el LCR de pacientes con formas de EMSP en comparación con formas de EMRR⁽⁶⁾. Sin

embargo, el hecho de que los niveles de proteína tau en el LCR parecen estar influidos por la actividad inflamatoria presente en el SNC y, por ejemplo, los niveles de proteína se han encontrado aumentados en pacientes con lesiones captantes de gadolinio⁽⁷⁾ indican que estos resultados tienen que interpretarse con cuidado. Además, la existencia de estudios discordantes en la literatura que no muestran diferencias en los niveles de tau entre pacientes con EM y controles neurológicos permiten concluir sobre una evidencia débil de la proteína tau en el LCR como biomarcador de neurodegeneración en la EM.

Proteína 14-3-3

La familia de proteínas 14-3-3 comprende varias proteínas de unión a fosfoserinas que se encuentran expresadas de forma abundante en neuronas y células gliales donde desarrollarían funciones en la transducción de señales intracelulares de neuronas. La detección de proteína 14-3-3 en el LCR se ha propuesto como marcador de daño axonal temprano con valor pronóstico y, en este contexto, los pacientes con síndromes clínicos aislados (CIS) en los que se detectó la proteína 14-3-3 mostraron tiempos de conversión más rápidos a EM clínicamente definida (EMCD) y menores tiempos en alcanzar EDSS, igual o superior a 2,0 respecto a los CIS en los que no se detectó la proteína⁽⁸⁾. En un estudio similar⁽⁹⁾, se observó que los pacientes con inmunorreactividad en el LCR para la proteína 14-3-3 mostraron mayor discapacidad neurológica respecto a los pacientes sin inmunorreactividad.

Es importante mencionar que los estudios de proteína 14-3-3 en la EM son bastante escasos, en algunos estudios se han observado resultados discrepantes y, además, su determinación tiene la limitación de que la proteína 14-3-3 se detecta en un porcentaje bajo de pacientes.

N-acetil-aspartato

El N-acetil-aspartato (NAA) es un aminoácido expresado de forma casi exclusiva en neuronas y procesos neuronales, aunque también en oligodendrocitos. Aunque el NAA generalmente se cuantifica por espectroscopia (véase el apartado de marcadores radiológicos), la concentración de NAA también se puede determinar mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas en muestras de LCR. Dada su especificidad neuronal, el NAA se ha utilizado como un marcador principalmente de daño axonal. La concentración de NAA en el LCR se ha encontrado disminuida en pacientes con formas progresivas de la enfermedad (EMSP) en comparación con las formas más inflamatorias de EMRR, sugiriendo que los niveles disminuyen en las fases más tardías y progresivas de la enfermedad. La disminución del NAA se ha asociado con una mayor discapacidad neurológica evaluada con el EDSS, menor volumen cerebral y mayor carga lesional de agujeros negros⁽¹⁰⁾. A pesar de las correspondencias con parámetros radiológicos y clínicos de progresión, el efecto global del NAA parece ser moderado.

Proteína fibrilar ácida de la glía

La proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP) constituye el principal componente estructural del filamento intermedio de los astrocitos. La GFAP es, por tanto, un marcador de astrogliosis, característica histopatológica prominente en la EM que, al igual que los neurofilamentos, puede liberarse al LCR como consecuencia del proceso patológico que tiene lugar en el SNC de los pacientes con EM. La GFAP se ha propuesto como biomarcador de progresión en función de las correspondencias observadas entre los niveles de GFAP en el LCR y la discapacidad neurológica evaluada mediante el EDSS y el MSSS⁽¹¹⁾. Además, los niveles basales de dicha proteína en el LCR mostraron valor predictivo sobre la discapacidad neurológica evaluada tras 8-10 años de seguimiento⁽¹¹⁾. Es interesante destacar que la liberación de GFAP no parece reflejar el fenómeno inflamatorio de la enfermedad y, por ejemplo, los niveles de GFAP en el LCR no se modificaron durante el brote. Los niveles de GFAP tampoco se modificaron tras el tratamiento de pacientes con fármacos como mitoxantrona, rituximab⁽⁴⁾ o natalizumab⁽¹²⁾. Finalmente, es importante mencionar que se han detectado niveles elevados de GFAP en pacientes con otras enfermedades neurológicas y, por tanto, son marcadores inespecíficos de lesión del SNC, a pesar de que los niveles se relacionaron con la discapacidad en la EM.

Proteína S100b

La proteína S100b es una proteína de unión al calcio ácida expresada en astrocitos y células de Schwann. Al igual que la GFAP, los niveles de proteína S100b en el LCR se encuentran aumentados en procesos que cursan con astrogliosis, como la EM. En algún estudio, los niveles de S100b se encontraron más elevados en pacientes con formas progresivas de la enfermedad (EMPP y EMSP) en comparación con las formas de EMRR. A diferencia de la GFAP, la proteína S100b refleja mejor el componente inflamatorio de la enfermedad y los niveles de proteína en el LCR se encuentran aumentados durante el brote y persisten además elevados durante varias semanas. Otros estudios no han mostrado diferencias entre pacientes con EM y controles neurológicos y, por tanto, su evidencia como biomarcador de neurodegeneración en la EM no parece tan robusta como la GFAP.

Proteína básica de la mielina y sus productos de degradación

La proteína básica de la mielina (MBP) y sus productos de degradación se han estudiado de forma sistemática en la EM. Durante el proceso de desmielinización aguda, la MBP y/o sus fragmentos se liberan en el LCR y los niveles se han encontrado particularmente elevados durante los brotes clínicos. Dicho aumento puede mantenerse durante un periodo de 5-6 semanas tras el brote y los niveles aumentados se han relacionado con la actividad radiológica (captación de contraste en la resonancia magnética –RM– cerebral). Aunque la MBP también se puede detectar en la orina, los niveles en este fluido

corporal experimentan importantes fluctuaciones y no parecen estar relacionados con la desmielinización aguda o con los niveles de MBP determinados en el LCR. Sin embargo, la MBP detectada en la orina se ha propuesto como predictor de la transición de la forma EMRR a la forma EMSP de la enfermedad. Es relevante mencionar que el aumento en los niveles de MBP detectados en el LCR no es específico de la EM y también se ha observado en otros procesos del SNC, como la patología isquémica o las enfermedades infecciosas.

En el LCR y la sangre periférica de pacientes con EM también se han investigado otras proteínas de la mielina. Algunos ejemplos se mencionan a continuación. La actividad de la CNPase (*2':3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase*) en suero y LCR fue similar entre pacientes con EM y controles. También, productos de degradación del colesterol tales como el 7-ketocolesterol se encontraron muy elevados en el LCR de pacientes con EM y, además, indujeron daño neuronal a través de la activación de una polimerasa expresada en microglía, PARP-1 –*poly(ADP-ribose)-polymerase*–. Sin embargo, se han observado discrepancias entre estudios, posiblemente debido al empleo de diferentes técnicas.

Nogo-A y anticuerpos contra Nogo-A

Nogo-A es un inhibidor del crecimiento de las neuritas con expresión elevada en oligodendrocitos maduros. Nogo-A se propuso como biomarcador específico de la EM en función de la detección de Nogo-A soluble en el LCR de pacientes con EM, pero no en controles con otras enfermedades inflamatorias y no inflamatorias. Sin embargo, la validez de estos hallazgos se ha discutido aludiendo principalmente a una falta de especificidad del anticuerpo empleado en la detección de la proteína mediante Western blot.

Los anticuerpos anti-Nogo-A también se han determinado en la EM y, en este contexto, las respuestas humorales del tipo IgM en suero se encontraron aumentadas de forma significativa en pacientes con EM y controles con otras enfermedades neurológicas inflamatorias y no inflamatorias en comparación con individuos sanos. También se ha encontrado una producción intratecal aumentada de anticuerpos contra Nogo-A de tipo IgG en pacientes con EMRR en comparación con pacientes con formas crónico-progresivas de la enfermedad y controles inflamatorios. Estos hallazgos son, por tanto, inespecíficos en cuanto a que los anticuerpos anti-Nogo-A se observan en pacientes con EM y controles. Es importante comentar que en otros estudios no se detectaron anticuerpos contra Nogo-A en suero de pacientes con EM o en controles.

Molécula de adhesión celular neural

La molécula de adhesión celular neural (NCAM) es una glicoproteína presente en la membrana plasmática de las células neuronales y gliales con funciones tanto en los procesos de mielinización y remielinización como en el crecimiento neuronal. Aunque los estudios son escasos, se ha observado que los niveles de NCAM en el LCR se encuentran disminuidos en pacientes con EM durante la fase de remisión y aumentan en las semanas siguientes a un brote, en paralelo con la mejoría clínica.

Factores neurotróficos

Los factores neurotróficos son proteínas con la capacidad de prevenir la muerte neuronal y favorecer los procesos de regeneración y remielinización neuronales. Se sabe que las células inmunes pueden liberar factores neurotróficos en las lesiones inflamatorias que pueden promover la remielinización.

El factor neurotrófico ciliar (CNTF) es un factor de crecimiento expresado en astrocitos con funciones en la supervivencia de oligodendrocitos. Los niveles de CNTF se han encontrado aumentados en el LCR durante los periodos de exacerbación clínica.

El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) se expresa principalmente en neuronas pero también en células inmunes y tiene funciones conocidas en la neurogénesis, neuroprotección y neuroregeneración. Los niveles de BDNF en sangre periférica y LCR se han encontrado disminuidos en pacientes con EM en comparación con controles, aunque otros estudios no encontraron diferencias entre ambos grupos. Cuando se estratificaron los pacientes por formas clínicas, los niveles de BDNF en el LCR se encontraron disminuidos en pacientes con EMSP en comparación con EMRR en remisión clínica y controles sanos, hallazgos que sugerirían que los niveles reducidos de BDNF contribuyen a la progresión y pérdida axonal que se observa en las formas progresivas de la enfermedad. Las comparaciones en los niveles de BDNF en pacientes con EM durante el brote y durante la fase de remisión evidencian niveles aumentados en el momento del brote. Es relevante destacar también que la secreción de BDNF por células inmunes activadas se relacionó con una mayor actividad inflamatoria evaluada mediante RM.

El factor de crecimiento nervioso (NGF) está implicado en la regulación del crecimiento y la diferenciación de neuronas. En algunos estudios los niveles en LCR y suero de NGF se encontraron aumentados en pacientes con EM en comparación con controles, aunque en otros estudios el NGF se detectó en una pequeña proporción de pacientes.

Finalmente, otros factores neurotróficos como las neurotrofinas 3 y 4 (NT-3, NT-4) y el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) se encontraron aumentados en pacientes con EM tras un brote y los niveles para estos factores se relacionaron con la capacidad de recuperación de los brotes, de forma que los pacientes con niveles más altos presentaron mejor recuperación.

Otros biomarcadores de neurodegeneración

- **Enolasa específica de neurona (NSE):** es una enzima expresada en neuronas maduras y en células de origen neuronal. Aunque la NSE se ha propuesto como biomarcador de daño axonal, varios estudios han encontrado niveles normales en el LCR de pacientes con EM, hallazgos que posiblemente excluyan su papel como biomarcador fiable de neurodegeneración en EM.
- **Bandas oligoclonales IgM.** La presencia de bandas oligoclonales de tipo IgM en el LCR constituye un biomarcador de mal pronóstico en pacientes con EM, y los pacientes en los que se detectan dichas bandas presentan una evolución más rápida a formas de EMSP y un tiempo menor en alcanzar un EDSS de 6,0. La presencia de bandas oligoclo-

nales de IgM lipidoespecíficas en el momento del CIS también se ha relacionado con la atrofia cerebral⁽¹³⁾. Estas asociaciones mencionadas posiblemente posicionen las bandas oligoclonales IgM como indicadores moleculares de neurodegeneración.

- **Quitinasa 3-like1 (CHI3L1)**: es un miembro de la familia de las quitinasas que se une a la quitina pero carece de actividad enzimática. En un estudio, los niveles elevados para dicha proteína en el LCR de pacientes con CIS tuvieron carácter pronóstico, en cuanto a que se asociaron con un tiempo de conversión a EM clínicamente definida más corto⁽¹⁴⁾. En este mismo estudio, la relación de los niveles de CHI3L1 con el grado de discapacidad evaluado mediante el EDSS y la evidencia en la literatura de un origen astrocitario de la proteína en el LCR sugieren un posible papel de la proteína como biomarcador de neurodegeneración.

3 / Marcadores clínicos

Progresión de la discapacidad

La progresión de la discapacidad neurológica puede evaluarse mediante diferentes escalas, siendo las más usadas el EDSS y el MSFC (escala funcional compuesta de EM).

EDSS

El EDSS ha sido la escala más empleada en ensayos clínicos para la valoración clínica de la discapacidad neurológica. Se trata de una escala ordinal diseñada para categorizar el grado de discapacidad debido a EM, puntuando de 0 (examen neurológico normal) a 10 (fallecimiento por EM), en función de la puntuación obtenida en un amplio rango de funciones neurológicas importantes en la enfermedad. El EDSS tiene la ventaja de que los neurólogos especialistas en EM están bastante familiarizados con la escala, es fácil de usar y está ampliamente aceptada como medida de discapacidad neurológica. Sin embargo, el EDSS también ha sido bastante criticado como escala: a) existe variabilidad intra- e interobservador principalmente en la parte baja de la escala, que es la más evaluada en los ensayos clínicos; b) la escala asigna gran peso a la capacidad de caminar (puntuaciones de 4,0 a 7,5), mientras que otras esferas como la cognitiva o la funcionalidad de las extremidades superiores apenas tienen impacto; y c) se trata de una escala no lineal, e incrementos en la parte baja de la escala, por ejemplo de 1,0 a 2,0, tienen implicaciones muy diferentes a incrementos en la parte alta de la escala, por ejemplo de 6,0 a 7,0. Con la finalidad de reducir la variabilidad en la puntuación de la escala, la progresión de la discapacidad se ha definido como un empeoramiento mantenido del EDSS, el cual requiere un cambio persistente del EDSS en visitas consecutivas, aunque el intervalo óptimo no se ha establecido. Tanto intervalos de 3 como de 6 meses aumentan la probabilidad de detectar un empeoramiento irreversible.

Considerando que el componente neurodegenerativo de la EM se asocia con daño neurológico permanente en los pacientes, éste último debería reflejarse en una escala que evalúe la progresión de la discapacidad neurológica como el EDSS. Tal y como se comentará en el apartado de los marcadores radiológicos de este capítulo, las medidas de atrofia cerebral se relacionan con la progresión de la discapacidad medida por el EDSS⁽¹⁵⁾. En un estudio reciente, la atrofia de sustancia gris de la médula espinal se asoció con la discapacidad neurológica evaluada mediante el EDSS, y los autores concluyeron que dicha variable tuvo un peso mayor en la discapacidad que incluso el de otras variables como la atrofia de sustancia blanca de la médula, o la atrofia de sustancia gris del cerebro⁽¹⁶⁾. Esta observación sería la esperada de una escala que evalúa principalmente la capacidad del paciente para andar, tal y como se ha mencionado anteriormente. En este contexto, es importante mencionar que la atrofia cerebral parece corresponder mejor con medidas de discapacidad neurológica que incorporan la evaluación de la esfera cognitiva, como el MSFC.

En esta misma sección, se debería también mencionar el MSSS, que supone una medida alternativa al EDSS, corrigiéndolo por la duración de la enfermedad mediante un método aritmético sencillo que compara cada EDSS de forma individual con la distribución del EDSS en pacientes con EM y duración de la enfermedad similares. Permite obtener el ritmo de progresión de la enfermedad, de tal forma que un valor de 5,0 indica un ritmo de progresión igual a la mediana, mientras que un valor de 9,0 indicaría una progresión más rápida que el 90% de los pacientes. Tal y como se ha mencionado anteriormente, algunos biomarcadores moleculares como los neurofilamentos han mostrado correspondencias con medidas de discapacidad que incluían el MSSS. Son necesarios más estudios para determinar realmente si el MSSS, comparado con el EDSS, aporta una mayor sensibilidad y especificidad para evaluar, por ejemplo, el efecto terapéutico de tratamientos en ensayos clínicos.

MSFC

El MSFC se desarrolló por la Sociedad Nacional Americana de EM con el objetivo de disponer de una escala alternativa para medir el deterioro neurológico en los pacientes con EM. Se trata de un índice estadístico generado a partir de los resultados de 3 subescalas: tiempo para caminar 7,6 metros (25 pies), prueba de los 9 palitos (9HPT) y la prueba de audición seriada en pasos de 3 segundos (PASAT-3). La prueba de los 7,6 metros evalúa la función de las extremidades inferiores. La prueba de los 9 palitos evaluaría la función de las extremidades superiores. Finalmente, el PASAT evaluaría las capacidades de atención, cálculo y velocidad de procesamiento. La puntuación para cada una de las tres pruebas se da en Z, que corresponde al número de desviaciones estándar que la puntuación se aleja de una media en población normal tomada como referencia. El MSFC representa la media de las 3 zetas.

El MSFC, al tratarse de una escala métrica, posiblemente sea más informativa que la escala ordinal del EDSS y, además, facilita el análisis estadístico de datos longitudinales. Es importante mencionar que el MSFC incorpora información sobre la función cognitiva, aspecto mínimamente evaluado en el EDSS. Estas parti-

cularidades, entre otras, posiblemente explican que las puntuaciones del MSFC se relacionen de forma moderada con marcadores radiológicos como la carga lesional en T1 y T2, la atrofia cerebral, la ratio de transferencia de magnetización y la difusividad media. En los estudios en los que se han medido ambas escalas, el MSFC ha mostrado una mayor correspondencia con las medidas radiológicas que el EDSS. Por ejemplo, las puntuaciones basales del MSFC resultaron ser mejores predictores del desarrollo futuro de atrofia cerebral que las puntuaciones basales del EDSS en pacientes con EMRR⁽¹⁷⁾. En otro estudio, también en pacientes con EMRR, la progresión de la discapacidad medida por el MSFC se relacionó con la atrofia cerebral global y con la atrofia de sustancia gris y de sustancia blanca; sin embargo, estos parámetros radiológicos de atrofia no mostraron asociación con la progresión de la discapacidad evaluada mediante el EDSS⁽¹⁸⁾. Estas observaciones indicarían que la progresión de la discapacidad definida mediante el MSFC está más estrechamente relacionada con el proceso de atrofia cerebral que la progresión de la discapacidad definida mediante el EDSS.

Deterioro cognitivo

El deterioro cognitivo, así como la progresión del mismo, también van a poder considerarse marcadores que indirectamente reflejarán el grado de neurodegeneración presente en el SNC del paciente con EM.

Se sabe que la función cognitiva está alterada en aproximadamente el 50% de los pacientes con EM, porcentaje que puede incrementar hasta el 70%, según los estudios, durante la evolución de la enfermedad si se emplean pruebas suficientemente sensibles. Cerca del 10% mostrará una demencia importante que afectará a múltiples esferas cognitivas, mientras que otros pacientes únicamente presentarán déficits aislados en algunas áreas cognitivas. Las funciones cognitivas más afectadas son la memoria (observada hasta en el 40-65% de los pacientes), las funciones ejecutivas, la atención y la velocidad de procesamiento de la información. Algunos estudios indican una mayor frecuencia de alteración cognitiva en los pacientes con formas progresivas de la enfermedad en comparación con las formas de EMRR, aunque es importante destacar que el déficit cognitivo puede estar presente en las fases iniciales de la enfermedad. También se ha sugerido la presencia de perfiles cognitivos diferentes según la forma clínica de EM.

En estudios transversales, el estado cognitivo del paciente con EM habitualmente se relaciona con variables radiológicas, siendo las más sensibles las medidas de atrofia cerebral. En estudios longitudinales, los cambios en el grado de atrofia cerebral global observados durante un año en las fases iniciales de la enfermedad fueron un buen predictor del deterioro cognitivo tras 5 años de seguimiento⁽¹⁹⁾. En estudios de atrofia cerebral regional se ha observado que la atrofia de sustancia gris cerebral está más relacionada con el deterioro cognitivo que la atrofia cerebral global. En este contexto, es relevante destacar que la aplicación de secuencias de doble inversión-recuperación ha evidenciado que las lesiones corticales son un hallazgo frecuente en los pacientes con EM, incluso en las fases iniciales de la enfermedad.

4 / Marcadores radiológicos

Aunque el concepto de biomarcador se relaciona tradicionalmente con la medición de moléculas en los diferentes fluidos corporales, principalmente sangre y LCR, es importante destacar que las medidas de neuroimagen también se consideran biomarcadores. De hecho, numerosos estudios avalan el uso de la RM como criterio de valoración indirecto o “sustituto” en la EM⁽²⁰⁾.

Las secuencias ponderadas en T2 y T1 con contraste han demostrado ser muy sensibles para detectar las lesiones focales asociadas con el componente inflamatorio de la EM, pero no son apropiadas en la detección y cuantificación del daño tisular irreversible asociado con el componente neurodegenerativo de la enfermedad. Para la evaluación de dicho componente neurodegenerativo se necesitarán otras técnicas de RM como las que se describen a continuación.

Medidas de atrofia cerebral

Entre las técnicas de RM que se han empleado para cuantificar el componente neurodegenerativo de la enfermedad, la volumetría cerebral como marcador de atrofia es una de las más robustas para su empleo en estudios clínicos y el interés en ella se ha acrecentado en los últimos años de forma paralela al desarrollo de nuevas terapias con posibles efectos neuroprotectores. En este contexto, las medidas de volumen cerebral se están empleando como marcadores secundarios de eficacia en ensayos clínicos de fármacos en los que se investiga su posible efecto protector sobre la progresión de atrofia cerebral.

El desarrollo de la atrofia cerebral es un aspecto pronóstico importante en la enfermedad, porque está relacionado no sólo con la discapacidad neurológica permanente, sino también con el deterioro cognitivo y con la fatiga, hallazgos altamente frecuentes en la enfermedad. Las medidas volumétricas han demostrado ser, además, predictores fiables de la discapacidad que desarrollarán los pacientes con EM⁽²¹⁾.

La tasa anual de disminución del volumen cerebral oscila entre 0,5 y 1,3% en pacientes con EM, mientras que en adultos jóvenes de 18-50 años varía entre 0,1 y 0,3% al año, indicando que la pérdida de volumen cerebral ocurre de forma más rápida en pacientes con EM que en individuos sanos (Figura 1). Esta observación se entiende si consideramos que uno de los principales hallazgos histopatológicos en el SNC de pacientes con EM es el daño neuroaxonal, el cual constituye el principal sustrato patológico implicado en el desarrollo de atrofia cerebral.

Diversos estudios han demostrado que las medidas de atrofia se corresponden mejor con la discapacidad física y el deterioro cognitivo que las medidas obtenidas a partir de las secuencias T2. De esta forma, el grado de progresión de la atrofia cerebral que presenta el paciente a corto plazo (1-2 años) es un buen predictor del grado de discapacidad que presentará el paciente a medio plazo (8-10 años)⁽¹⁵⁾.

Dentro de este apartado, es importante resaltar que los diferentes tratamientos empleados en la EM han originado resultados controvertidos en relación con su efecto sobre

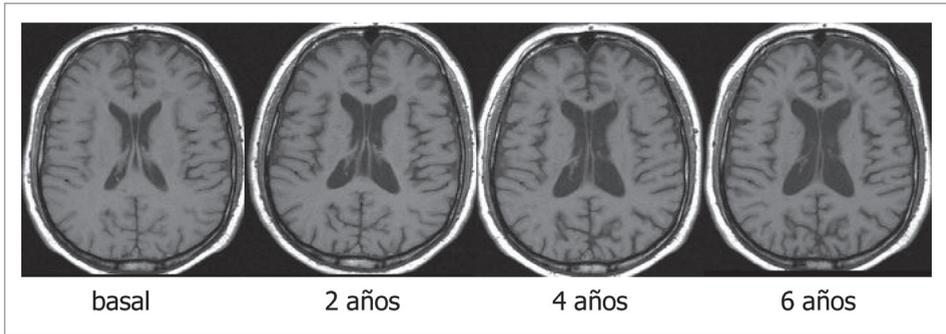


Figura 1. Secuencias ponderadas en T1 que muestran la progresión en el grado de atrofia cerebral durante un periodo de 6 años en un paciente con esclerosis múltiple remitente-recurrente.

la disminución de la atrofia cerebral. En este contexto, algunos tratamientos muestran un efecto sólo a partir del segundo año de iniciarse, mientras que se evidencia una aceleración en la disminución del volumen cerebral en los primeros meses de tratamiento en comparación con un grupo control de pacientes que no reciben tratamiento. Este fenómeno se conoce con el nombre de pseudoatrofia cerebral y se produciría por el efecto antiinflamatorio de los tratamientos, que disminuye la concentración de agua en el tejido cerebral y reduce el volumen cerebral, dando lugar de esta forma a una falsa aceleración del grado de atrofia. Dicho efecto se ha observado, por ejemplo, con el natalizumab tras un año de tratamiento en aquellos pacientes con lesiones captantes de gadolinio al inicio, mientras que tales diferencias no se evidenciaron a partir del segundo año de tratamiento⁽²²⁾. En este mismo estudio se observó que el efecto de pseudoatrofia inducido por el natalizumab afectó de manera selectiva la sustancia blanca pero no la sustancia gris⁽²²⁾. Un efecto similar se ha observado también en pacientes tratados con dosis elevadas de corticoides por vía intravenosa.

Para cuantificar la atrofia cerebral se realiza la medición del volumen cerebral a partir de imágenes ponderadas en T1 de RM obtenidas sin contraste. Los métodos empleados dependerán de la naturaleza del estudio. Los estudios que analizan imágenes de RM obtenidas a partir de un solo punto en el tiempo, como los estudios transversales, emplearán métodos de segmentación de tejidos globales de todo el parénquima encefálico (como por ejemplo el BPF –*brain parenchymal fraction*–) o regionales, es decir, medidas volumétricas selectivas de sustancia blanca o sustancia gris (como por ejemplo SIENAX –*structural image evaluation using normalization of atrophy cross-sectional*–). Los estudios en los que se analizan imágenes de RM generadas a partir de varios puntos temporales, como es el caso de los estudios longitudinales, emplearán por lo general técnicas de coregistro, que permiten evaluar los cambios temporales entre dos tiempos (por ejemplo, SIENA –*structural image evaluation using normalization of atrophy*–).

Si se analizan las ventajas e inconvenientes de las diferentes técnicas mencionadas anteriormente, es importante destacar que las técnicas de segmentación no van a ser adecuadas en estudios longitudinales, ya que están influidas por la calidad y la técnica utilizadas para la obtención de las imágenes obtenidas en T1 y van a proporcionar, por

tanto, resultados heterogéneos. Por otra parte, las técnicas de correjistro no están diseñadas para analizar cambios volumétricos regionales. Sin embargo, dichas técnicas son sensibles a los cambios temporales y se consideran más robustas y menos influidas por la calidad de las imágenes ponderadas en T1 que las técnicas de segmentación. Las técnicas de correjistro van a ser por tanto las recomendadas para analizar cambios longitudinales en el grado de atrofia cerebral global. Dichas técnicas permitirán la cuantificación del porcentaje anualizado de cambios en el volumen cerebral (PBVC –percentage of brain volume change–) (Figura 2).

Es relevante mencionar que técnicas como el BPF y SIENA se emplean en ensayos clínicos de fase III como medidas secundarias para analizar el efecto beneficioso de fármacos potencialmente neuroprotectores.

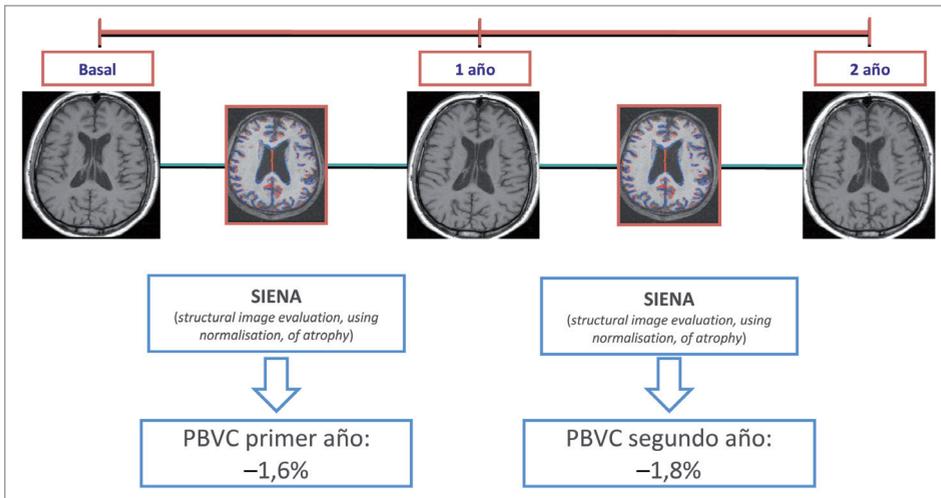


Figura 2. Ejemplo de cálculo del porcentaje de cambio de volumen cerebral global (PBVC) con el programa SIENA, a partir de secuencias ponderadas en T1.

Lesiones hipointensas en T1 (agujeros negros o *black holes*)

En los últimos años se han introducido marcadores que son sensibles al daño tisular irreversible y que, por tanto, evalúan el componente neurodegenerativo de la EM. Aproximadamente entre el 20 y el 30% de las lesiones en T2 aparecen hipointensas en secuencias ponderadas en T1. En estudios longitudinales, algunos de estos *black holes* son reversibles, apareciendo durante la fase de inflamación aguda con captación de contraste pero resolviendo posteriormente en meses. Esta evolución refleja la presencia de edema y desmielinización inicialmente con resolución posterior del edema y presencia de remielinización. Otras lesiones, sin embargo, no muestran este comportamiento y persisten en el tiempo (Figura 3). De esta forma, se estima que entre el 30 y el 40% de las lesiones activas evolucionarán a *black holes* permanentes durante un periodo de

6-12 meses. Su importancia deriva del hecho de que dichas lesiones se asocian con una mayor pérdida axonal en comparación con las lesiones en T2, que son isointensas en secuencias ponderadas en T1. Las correspondencias patológicas-radiológicas de los *black holes* permanentes demuestran que estas lesiones corresponden a áreas de daño tisular importante e irreversible⁽²³⁾.

En la práctica clínica, resulta útil monitorizar las lesiones activas que evolucionan a *black holes* permanentes, variable que se puede usar como marcador de eficacia de fármacos empleados en la EM sobre el componente neurodegenerativo de la enfermedad. De esta forma, algunos ensayos clínicos han evaluado la proporción de lesiones activas que evolucionan a *black holes* permanentes y han mostrado reducciones significativas para el acetato de glatirámico, el natalizumab y el laquinimod.

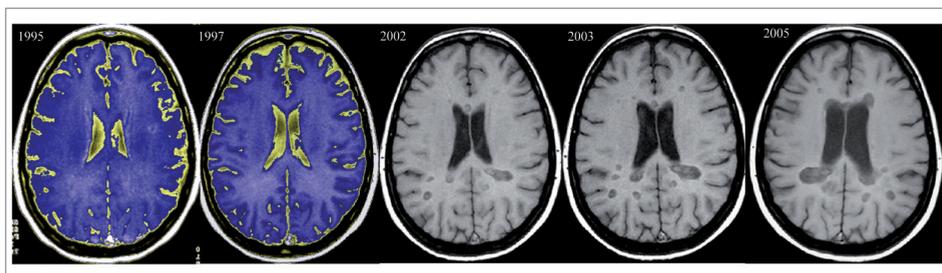


Figura 3. Estudio seriado a 10 años de resonancia magnética con imágenes ponderadas en T1 en un paciente diagnosticado de EM. Se puede observar cómo las lesiones hipointensas en T1 aumentan de número y tamaño a medida que progresa la enfermedad. También se observa una progresión en el grado de atrofia cerebral, con el aumento del tamaño ventricular.

Imagen por tensor de difusión

La imagen por tensor de difusión (DTI) se basa en el movimiento de las moléculas de agua en un tejido determinado, cuya direccionalidad puede verse alterada en presencia de lesiones. De esta forma, el estudio de dicha direccionalidad proporcionará información sobre la integridad del tejido. Mediante la aplicación de la DTI se obtienen una serie de índices, como son la anisotropía fraccional y la difusividad radial. La anisotropía fraccional indica la direccionalidad de la difusión, la cual es elevada en determinadas vías como el cuerpo caloso, las vías piramidales y las radiaciones ópticas. La disminución de la anisotropía fraccional se considera un marcador potencial de integridad axonal. Por el contrario, la difusividad radial se considera más un marcador de integridad de la mielina. En un estudio reciente se observó que la afectación de los valores de difusión en regiones específicas de sustancia gris se asoció con un menor rendimiento en las tareas cognitivas⁽²⁴⁾. Los intentos de relacionar los índices de DTI con el EDSS han dado lugar a resultados discordantes, con estudios que mostraron relaciones significativas y otros con resultados negativos.

Espectroscopia

La espectroscopia es una técnica que permite determinar la concentración de varios metabolitos presentes en el tejido cerebral, de los cuales el NAA es uno de los metabolitos más monitorizados y, además, tal y como se mencionó anteriormente en el apartado de biomarcadores moleculares, es específico de las neuronas. La disminución de NAA proporciona evidencia de disfunción o pérdida axonal y se ha observado tanto en lesiones de EM como en sustancia blanca de apariencia normal (NAWM) (Figura 4). Los pacientes con formas de EMSP y EMPP presentan mayores disminuciones de NAA que los pacientes con formas de EMRR, y la reducción de NAA en NAWM del cerebro y el cerebelo ha mostrado estar relacionada con la discapacidad neurológica. En pacientes con EMRR en fases iniciales de la enfermedad también se ha observado una disminución de NAA en la sustancia gris cortical, hallazgo que sugiere la presencia de daño neuronal desde el inicio de la enfermedad.

Otros metabolitos monitorizados por espectroscopia son el mioinositol, que refleja el grado de astrogliosis, y el glutamato, que se asocia a neurotoxicidad. Un estudio reciente mostró que el cociente mioinositol y NAA tuvo poder predictivo sobre la evolución de la discapacidad neurológica y la atrofia cerebral durante los 4 años de seguimiento⁽²⁵⁾.

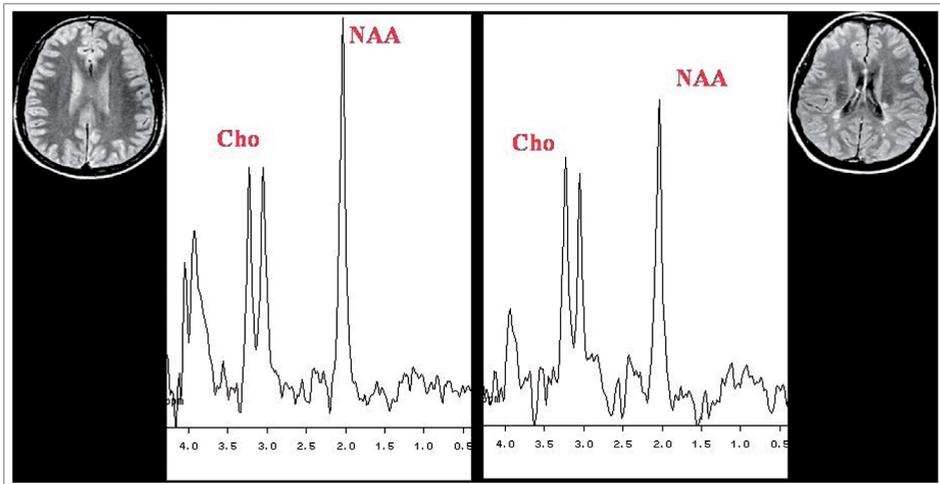


Figura 4. Espectroscopia obtenida en la sustancia blanca de apariencia normal de la región subcortical del lóbulo frontal izquierdo. La imagen de la izquierda corresponde a un individuo sano y la de la derecha a un paciente con esclerosis múltiple recurrente-remite (EMRR). Se puede observar una disminución en la altura del pico correspondiente al N-acetil-aspartato (NAA) en el paciente con EMRR en comparación con el control sano.

Transferencia de magnetización

Teniendo en cuenta que el concepto de neurodegeneración alude al mal funcionamiento o pérdida no sólo de neuronas propiamente dichas sino también de células de la glía, las

técnicas radiológicas que evalúen la desmielinización/remielinización pueden también considerarse como marcadores de neurodegeneración.

Dicha técnica permite obtener la ratio o el cociente de transferencia de magnetización (MTR), cuya reducción se asocia con el daño de la mielina. En las lesiones agudas y crónicas se observa una disminución de la MTR que posteriormente incrementa coincidiendo con la remielinización de la lesión. Es relevante destacar que en un estudio reciente se describió la optimización de la técnica para cuantificar cambios longitudinales de la MTR indicativos de los procesos de desmielinización y remielinización. Dicho abordaje se empleó para analizar los cambios del MTR en lesiones de pacientes con EM rápidamente progresiva antes y después del tratamiento con inmunoblación seguido de autotrasplante de células madre. Las lesiones de los pacientes que presentaron una mejoría clínica tras el tratamiento evaluada mediante el EDSS tuvieron una mayor (y significativa) recuperación del MTR, es decir, remielinizaban mejor que las lesiones de los pacientes que se mantuvieron clínicamente estables tras el tratamiento, que presentaron una recuperación más pobre del MTR y por tanto remielinizaban peor⁽²⁶⁾. En función de estos resultados, las variaciones en el MTR podrían incorporarse en los ensayos clínicos para evaluar el efecto del tratamiento sobre la remielinización.

5 / Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica no invasiva, precisa, cuantitativa, fácil de usar y reproducible, con altos índices de correspondencia intra- e inter-observador, que permite cuantificar el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL), el cual se mide de una forma cuantitativa alrededor de la cabeza del nervio óptico, y el volumen macular (VM), que se mide también de forma cuantitativa alrededor de la mácula. La OCT es una medida robusta de daño axonal en las vías visuales anteriores y su uso se ha propuesto como objetivo primario en ensayos clínicos en fase II que evalúan posibles efectos neuroprotectores de tratamientos.

Las medidas de OCT se relacionan con variables clínicas y radiológicas. En este sentido, se ha observado una asociación entre los diferentes parámetros de OCT y la discapacidad neurológica evaluada con el EDSS, de tal forma que mayores disminuciones en el grosor de la RNFL o el VM se relacionaron con mayores puntuaciones en el EDSS. Además, los pacientes con mayor pérdida axonal en la RNFL y el VM presentaron también una mayor pérdida de volumen cerebral⁽²⁷⁾. Estudios más recientes intentan vincular los parámetros de la OCT con la atrofia regional de la sustancia blanca y la sustancia gris. De esta forma, en un estudio reciente en pacientes con CIS y EMRR en fases iniciales se encontró una asociación entre las medidas de OCT y cambios volumétricos de la sustancia blanca pero no de la sustancia gris⁽²⁸⁾. También se han observado relaciones entre la atrofia de la corteza visual y el espesor de la RNFL en pacientes sin antecedentes previos de neuritis óptica, hallazgos que sugieren que la afectación de la vía visual posterior está asociada de forma específica con la atrofia retiniana, apoyando

de esta forma la degeneración neuronal transináptica como mecanismo de lesión axonal en pacientes con EM.

También se han investigado posibles relaciones entre las capas de la retina y los diferentes volúmenes cerebrales, y se ha observado que, en pacientes con EM, los volúmenes de las capas axonales y nucleares de la retina mostraron asociación con los volúmenes de sustancia gris cerebral, hallazgos que sugieren la presencia de diferentes sustratos patológicos⁽²⁹⁾.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Trentini A, Comabella M, Tintoré M, Koel-Simmellink MJ, Killestein J, Roos B, et al. N-Acetylaspartate and neurofilaments as biomarkers of axonal damage in patients with progressive forms of multiple sclerosis. *J Neurol* 2014; 261 (12): 2338-43.
- 2 Kuhle J, Plattner K, Bestwick JP, Lindberg RL, Ramagopalan SV, Norgren N, et al. A comparative study of CSF neurofilament light and heavy chain protein in MS. *Mult Scler* 2013; 19: 1597-603.
- 3 Kuhle J, Malmeström C, Axelsson M, Plattner K, Yaldizli O, Derfuss T, et al. Neurofilament light and heavy subunits compared as therapeutic biomarkers in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2013; 128: e33-36.
- 4 Axelsson M, Malmeström C, Gunnarsson M, Zetterberg H, Sundström P, Lycke J, Svenningsson A. Immunosuppressive therapy reduces axonal damage in progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2014; 20: 43-50.
- 5 Martínez-Yélamos A, Saiz A, Bas J, Hernandez JJ, Graus F, Arbizu T. Tau protein in cerebrospinal fluid: a possible marker of poor outcome in patients with early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2004; 363: 14-7.
- 6 Jaworski J, Psujek M, Janczarek M, Szczerbo-Trojanowska M, Bartosik-Psujek H. Total-tau in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis decreases in secondary progressive stage of disease and reflects degree of brain atrophy. *Ups J Med Sci* 2012; 117: 284-92.
- 7 Brettschneider J, Maier M, Arda S, Claus A, Süßmuth SD, Kassubek J, Tumani H. Tau protein level in cerebrospinal fluid is increased in patients with early multiple sclerosis. *Mult Scler* 2005; 11: 261-5.
- 8 Martínez-Yélamos A, Saiz A, Sánchez-Valle R, Casado V, Ramón JM, Graus F, Arbizu T. 14-3-3 protein in the CSF as prognostic marker in early multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 57: 722-4.
- 9 Satoh J, Yukitake M, Kurohara K, Takashima H, Kuroda Y. Detection of the 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid of Japanese multiple sclerosis patients presenting with severe myelitis. *J Neurol Sci* 2003; 212: 11-20.
- 10 Jasperse B, Jakobs C, Eikelenboom MJ, Dijkstra CD, Uitdehaag BM, Barkhof F, et al. N-acetylaspartic acid in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients determined by gas-chromatography-mass spectrometry. *J Neurol* 2007; 254: 631-7.
- 11 Axelsson M, Malmeström C, Nilsson S, Haghighi S, Rosengren L, Lycke J. Glial fibrillary acidic protein: a potential biomarker for progression in multiple sclerosis. *J Neurol* 2011; 258: 882-8.
- 12 Gunnarsson M, Malmeström C, Axelsson M, Sundström P, Dahle C, Vrethem M, et al. Axonal damage in relapsing multiple sclerosis is markedly reduced by natalizumab. *Ann Neurol* 2011; 69: 83-9.

- 13 Magraner MJ, Bosca I, Simó-Castelló M, García-Martí G, Alberich-Bayarri A, Coret F, et al. Brain atrophy and lesion load are related to CSF lipid-specific IgM oligoclonal bands in clinically isolated syndromes. *Neuroradiology* 2012; 54: 5-12.
- 14 Comabella M, Fernández M, Martín R, Rivera-Vallvé S, Borrás E, Chiva C, et al. Cerebrospinal fluid chitinase 3-like 1 levels are associated with conversion to multiple sclerosis. *Brain* 2010; 133 (Pt. 4): 1082-93.
- 15 Jacobsen C, Hagemeyer J, Myhr KM, Nyland H, Lode K, Bergsland N, et al. Brain atrophy and disability progression in multiple sclerosis patients: a 10-year follow-up study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014; 85: 1109-15.
- 16 Schlaeger R, Papinutto N, Panara V, Bevan C, Lobach IV, Bucci M, et al. Spinal cord gray matter atrophy correlates with multiple sclerosis disability. *Ann Neurol* 2014; 76: 568-80.
- 17 Rudick RA, Lee JC, Cutter GR, Miller DM, Bourdette D, Weinstock-Guttman B, et al. Disability progression in a clinical trial of relapsing-remitting multiple sclerosis: eight-year follow-up. *Arch Neurol* 2010; 67: 1329-35.
- 18 Rudick RA, Lee JC, Nakamura K, Fisher E. Gray matter atrophy correlates with MS disability progression measured with MSFC but not EDSS. *J Neurol Sci* 2009; 282 (1-2): 106-11.
- 19 Summers MM, Fisniku LK, Anderson VM, Miller DH, Cipelotti L, Ron M. Cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis can be predicted by imaging performed several years earlier. *Mult Scler* 2008; 14: 197-204.
- 20 Barkhof F, Filippi M. MRI: the perfect surrogate marker for multiple sclerosis? *Nat Rev Neurol* 2009; 5: 182-3.
- 21 Popescu V, Agosta F, Hulst HE, Sluimer IC, Knol DL, Sormani MP, et al.; MAGNIMS Study Group. Brain atrophy and lesion load predict long term disability in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84: 1082-91.
- 22 Vidal-Jordana A, Sastre-Garriga J, Pérez-Miralles F, Tur C, Tintoré M, Horga A, et al. Early brain pseudoatrophy while on natalizumab therapy is due to white matter volume changes. *Mult Scler* 2013; 19: 1175-81.
- 23 Van Walderveen MA, Kamphorst W, Scheltens P, van Waesberghe JH, Ravid R, Valk J, et al. Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 1998; 50: 1282-8.
- 24 Lufriu S, Martínez-Heras E, Fortea J, Blanco Y, Berenguer J, Gabilondo I, et al. Cognitive functions in multiple sclerosis: impact of gray matter integrity. *Mult Scler* 2014; 20: 424-32.
- 25 Lufriu S, Kornak J, Ratiney H, Oh J, Brenneman D, Cree BA, et al. Magnetic resonance spectroscopy markers of disease progression in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2014; 71: 840-7.
- 26 Brown RA, Narayanan S, Arnold DL. Segmentation of magnetization transfer ratio lesions for longitudinal analysis of demyelination and remyelination in multiple sclerosis. *Neuroimage* 2013; 66: 103-9.
- 27 Grazioli E, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B, Lincoff N, Baier M, Wong JR, et al. Retinal nerve fiber layer thickness is associated with brain MRI outcomes in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 268: 12-7.
- 28 Young KL, Brandt AU, Petzold A, Reitz LY, Lintze F, Paul F, et al. Loss of retinal nerve fibre layer axons indicates white but not grey matter damage in early multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2013; 20: 803-11.
- 29 Saidha S, Sotirchos ES, Oh J, Syc SB, Seigo MA, Shiee N, et al. Relationships between retinal axonal and neuronal measures and global central nervous system pathology in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2013; 70: 34-43.

[Índice]

{ Tratamiento de la neurodegeneración }

Autores: Miguel Ángel Hernández¹, Yesica Contreras¹,
Carlos Solé¹, Claudia Villar¹

Editores: Rafael Arroyo González², Óscar Fernández y Fernández³

¹ Unidad de Esclerosis Múltiple. Hospital Universitario Ntra. Sra. de Candelaria. Tenerife

² Servicio de Neurología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

³ Instituto de Neurociencias Clínicas. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

1/Introducción

2/Impacto sobre la neurodegeneración de las terapias modificadoras de la enfermedad aprobadas para la esclerosis múltiple

3/Nuevas terapias en desarrollo clínico para el tratamiento de la esclerosis múltiple y su impacto en la neurodegeneración

4/Tratamiento específico con efecto sobre la neurodegeneración en la esclerosis múltiple

5/Conclusiones

Bibliografía

Resumen

Los actuales tratamientos para la esclerosis múltiple (EM) han demostrado claramente su eficacia al disminuir tanto el número y la gravedad de los brotes clínicos como la actividad radiológica de la enfermedad. Estos efectos dependen en su mayor parte de la capacidad de los fármacos disponibles hoy en día para controlar el proceso inflamatorio dominante en las etapas iniciales de la EM. Junto a este proceso inflamatorio, sin embargo, subyace un fenómeno de índole degenerativa, en el que intervienen múltiples factores, que sería el principal responsable de la progresión sostenida de la discapacidad. El efecto de los fármacos modificadores de la enfermedad (FME) sobre la neurodegeneración y la pérdida definitiva de funciones resulta mucho menos claro y, en el mejor de los casos, su beneficio en este aspecto ha sido sólo parcial. Las consecuencias del tratamiento a largo plazo sobre la neurodegeneración apenas han comenzado a ser evaluadas en los últimos años, utilizando para ello medidas de valoración clínica a corto y medio plazo, cambios en la resonancia magnética (RM) craneal, determinación de ciertos biomarcadores en el suero y en el líquido cefalorraquídeo y, más recientemente, la tomografía de coherencia óptica

En este capítulo se revisan las evidencias disponibles a partir de los ensayos clínicos con respecto a los posibles efectos neuroprotectores de los fármacos inmunomoduladores actualmente aprobados para el tratamiento de la EM, así como de otros aún no autorizados por las distintas agencias reguladoras. Se recogen al mismo tiempo datos sobre sustancias no diseñadas inicialmente para tratar la EM.

Probablemente, a la hora de emprender acciones encaminadas a favorecer la neuroprotección debemos utilizar múltiples fármacos en estadios diferentes de la enfermedad.

1 / Introducción

En los pacientes afectados de esclerosis múltiple (EM) tiene lugar de forma precoz un proceso neurodegenerativo cuya característica principal sería la pérdida progresiva de axones y de neuronas, la cual se correlaciona de manera estrecha y positiva con el grado de discapacidad. Los mecanismos íntimos que subyacen a este proceso son múltiples y ya han sido comentados en otro apartado de esta monografía, así como los posibles marcadores. Dentro de ellos resulta especialmente relevante el daño directo infligido a las fibras nerviosas por el propio ambiente inflamatorio que tiene lugar durante los brotes agudos de la enfermedad. En este sentido, cuando las exacerbaciones clínicas son frecuentes y/o la actividad radiológica considerable, resulta imperativo controlar lo antes posible dicha inflamación, pues de ella deriva, en buena medida, no sólo la desmielinización sino también la muerte axonal, responsable final de la progresión de la discapacidad⁽¹⁾.

Diversos estudios demuestran que el daño axonal también puede ocurrir de manera temprana en la sustancia blanca de apariencia normal (SBAN)⁽²⁾, con apoptosis de oligodendrocitos y activación de la microglía en ausencia de infiltrados linfocitarios y de células fagocíticas de procedencia hemática. Estos hallazgos suponen un verdadero desafío al concepto clásico de que las lesiones iniciales en la EM se producen sólo como consecuencia de la activación del componente adaptativo del sistema inmunitario⁽³⁾, circunstancia especialmente cierta en el modelo de la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE). En la actualidad se acepta, sin embargo, que la mayor parte de este daño se produciría en el seno de las propias placas de desmielinización activa.

El número de axones seccionados en el interior de las lesiones agudas de la EM, estimado a partir de muestras tisulares procedentes de pacientes con una duración de la enfermedad muy variable, entre 2 semanas y 27 años, se cifró en torno a 11.000 por milímetro cúbico de tejido⁽⁴⁾. A pesar de la enorme pérdida de soporte neuronal que ello supone, la inmensa mayoría de los enfermos experimenta una notable recuperación funcional tras los brotes, lo cual se debe en buena medida a la existencia de una serie de mecanismos intrínsecos de compensación. La transición de la fase remitente-recurrente a la secundaria-progresiva tendría lugar hipotéticamente cuando el sistema nervioso central (SNC), exhausto, viese superada esta capacidad de compensación.

La existencia de una correlación positiva entre la actividad inflamatoria y el daño axonal avala la hipótesis de que, en cierto modo, la inflamación module la patología de los axones en las etapas iniciales de la EM⁽⁵⁾. Numerosos estudios sugieren que la pérdida axonal, seguida de astrogliosis, constituye el fenómeno principalmente implicado en el desarrollo de los déficits neurológicos irreversibles y de la discapacidad^(6,7), y se relacionarían con los marcadores de daño axonal^(8,9).

Las estrategias para el tratamiento de la neurodegeneración en la EM son bastante limitadas; no obstante, trataremos de abordarlas a lo largo de los tres siguientes apartados.

2 / Impacto sobre la neurodegeneración de las terapias modificadoras de la enfermedad aprobadas para la esclerosis múltiple

La mayoría de los fármacos disponibles para el tratamiento de la EM basan su acción en el control de la inflamación, si bien algunos de ellos pudieran ejercer de forma paralela ciertos efectos sobre el proceso neurodegenerativo.

El objetivo más importante del tratamiento de la neurodegeneración en la EM consiste en evitar la discapacidad a largo plazo. En este sentido, sin embargo, a la hora de evaluar la eficacia probable de las distintas moléculas surgen una serie de problemas de aparente difícil solución. En la mayor parte de los ensayos clínicos los objetivos se fijan en los primeros 2 o 3 años, periodos de tiempo relativamente cortos para valorar adecuadamente el potencial de estos fármacos para prevenir o enlentecer la progresión de la discapacidad. Además, las medidas de evaluación clínica y de resonancia magnética (RM), al menos las más convencionales, resultan poco sensibles a pequeños cambios en el proceso degenerativo y muchas veces no guardan demasiada relación entre sí.

Interferón

Esta molécula fue identificada por vez primera a partir de células infectadas por un virus, al observar que tales células tenían una especial resistencia al mismo, circunstancia debida a que sintetizaban una sustancia capaz de interferir en el proceso de replicación⁽¹⁰⁾. Su aplicación en la EM comenzó en los años 80, cuando Jacobs *et al.* comprobaron una mejoría clínica de sus pacientes al administrarles el fármaco por vía intratecal^(11,12).

En la actualidad, se dispone comercialmente de tres tipos de interferón (IFN): IFN β -1b (Betaferón[®]), IFN β -1a para administración subcutánea (s.c.) (Rebif[®], de 22 y de 44 μ g) y el β -1a para administración intramuscular (i.m.) (Avonex[®]). No está del todo claro el mecanismo de acción del IFN. En este sentido, se ha postulado una posible corrección del hipotético desequilibrio en la diferenciación de linfocitos Th-1 y Th-2⁽¹³⁾.

El IFN β -1b recombinante fue aprobado en 1993 por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento de la EM recurrente-remite (EMRR). En nuestro país sería autorizado con la misma indicación 2 años más tarde⁽¹⁴⁾. En 1998, se aprobaron 2 interferones β -1a para el tratamiento de la forma RR y en 1999 se aceptó la indicación de uso para las formas secundarias progresivas (EMSP) con recurrencias del IFN β -1b.

Los resultados de los diferentes estudios llevados a cabo con los distintos interferones en los pacientes con EM presentan en común las siguientes características:

1. Los tres tipos de IFN reducen aproximadamente un tercio el número de brotes en los individuos con EMRR.
2. La intensidad y duración de las recaídas en los pacientes tratados con IFN es menor que en los no tratados.
3. No existe evidencia definitiva acerca de la eficacia de los interferones en las formas de EMSP.

4. El grado de invalidez al inicio del tratamiento con IFN podría influir en la eficacia del mismo.

5. El tratamiento precoz de la EM con IFN retrasa la aparición de los brotes, pudiendo enlentecer la discapacidad de los pacientes a largo plazo.

En el estudio de Confavreux *et al.*⁽¹⁵⁾, se determina que el número de brotes no influye necesariamente en la progresión de la invalidez. Según estos autores, una vez alcanzada la puntuación de 4 en la escala expandida del estado de discapacidad (EDSS), se traspasaría un umbral a partir del cual el incremento de la discapacidad sería definitivo, sin que resultara influenciado por la presencia o ausencia de nuevas recaídas. Teniendo en cuenta estos hallazgos y el hecho de que la pérdida axonal en los pacientes con EM es irreversible, cualquier tratamiento administrado, incluidos los interferones, debería aplicarse lo antes posible con el fin de procurar evitar la aparición de dicha pérdida⁽¹⁶⁾. En este sentido, existen estudios que demuestran que el tratamiento temprano retrasa la evolución de la atrofia cerebral y la formación de agujeros negros, marcadores importantes de progresión de la enfermedad, íntimamente relacionados con el grado de discapacidad⁽¹⁷⁾.

Con respecto a los agujeros negros, diversos estudios han concluido que su número disminuye significativamente en los pacientes tratados con IFN β -1b en comparación con el de los tratados con placebo^(18,19). En el estudio BENEFIT a 5 años, el 90% de los pacientes no desarrolló nuevas lesiones en T1 hipointensas (agujeros negros permanentes) con el tratamiento a largo plazo con Betaferón^{®(20)}.

Se podría concluir que el IFN β retrasa el empeoramiento clínico que caracteriza a las últimas fases de la EM, lo cual vendría reflejado en las imágenes de RM por una disminución del número de agujeros negros y de la atrofia cerebral, especialmente en aquellos pacientes tratados de forma precoz

Copaxone

El acetato de glatirámico (AG, Copaxone[®]) es un copolímero sintético de aminoácidos análogo de la proteína básica de la mielina, cuyo mecanismo de acción se cree relacionado con la modulación de las vías inmunitarias implicadas en la patogénesis de la enfermedad⁽²¹⁾. El AG ha demostrado una reducción de la tasa de recaída media (> 2 años) y una disminución más lenta de la EDSS⁽²²⁾.

Los cambios de volumen cerebral en la RM constituyen una medida objetiva del grado de atrofia, reflejando por tanto de manera indirecta los aspectos neurodegenerativos de la EM. Existen varias revisiones que han evaluado el efecto del AG en la disminución del volumen cerebral. Sin embargo, la modesta magnitud de dicho efecto hace que sea difícil determinar su impacto real en la progresión de la enfermedad, siendo necesario para ello emprender estudios a más largo plazo⁽²³⁾.

El tratamiento con AG produce una disminución del número de lesiones hipointensas en T1, así como de la pérdida de parénquima encefálico. No obstante, los diferentes estudios sugieren que el efecto del AG en la prevención de la pérdida del tejido cerebral no resultaría evidente desde el principio, requiriendo por consiguiente de una prolongación de la exposición al mismo en el tiempo^(24,25).

Los fármacos modificadores de la enfermedad (FME) producen una disminución del número de lesiones en RM, así como de la progresión de la atrofia cortical en los pacientes con EM. La mayor rapidez de acción y los efectos más pronunciados se observan, con el IFN β -1b, cuando se los compara con el IFN β -1a o con el AG⁽²⁶⁾.

Se necesitan estudios de seguimiento amplios, con muestras más grandes y periodos más largos de observación, para evaluar el beneficio de estos fármacos en la prevención o ralentización de la neurodegeneración.

Mitoxantrona

La mitoxantrona es un derivado sintético de la antraciclina. Esta sustancia tiene una elevada actividad antitumoral, al tiempo que ejerce un amplio espectro de acciones sobre el sistema inmune: suprime la proliferación de células T, B y macrófagos, impide la presentación de antígenos y la producción de citocinas proinflamatorias, así como la degradación de la mielina por los propios macrófagos⁽²⁷⁾.

La utilidad de la mitoxantrona en la EM ha sido valorada en varios estudios, observándose un claro beneficio, tanto en las medidas de evaluación clínica como en las de RM. El más largo de todos estos estudios tuvo una duración total de 2 años⁽²⁸⁾. En uno de esos ensayos se incluyeron 51 pacientes diagnosticados de EM en forma de brotes, a los que se asignó tratamiento con mitoxantrona 8 mg/m² cada mes por vía intravenosa (i.v.) durante un año, o placebo. Se observó una diferencia significativa en el número de brotes durante los 2 años de seguimiento, así como una reducción en la progresión medida con la escala EDSS en el segundo año. También se detectó una tendencia a la disminución del número de lesiones nuevas en RM. En otro estudio, 42 pacientes con EM muy activa fueron asignados de forma aleatoria a recibir mitoxantrona (20 mg/mes i.v.) con metilprednisolona (1 g/mes i.v.), o únicamente metilprednisolona, durante 6 meses. La mitoxantrona combinada con metilprednisolona mejoró los parámetros clínicos (EDSS, número de brotes) y de RM⁽²⁹⁾. El fármaco también ha demostrado cierto beneficio en las formas progresivas, tanto en las secundarias progresivas como en las progresivas recurrentes. En un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, se comparó la eficacia de dos diferentes dosis de mitoxantrona, 12 y 5 mg/m², cada 3 meses durante 2 años en 194 pacientes (placebo = 65; mitoxantrona 5 mg/m² = 66; y mitoxantrona 12 mg/m² = 63). A los 2 años se demostró una reducción de la tasa anual de brotes (0,2 para el grupo tratado con 12 mg de mitoxantrona frente a 0,6 en el grupo placebo) y una lentificación de la progresión (EDSS de -0,23 en el grupo de 5 mg frente a +0,23 en el grupo placebo) significativos y corroborados por medidas de RM. No se observaron casos evidentes de insuficiencia cardíaca congestiva; sin embargo, la fracción de eyección del ventrículo izquierdo disminuyó un 10% en el 19% de los pacientes tratados con mitoxantrona frente a sólo un 13,8% en el grupo placebo⁽³⁰⁾. Los estudios de seguimiento a largo plazo han demostrado dicho perfil de seguridad y las limitaciones del mismo (estudio RENEW).

Los resultados positivos de estos ensayos llevaron a la autorización del fármaco por parte de la FDA para ser utilizado en la EMSP. En Europa se ha aprobado su uso para las formas de EMRR muy activas, así como para las de EMSP con brotes que muestren

mucha actividad clínica o radiológica y que, al mismo tiempo, no hayan respondido de forma satisfactoria al tratamiento inmunomodulador convencional. La dosis aprobada de tratamiento es de 12 mg/m² cada 3 meses, hasta el máximo acumulado de 140 mg/m².

Azatioprina

La azatioprina es un derivado de la mercaptopurina. El fármaco posee una serie de efectos inespecíficos gracias a su acción sobre los metabolitos de las purinas. Los efectos primarios estarían dirigidos contra las células que se dividen rápidamente, dando como resultado la inhibición de la inmunidad, tanto celular como humoral, lo cual se traduciría en una marcada disminución en el número de células CD4 y en las concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), así como en una menor actividad de las células NK y en un decremento notable en la producción de anticuerpos.

La mayoría de los ensayos clínicos realizados con esta sustancia han sido a corto plazo (3 años para el de mayor duración). El análisis de 7 de ellos (5 a doble ciego y 2 a ciego simple) demostró que la azatioprina disminuía el número de brotes, en especial después del primer año de tratamiento, y que la cuantía de dicha disminución era similar a la producida por los interferones. En algunos de estos estudios se objetivó una cierta tendencia a la estabilización, e incluso a la mejoría, en las puntuaciones en la escala EDSS⁽³¹⁾. El problema de los mismos es que son muy heterogéneos, no siempre doble ciego, de corta duración, con pocos pacientes, sin datos de RM y en la mayoría de las ocasiones no del todo comparables⁽³²⁾.

En un trabajo llevado a cabo por Massacesi *et al.* en el año 2008 se concluyó que la azatioprina era capaz de disminuir el número de lesiones nuevas en RM⁽³³⁾. No obstante, este estudio fue a corto plazo y se efectuó con un número reducido de pacientes. Hasta la fecha no disponemos de ninguna prueba fehaciente de que la azatioprina sea capaz de alterar el proceso neurodegenerativo de la EM.

Natalizumab

El natalizumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra la subunidad α_4 de la β_1 integrina leucocitaria, que actuaría impidiendo la interacción de dicha glicoproteína con la molécula receptora VCAM-1, expresada en la superficie de las células endoteliales vasculares, y, por tanto, el tráfico de leucocitos mononucleares hacia el interior del SNC⁽³⁴⁾. La eficacia del natalizumab en el control de la enfermedad resultó ampliamente demostrada en los estudios AFFIRM⁽³⁵⁾ y SENTINEL⁽³⁶⁾, ensayos clínicos con objetivos coincidentes y diseño prácticamente idéntico.

En el primero de ellos, llevado a cabo frente a placebo, el fármaco produjo una reducción en la tasa de brotes del 68% a lo largo del primer año, efecto que se mantuvo sin cambios significativos en los 12 meses posteriores. De la misma manera, el natalizumab disminuyó la probabilidad acumulada de progresión sostenida de la discapacidad durante al menos 12 semanas en un 42% después de 2 años.

Los efectos del tratamiento sobre las medidas de actividad en RM fueron aún más significativos, al observarse una disminución del número de lesiones nuevas o del agrandamiento de las previamente existentes, en las secuencias T2, del 83% en el grupo del natalizumab frente al grupo placebo, así como de un 92% en el de las que captaron gadolinio. La proporción de pacientes libres de captación tras 2 años de tratamiento fue significativamente superior en el brazo del natalizumab (97%) que en el del placebo (72%). Tomando en consideración la actividad radiológica y clínica de forma combinada, el porcentaje de pacientes libres de enfermedad fue 5 veces mayor en el grupo del natalizumab (37 vs. 7%)⁽³⁷⁾.

Los efectos positivos del natalizumab se manifiestan de manera muy temprana, dentro de los primeros 3 meses tras la administración de la primera dosis⁽³⁸⁾.

Gunnarsson *et al.*⁽³⁹⁾ encontraron que la administración de natalizumab redujo marcadamente el daño axonal en los pacientes con formas activas de EM (RR y SP con brotes), al disminuir las concentraciones de NFL en el líquido cefalorraquídeo (LCR) hasta cifras no significativamente distintas de las obtenidas en los individuos control. Dicha disminución se produjo tanto en el contexto de las recaídas como fuera de ellas, si bien no llegó a alcanzar el rango de la normalidad en el subgrupo de pacientes con EMSP. En cuanto a los niveles de proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP), sólo se hallaron incrementados con respecto a los controles precisamente en este último subconjunto de enfermos. Previamente, algunos trabajos habían venido a demostrar que la presencia de grandes cantidades de NFL en el LCR obtenido con fines diagnósticos en los pacientes con formas activas de EM se hallaba asociada a un peor pronóstico funcional a los 14 años⁽⁴⁰⁾. En este sentido, la monitorización de las concentraciones de esta proteína pudiera ser de gran interés a la hora de evaluar la respuesta a los FME, así como el proceso de daño axonal en curso. Los resultados de otros estudios sugieren la posibilidad de que el natalizumab pudiera ejercer ciertas acciones neuroprotectoras al disminuir las concentraciones plasmáticas de algunos indicadores de estrés oxidativo⁽⁴¹⁾.

Dentro de los marcadores radiológicos más prometedores a la hora de valorar el proceso neurodegenerativo en la EM y, por tanto, candidatos a ser utilizados en los ensayos clínicos en fase II para evaluar la eventual capacidad de neuroprotección de los FME, se encuentran el número de lesiones nuevas que evolucionan hacia hipointensidades permanentes en T1, o “agujeros negros”, así como las medidas de atrofia cerebral y las imágenes de transferencia de magnetización (MTI)⁽⁴²⁾. En este sentido, el natalizumab disminuyó de forma significativa el porcentaje de reducción de la fracción del parénquima cerebral (BFP) con respecto al placebo en el segundo año de tratamiento (0,24 vs. 0,43%; $p = 0,04$), así como el de imágenes captantes de contraste que evolucionaron hacia agujeros negros^(43,44), los cuales representan áreas de mayor daño tisular y pérdida axonal. Por otra parte, el natalizumab incrementó la velocidad de transferencia de magnetización (MTR) con respecto al IFN β -1a, en la SBAN de pacientes afectados de EMRR, lo cual es sugestivo de que el fármaco favorece la remielinización⁽⁴⁵⁾, si bien serían posibles otras explicaciones alternativas para este fenómeno.

Desde el punto de vista clínico se necesita disponer de estudios de seguimiento a largo plazo para determinar si el fármaco en etapas más precoces de la enfermedad es capaz de evitar la aparición de la fase secundaria progresiva. Entre las conclusiones del estudio STRATA, llevado a cabo sobre un total de 4.316 pacientes-año expuestos al natalizumab

durante un periodo de 6 años, merece la pena destacar que tales pacientes permanecieron con EDSS estables a lo largo de ese lapso de tiempo y que, además, aquellos que habían iniciado la terapia con mayor prontitud mostraban una menor tasa de brotes y puntuaciones inferiores en dicha escala⁽⁴⁶⁾.

Fingolimod

Esta molécula (FTY720), la primera de administración oral aprobada por la FDA y la European Medicines Agency (EMA) para la EM, actuaría mediante la modulación de los receptores de esfingosina 1 fosfato (S1P), impidiendo la salida de los linfocitos del interior de los órganos linfoides secundarios y, por tanto, su recirculación, evitando que pudieran ganar acceso al SNC.

La eficacia del fármaco en los pacientes con EMRR quedó patente en los resultados de los ensayos clínicos FREEDOMS⁽⁴⁷⁾ y TRANSFORM⁽⁴⁸⁾. Ambos estudios mostraron que el fingolimod, en dosis de 0,5 y 1,25 mg diarios, produjo una disminución significativa tanto en la tasa anualizada de brotes como en la actividad radiológica de la enfermedad, en comparación con el placebo y con el IFN β -1a i.m., respectivamente.

Un aspecto intrigante del beneficio obtenido por los pacientes con el uso de este fármaco fue la desaceleración observada en la pérdida de volumen cerebral que tuvo lugar de forma precoz, en ausencia de una fase inicial de “pseudoatrofia”, la cual no hubiera sido previsible tras la administración de un compuesto con importantes propiedades antiinflamatorias.

El hecho de que la molécula sea capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) y de unirse selectivamente a una serie de receptores en el SNC sugiere para la misma un mecanismo de acción dual, con posibles efectos neuroprotectores, al actuar directamente sobre las células neurales, donde tales receptores se expresan normalmente. El fingolimod ha demostrado una elevada eficacia, no sólo desde el punto de vista terapéutico, sino también profiláctico, en el modelo de la encefalitis alérgica experimental (EAE). Dicha eficacia depende en gran medida del antagonismo funcional ejercido por el fármaco sobre los receptores S1P1 localizados en los astrocitos, hasta cierto punto con independencia de sus propiedades antiinflamatorias. La eliminación selectiva de los receptores S1P1 de los astrocitos atenúa la gravedad de las manifestaciones clínicas y el daño histológico en ese mismo modelo⁽⁴⁹⁾.

En cultivos de astrocitos humanos se ha podido constatar que la adición de fingolimod-P al medio disminuye la producción de citocinas proinflamatorias por parte de esas células⁽⁵⁰⁾. Por otro lado, en una serie de experimentos llevados a cabo en astrocitos de rata, FTY720 estimuló la síntesis de factores de crecimiento con capacidad potencial para aumentar la supervivencia neuronal y favorecer la proliferación y diferenciación de los elementos celulares precursores de los oligodendrocitos⁽⁵¹⁾. Los efectos del fingolimod-P sobre los oligodendrocitos y sus precursores en cultivo son variables y dependen de muchos factores, entre los que se encuentran la dosis del fármaco, la duración de la exposición al mismo, el estadio madurativo de las células, etcétera⁽⁵²⁾. En cuanto a las acciones del fingolimod-P sobre las neuronas en cultivo, estudios recientes revelan que el fármaco ejerce un efecto protector contra la muerte neuronal causada por excitotoxicidad⁽⁵³⁾. En

un modelo murino de síndrome de Rett, el fingolimod incrementó la síntesis de factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el córtex, el hipocampo y el estriado, mejorando los síntomas de disfunción motora⁽⁵⁴⁾.

A la luz de todos estos resultados, parece claro que el fingolimod ejerce, al menos en los estudios *in vitro* y en los modelos experimentales de EM, una serie de efectos neuroprotectores mediados en parte por su interacción con los receptores de esfingosina 1 fosfato.

La mejor manera de evaluar la neuroprotección en los pacientes con EM es a través de la realización de pruebas de neuroimagen⁽⁵⁵⁾. En este sentido, el porcentaje de cambio en el volumen cerebral en un año correlaciona con la progresión de la discapacidad⁽⁵⁶⁾. En los ensayos clínicos TRANSFORM⁽⁴⁷⁾ y FREEDOMS⁽⁴⁸⁾ se demostró que el fingolimod disminuyó la pérdida de volumen cerebral con respecto al IFN β -1a en un 31% después del primer año de tratamiento y en un 35% en comparación con el placebo transcurridos los primeros 24 meses. Este efecto de reducción de la atrofia cerebral en el segundo año fue independiente de la carga lesional en T2, así como de la presencia de imágenes captantes de contraste y del grado de discapacidad⁽⁵⁷⁾, lo cual sugiere que no sería en principio atribuible a las propiedades antiinflamatorias del fármaco.

En un ensayo clínico para evaluar si el fingolimod es capaz de retrasar la progresión de la discapacidad en los pacientes con EM primaria progresiva (EMPP) ha resultado negativo.

3 / Nuevas terapias en desarrollo clínico para el tratamiento de la esclerosis múltiple y su impacto en la neurodegeneración

Teriflunomida

La teriflunomida es un inmunomodulador recientemente comercializado en nuestro país, con el nombre de Aubagio[®], como fármaco de primera línea en monoterapia para la EMRR. Es un metabolito activo de la leflunomida, utilizada en la artritis reumatoide, y actúa como inhibidor de la dihidroorotato deshidrogenasa, ejerciendo una actividad antiproliferativa.

Estudios en modelo animal han demostrado que la teriflunomida es capaz de modificar el curso de la encefalomiелitis experimental; en un trabajo se demostró la eficacia de la teriflunomida, usada tanto en modalidad profiláctica como al inicio de la enfermedad clínica y en fase de remisión. En dicho modelo animal se confirmó el efecto antiinflamatorio del fármaco, así como su capacidad para reducir la desmielinización y el daño axonal consiguientes cuando se administró de manera profiláctica o terapéutica, y también para producir mejoras funcionales medidas con técnicas electrofisiológicas⁽⁵⁸⁾.

En el ensayo clínico en fase III TEMSO, en el que se administró teriflunomida en dos dosis distintas en monoterapia a 1.088 pacientes con EMRR, se constató no sólo una reducción de la tasa de brotes y del volumen lesional total, sino también la existencia de datos favorables en cuanto a discapacidad: con la dosis de 14 mg al día se observó una reducción de un 29,8% de progresión confirmada de la discapacidad a los 3 meses; sin embargo, con la dosis de 7 mg al día sólo se vio una tendencia favorable, sin alcanzar

significación estadística. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo de atrofia entre el grupo con placebo y los dos grupos de teriflunomida⁽⁵⁹⁾.

En otro estudio, el TOWER⁽⁶⁰⁾, se obtuvo una reducción del 31,5% en el riesgo de progresión de la discapacidad sostenida a los 3 meses para la dosis alta, mientras que la dosis baja nuevamente no alcanzó la significación estadística. También se han comunicado los resultados de un ensayo clínico en fase III denominado TOPIC con pacientes con síndrome clínico aislado (SCA) en que se ha observado un retraso en la conversión a EM.

Dimetil-fumarato

El fumarato, dimetil-fumarato (DMF) o BG-12, cuyo nombre comercial es Tecfidera®, es otro de los fármacos orales que han sido recientemente aprobados para el tratamiento de la EMRR en monoterapia. Es un inmunomodulador que produce un efecto antiinflamatorio mediante un viraje hacia una respuesta Th2 y también se ha postulado una posible función neuroprotectora (inducción de moléculas detoxificadoras). Datos recientes indican un importante papel de las vías antioxidativas para la protección tisular en la EM progresiva, especialmente concerniente a un factor de transcripción llamado Nrf2⁽⁶²⁾. *In vitro*, el BG-12 estabiliza el Nrf2, potencia su actividad transcripcional y promueve la síntesis de proteínas detoxificadoras^(63,64).

Estudios de investigación con células corticales de embriones de rata mostraron que el DMF era capaz de proteger a esta población neuronal del estrés oxidativo, a través de la elevación del glutatión celular, además de reducir la producción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-17 e IFN- γ)⁽⁶⁵⁾. La toxicidad oxidativa del glutamato está mediada por el bloqueo de la importación de cistina, la depleción de glutatión secundaria y, finalmente, la muerte celular, mecanismo que es contrarrestado por el DMF. Asimismo, se observaron los mismos efectos neuroprotectores pero de instauración más lenta del metabolito activo (sal sódica del DMF, MMF)^(66,67).

El ensayo clínico en fase III DEFINE⁽⁶⁸⁾ incluyó a 1.237 pacientes con EMRR que recibieron dos dosis distintas de BG-12 o placebo, con resultados positivos en cuanto a reducción de tasa de brotes, número de lesiones captantes de gadolinio y número de lesiones nuevas, así como una reducción estadísticamente significativa en el riesgo de progresión confirmada de la discapacidad medida por la EDSS a los 2 años (el 38% de reducción en la dosis de 240 mg/12 h y el 34% en la dosis de 240 mg/8 h). Sin embargo, en el segundo estudio en fase III, el CONFIRM⁽⁶⁹⁾, sólo se pudieron corroborar los datos con respecto a la tasa de brotes, sin alcanzar significación estadística los datos obtenidos para la reducción de la progresión de la discapacidad. En este estudio hay que tener en cuenta que el brazo placebo tuvo un curso excepcionalmente benigno, esto es, no progresó, por lo que el estudio perdió la potencia estadística.

Laquinimod

Al laquinimod, análogo del linomide (roquinimex), fármaco oral en desarrollo para la EM, que de momento no se ha autorizado, se le han atribuido mecanismos tales como una mo-

dificación hacia Th2 del balance Th2/Th1, la inducción de TGF- β , la regulación a la baja del MHC-II, así como una reducción de las respuestas Th-17 en modelos animales⁽⁷⁰⁾. También al laquinimod se le atribuye la existencia de alteraciones en la maduración y el funcionamiento de las células dendríticas mediadas por la inhibición de las vías de NF κ B⁽⁷¹⁾.

Aunque ya se había obtenido experiencia con su predecesor, el linomide, se ha visto que el laquinimod también es capaz de modificar el curso de la encefalomiélitis autoinmune experimental⁽⁷²⁾. Además, algunos de los estudios en modelos animales indican mecanismos a través de los cuales el laquinimod sería capaz de ejercer un posible efecto neuroprotector, sugerido por los resultados clínicos en cuanto a la reducción de la pérdida de volumen cerebral; una de estas vías incluye también la inhibición de NF κ B⁽⁷³⁾.

El ensayo en fase III ALLEGRO⁽⁷⁴⁾, doble ciego aleatorizado, incluyó a 1.106 pacientes con EMRR que recibieron laquinimod (0,6 mg/día en una sola administración) o placebo durante 24 meses, con un objetivo primario de reducción de la tasa de brotes. Se observó una reducción significativa de la tasa de brotes frente a placebo del 23% y del 36%, con un 62,9% de los pacientes libre de brotes en el grupo del laquinimod y del 52,2% en el grupo con placebo. También se observó una reducción del 36% en el porcentaje de pacientes con progresión confirmada de la discapacidad a los 3 meses, y del 49% a los 6 meses. Asimismo, se constató una reducción estadísticamente significativa en el número acumulado de lesiones que se realzan con gadolinio a los 12 y 24 meses, el número de lesiones nuevas en T2 o lesiones que aumentan de tamaño, y reducción del 32,8% en la pérdida de volumen cerebral durante los 24 meses de estudio.

En el estudio en fase III BRAVO⁽⁷⁵⁾, también doble ciego aleatorizado, se incluyó a 1.331 pacientes con EMRR en un brazo de laquinimod (0,6 mg/día en una sola administración) controlado con placebo y un comparador activo (Avonex[®]), con un objetivo primario de reducción de la tasa de brotes anualizada; sin embargo, este objetivo primario no alcanzó la significación estadística. Los resultados para la progresión de la discapacidad confirmada a los 6 meses evidenciaron una reducción del 40,6% para laquinimod, y los resultados radiológicos indicaron una mayor reducción del desarrollo de atrofia que de los parámetros lesionales, por lo que se ha postulado un mayor efecto neuroprotector que antiinflamatorio de este fármaco.

Como los resultados para el objetivo primario fueron negativos, se inició un nuevo estudio en fase III denominado CONCERTO, en el que se comparan dos diferentes dosis de laquinimod (0,6 y 1,2 mg) frente a placebo en un grupo de aproximadamente 1.800 pacientes con EMRR. El objetivo primario de este estudio será el tiempo hasta la progresión confirmada de la discapacidad durante los 2 primeros años del estudio, y uno de los objetivos secundarios será el porcentaje de cambio en el volumen cerebral en los primeros 15 meses de estudio.

Alemtuzumab

El alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el antígeno CD52, el cual es una proteína localizada en la superficie de los linfocitos B y T y, en menor medida, en monocitos, eosinófilos, macrófagos y células NK⁽⁷⁶⁾. El fármaco produce una supresión intensa y prolongada de todas estas estirpes celulares, si bien respeta los

elementos precursores de las mismas. La velocidad de regeneración varía entre las diferentes células y, en el caso de los linfocitos T CD4, no se producirá de manera absoluta hasta pasados 5 años tras su administración⁽⁷⁷⁾.

La baja tasa de infecciones oportunistas en comparación con la intensa y duradera depleción causada por el alemtuzumab, junto con la aparición de fenómenos de autoinmunidad tras el tratamiento, inducen a pensar que el mecanismo de acción fundamental no es sólo la inmunosupresión secundaria, sino un fenómeno de tolerogénesis que ocurriría durante la reconstitución del sistema inmune, aunque también se ha invocado la relativa preservación de las células ubicadas en el interior de los ganglios linfáticos⁽⁷⁸⁾.

En el ensayo en fase II CAMSS223⁽⁷⁹⁾, sobre un total de 334 pacientes, con una puntuación en la escala EDSS inferior a 3 y una duración de la enfermedad menor de 3 años, se comparó la eficacia de dos dosis distintas de alemtuzumab (12 y 24 mg al día) administradas durante 5 días consecutivos i.v. el primer mes de tratamiento, seguidas de otras 3 infusiones en días sucesivos, en el mes 12 y 24, con la del IFN β -1a s.c. a dosis de 44 mg 3 veces en semana. La asignación a los diferentes brazos en el estudio siguió la proporción 1:1:1. El estudio fue interrumpido de forma prematura, por razones de seguridad, cuando la mayoría de los pacientes había recibido sólo 2 ciclos; únicamente el 25% del total fue sometido al tercer ciclo de tratamiento.

El grupo de enfermos que había sido expuesto al fármaco mostró una progresión mantenida de la discapacidad inferior en un 71% a la del grupo de pacientes tratados con Rebif44[®]; la tasa de brotes fue un 74% inferior en el grupo del alemtuzumab. Se observó una reducción del volumen cerebral (entre los meses 12 y 36 de estudio) del -0,2% en el grupo de pacientes que recibió Rebif44[®] y un incremento del +0,9% en el de los tratados con alemtuzumab, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Combinando los resultados radiológicos de los ensayos clínicos con los obtenidos en cuanto a la progresión de la discapacidad, es posible especular sobre un efecto neuroprotector e incluso neuroregenerador del alemtuzumab⁽⁸⁰⁾, aunque no podamos descartar que todo ello sea debido al potente efecto antiinflamatorio de este anticuerpo monoclonal.

En cuanto a la remisión de la enfermedad, un 72% de los pacientes en tratamiento con alemtuzumab no experimentó ni brotes ni progresión de la discapacidad en comparación con un 43% en el grupo de Rebif44[®], siendo esta diferencia estadísticamente significativa⁽⁸¹⁾. Los pacientes tratados con alemtuzumab experimentaron una mejoría de la discapacidad en los 5 años siguientes a la administración del fármaco.

El efecto neuroprotector asociado al alemtuzumab puede ser debido al incremento de la liberación de BDNF en el SNC y al factor neurotrópico ciliar⁽⁸⁰⁾.

El alemtuzumab ha sido aprobado por la EMA (septiembre de 2013) para las formas clínicas remitentes-recurrentes en pacientes con actividad clínica y de RM con tratamiento previo inefectivo de inmunomoduladores. En diciembre de 2013 fue desautorizado por la FDA y está en fase de revisión en la actualidad.

Daclizumab

Es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido específicamente contra la subunidad α (CD25) del receptor de alta afinidad para la interleucina 2 (IL2-R), no siendo capaz

de unirse a los de afinidad intermedia que, por tanto, no resultarán bloqueados por el fármaco.

La interleucina 2 es una citocina proinflamatoria fundamental en la expresión de los linfocitos T CD4+ autorreactivos. El exceso de IL-2 circulante provocado por su falta de utilización sería el responsable de la proliferación de las células reguladoras⁽⁸²⁾. Se ha relacionado la respuesta clínica al daclizumab con un aumento en la proliferación de las células reguladoras CD56, así como con el bloqueo de la activación de los linfocitos T⁽⁸³⁾.

Esta molécula se está probando en oncología con un uso completamente opuesto al propuesto para la EM, la estimulación de la autoinmunidad⁽⁸⁴⁾. En los ensayos clínicos realizados en EM, se han comunicado fenómenos de autoinmunidad relacionados con la disminución de un determinado subgrupo celular (CD4+CD25+FoxP3+)⁽⁸⁵⁾.

Bielekova *et al.*⁽⁸⁶⁾ publicaron en 2004 los resultados de un estudio en 10 pacientes con formas de EMRR y EMSP que no habían respondido al IFN- β . En estos pacientes se añadía de forma abierta daclizumab administrado de forma endovenosa en pauta quincenal para las primeras 3 dosis y, con posterioridad, de manera mensual hasta un total de 7; se obtuvo una reducción del 78% en el número de lesiones nuevas que se realizaban tras la administración del gadolinio.

El primer estudio multicéntrico, doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo se conoce con el nombre de CHOICE⁽⁸⁷⁾. En dicho estudio se reclutaron 230 pacientes, la mayor parte de los cuales (92%) habían sido diagnosticados de EMRR, presentando el resto una EMSP. Todos estos enfermos habían sido catalogados como no respondedores al IFN β , fármaco con el cual habían sido tratados durante los 6 meses inmediatamente anteriores a la aleatorización. El daclizumab o el placebo se administraron de forma s.c. siempre añadidos al IFN β que estuviera recibiendo el paciente en el momento de ser incluido en el estudio. En éste, se comparó la eficacia de dos distintas dosis de daclizumab (2 mg/kg cada 2 semanas y 1 mg/kg cada 4 semanas) frente a placebo durante un periodo de 24 semanas.

El 93% de la totalidad de los pacientes completó las primeras 24 semanas del estudio, siendo el objetivo primario del mismo favorable para el brazo de dosis alta, con una disminución, en comparación con el placebo, del 72% en el número de lesiones que se realizaban con gadolinio, aunque las medidas de volumen cerebral no mostraron cambios sustantivos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros clínicos (EDSS, MSFC) o brotes entre el placebo y ninguno de los dos brazos del daclizumab.

El ensayo SELECT (n = 600) utiliza 2 dosis (150 y 300 mg) de daclizumab en monoterapia con un diseño aleatorizado doble ciego controlado con placebo con una duración de 52 semanas. Se ha observado una reducción significativa en ambas dosis y un retraso de los datos de la progresión. El estudio DECIDE (n = 1.500) utiliza una sola dosis (150 mg) de daclizumab en monoterapia con administración s.c. mensual (DAC-HYP), con un diseño doble ciego con IFN β -1a con una duración de 96 a 144 semanas.

Rituximab, ocrelizumab y ofatumumab

El **rituximab** es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra el antígeno CD20, capaz de inducir la lisis de los linfocitos B en estadios intermedios de maduración⁽⁸⁸⁾. El

fármaco no provoca, sin embargo, la destrucción de los precursores de las células B ni de las células plasmáticas maduras, por carecer estos elementos de dicho antígeno, si bien sí puede producir disminuciones significativas en el número de éstas últimas, tanto en la sangre como en el LCR⁽⁸⁹⁾.

El desarrollo clínico de los anticuerpos monoclonales anti-CD20 en la EM se ha continuado con el ocrelizumab y el ofatumumab, anticuerpos humanizados que, por tanto, pueden ser mejor tolerados y desplegar un mejor perfil de efectos adversos.

En el estudio HERMES⁽⁹⁰⁾, ensayo clínico en fase II, aleatorizado, controlado frente a placebo, de 12 meses de duración, se investigó la eficacia de un único ciclo de 2.000 mg de rituximab administrado en 2 infusiones i.v. separadas entre sí 15 días. En el mismo se constató una reducción del 91% en el número de lesiones que se realizaron tras la administración de gadolinio durante las primeras 24 semanas del estudio; la proporción de pacientes con recaídas clínicas también favoreció al brazo de tratamiento con rituximab de manera estadísticamente significativa (14,5% en rituximab y 34,3% en placebo). En 439 pacientes con EMPP se llevó a cabo el estudio OLYMPUS⁽⁹¹⁾, que determinó la eficacia y la seguridad del rituximab en un ensayo de fase II/III aleatorizado doble ciego (proporción 2:1), controlado con placebo, de 24 meses de duración con la administración de 4 ciclos de 2.000 mg de rituximab administrados en 2 infusiones intravenosas de 1.000 mg separadas 15 días. Este ensayo fue negativo, al no demostrarse diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta la progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses. Se observaron diferencias estadísticamente significativas que favorecían al rituximab en parámetros tales como el incremento del volumen lesional en T2, pero no así en el grado de atrofia. Sin embargo, en pacientes menores de 51 años con lesiones captantes de gadolinio en la RM basal sí se obtuvieron resultados favorables al rituximab.

El **ocrelizumab** se ha estudiado en un ensayo clínico en fase II multicéntrico⁽⁹²⁾, aleatorizado, doble ciego, controlado frente a placebo, utilizando al mismo tiempo un comparador activo (IFN β -1a), que incluyó 218 pacientes con EMRR en proporción 1:1:1:1 (ocrelizumab 2.000 mg:ocrelizumab 600 mg:IFN β -1a:placebo). Existían diferentes esquemas de dosificación hasta completar 48 semanas de duración. Los resultados preliminares demostraron una reducción altamente significativa frente a placebo del número de lesiones que se realizaban con gadolinio tras 24 semanas (disminución del 96% para 2.000 mg y del 89% para 600 mg), siendo también muy significativos frente a placebo los resultados en lo que respecta a la tasa de brotes, en la que se han comunicado reducciones del 80% para la dosis de 600 mg y del 73% para la dosis de 2.000 mg. Los estudios de extensión hasta completar el primer año de tratamiento también han resultado positivos para los brazos del ocrelizumab, sin observarse, no obstante, un claro efecto dosis-respuesta.

Su desarrollo en el terreno de la EM continuará con otro ensayo clínico en fase III, en esta ocasión en pacientes con EMPP (ensayo ORATORIO). Este estudio tiene una duración mínima prevista de 120 semanas. También se está desarrollando otro ensayo clínico en fase III en pacientes con EMRR utilizando dosis de 400 y 600 mg con brazo de comparador activo (Rebif[®]) (estudio OPERA).

El **ofatumumab** es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 aprobado por la FDA en el año 2009 para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica refractaria a otras terapias. El fármaco se ha ensayado en un estudio de búsqueda de dosis en fase I/II⁽⁹³⁾ con un

diseño doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo en una pequeña muestra de 38 pacientes (12 en placebo y 26 distribuidos en 3 dosis diferentes de ofatumumab), con una duración de 6 meses y que ha conseguido demostrar una reducción estadísticamente significativa frente a placebo del 99% en el número acumulado de lesiones que se realzaban con gadolinio. Según la base de datos clinicaltrials.gov, actualmente está en marcha un estudio en fase II de hallazgo de dosis en comparación con placebo de un mínimo de 12 meses de duración.

Anticuerpos anti-LINGO-1

La molécula LINGO es una proteína de membrana, componente del complejo receptor Nogo-66 receptor/p75, que sólo se expresa en el tejido nervioso, fundamentalmente en las células precursoras de los oligodendrocitos, que fisiológicamente actuaría inhibiendo la diferenciación de las mismas hacia oligodendrocitos maduros y, por tanto, el proceso de remielinización. En la regulación de su síntesis interviene de forma decisiva el factor de crecimiento nervioso. Los anticuerpos anti-LINGO-1 han demostrado en estudios preclínicos un potencial efecto remielinizante y reparador de la mielina⁽⁹⁴⁾ al promover la diferenciación de los precursores oligodendrocitarios, acelerando la remielinización y la recuperación de los axones desmielinizados en los modelos animales de experimentación⁽⁹⁵⁾. A nivel experimental presenta un atractivo mecanismo de acción que podría tener utilidad clínica para el control tanto de la fase inflamatoria como de la neurodegenerativa⁽⁹⁶⁾.

Según la base de datos clinicaltrials.gov, actualmente se están desarrollando dos ensayos clínicos para valorar la seguridad y la eficacia de estos anticuerpos en los pacientes con neuritis óptica y EM en fases precoces.

4 / Tratamiento específico con efecto sobre la neurodegeneración en la esclerosis múltiple

Para demostrar el efecto de cualquier intervención terapéutica sobre la neurodegeneración se debe desarrollar un sistema eficiente de valoración y control de resultados.

El hecho de disponer de una serie de parámetros objetivos para evaluar la eficacia de los FME, tales como la reducción de la tasa anualizada de brotes en la valoración clínica o bien del número de lesiones nuevas y/o activas en las pruebas de neuroimagen, ha posibilitado la aprobación de los mismos por parte de las distintas agencias reguladoras para el tratamiento de las formas recurrentes remitentes de EM. Sin embargo, a la hora de cuantificar el proceso de la neurodegeneración, resulta mucho más difícil establecer patrones válidos de medida, que deberán ser también clínicos y radiológicos, en ausencia de otros biomarcadores más específicos en la práctica habitual. En este aspecto, resulta importante considerar el estadio evolutivo de la enfermedad, el análisis de diversos biomarcadores serológicos y licuorales, los hallazgos de la RM, la tomografía de coherencia

óptica (OCT), así como el mecanismo de acción del fármaco en cuestión, para poder fijar adecuadamente las medidas de un posible efecto terapéutico.

En los ensayos clínicos, para analizar el posible beneficio de cualquier intervención sobre el proceso neurodegenerativo, deberían reflejarse tras un periodo sustancial de tiempo que oscilaría entre 3 y 5 años. La atrofia cerebral constituye en la actualidad la única herramienta disponible para detectar una eventual modificación de dicho proceso. En este sentido, sin embargo, los cambios podrían ser mínimos y tener lugar de forma lenta, lo cual nos obligaría a disponer de un elevado número de enfermos para poder detectarlos adecuadamente. Una estrategia útil sería analizar sistemáticamente el patrón de captación de contraste ya que, por ejemplo, las captaciones en anillo podrían relacionarse con la producción de una mayor atrofia cerebral a corto plazo y predecir por tanto la futura discapacidad⁽⁹⁷⁾. Algunos estudios también han evaluado la tasa de conversión de las lesiones nuevas en agujeros negros permanentes y sugieren que esta podría ser una medida útil para predecir la neurodegeneración, pero el colapso tisular en estas zonas dificulta el uso de tal medida para confirmar la pérdida permanente de tejido⁽⁹⁸⁾. Estos mismos fenómenos han limitado el uso de la espectroscopía por RM, ya que los vóxel de tejido con N-acetil-aspartato (NAA) están rellenos de tejido normal, dando el resultado paradójico de aumentar el NAA en fases avanzadas. Otros estudios tratan de realizar medidas en el cerebro total del daño tisular global mediante la utilización de los histogramas TTRM, los cuales podrían resultar más sensibles frente a pequeños cambios estructurales secundarios a la pérdida axonal⁽⁹⁹⁾.

Que un fármaco se haya utilizado de forma segura para una condición patológica neurológica no necesariamente implica que también pueda usarse con las mismas garantías en la EM. En este sentido, la memantina, administrada de forma segura en la enfermedad de Alzheimer, puede provocar un efecto rebote y de esta manera empeorar la EAE y la EM⁽¹⁰⁰⁾. La inosina, un precursor del ácido úrico, no ha logrado demostrar ningún efecto neuroprotector en la EM a pesar de que se ha observado que el ácido úrico potencia la neuroprotección endógena en la EAE⁽¹⁰¹⁾.

Los fármacos que se están ensayando en la actualidad para el tratamiento de la neurodegeneración en la EM no son específicos para dicha entidad, presentando mecanismos de acción diferentes y actuando sobre dianas totalmente distintas. Entre éstos se encuentran algunos factores de crecimiento, como el BDNF, la vitamina E, los estrógenos, los inhibidores de la conversión del ácido araquidónico, la cetiricina, etc. Analizaremos a continuación los más significativos.

Factores de crecimiento

Eritropoyetina humana recombinante

La eritropoyetina (EPO) es una molécula que se ha utilizado para el tratamiento de la anemia. La EPO y su receptor, EPO-R, se hallan presentes tanto en el SNC como en el sistema nervioso periférico (SNP). Su posible efecto neuroprotector ha sido estudiado en modelos animales de isquemia, traumatismo craneoencefálico (TCE) y epilepsia⁽¹⁰²⁾. En animales con EAE tratados con EPO, ha podido observarse que la misma produce una reducción significativa en el daño axonal y en la cuantía de la desmielinización, al tiempo

que disminuye la producción de citosinas proinflamatorias, estabiliza la integridad de la BHE, incrementa los niveles de BDNF y estimula la oligodendrogénesis⁽¹⁰³⁾. Se ha realizado un ensayo clínico en pacientes con EMSP y EMPP, tras el cual se produjo cierta mejoría clínica y neurofisiológica de la discapacidad, sin cambios significativos en la RM⁽¹⁰⁴⁾.

Factor inhibidor de la leucemia

El factor inhibidor de la leucemia (LIF) puede desempeñar un papel crucial en la neuroprotección y en la regeneración del axón.

El LIF constituye un importante factor de supervivencia de las células madre y de los precursores neuronales. Sin embargo, deberíamos tener cierta precaución para su uso clínico porque, bajo ciertas circunstancias, funcionaría como fármaco proinflamatorio⁽¹⁰⁵⁾. Los ligandos del subtipo β del receptor de estrógenos podrían promover la remielinización y la protección axonal en la EAE y se están desarrollando, por esta razón, para el tratamiento de la EM⁽¹⁰⁶⁾.

Factor de crecimiento similar a la insulina humana recombinante 1 y proteína fijadora 3 del factor de crecimiento similar a la insulina

Estas proteínas recombinantes se están ensayando en la actualidad para el tratamiento de enfermedades tales como la distrofia miotónica. Estudios experimentales han demostrado que estos factores son importantes para el crecimiento y la migración de los oligodendrocitos, así como para la regeneración de los mismos. En este sentido, podrían ser de utilidad, bajo ciertas circunstancias, para el tratamiento de la EM⁽¹⁰⁷⁾.

Ligandos de neuroinmunofilinas

Las neuroinmunofilinas son un grupo de proteínas chaperonas, presentes tanto en el SNC como en el SNP, las cuales pudieran jugar cierto papel en la neuroprotección⁽¹⁰⁸⁾. Entre los ligandos de las neuroinmunofilinas se encuentran los inmunosupresores FK 506 (tacrolímús) y la ciclosporina A. Se ha demostrado que estos ligandos también tienen propiedades neuroprotectoras, previniendo la muerte neuronal en paradigmas de excitotoxicidad *in vitro* y en el modelo de ictus isquémico *in vivo*. Sin embargo, la ciclosporina A no ha conseguido proporcionar ningún beneficio clínicamente relevante en pacientes con EMSP. En relación con el FK506, se ha demostrado que, en dosis bajas, no inmunosupresoras, reduce el daño axonal en el modelo de la EAE⁽¹⁰⁹⁾.

Bloqueantes de los canales de sodio y calcio

Los bloqueantes de los canales de sodio, como la fenitoína, la lamotrigina y la flecainida, son capaces de disminuir la degeneración axonal y, de esta manera, mejorar la discapaci-

dad en los modelos de EAE⁽¹¹⁰⁾. Sin embargo, en un estudio en fase II llevado a cabo sobre pacientes con EMSP, la lamotrigina fracasó en su objetivo de demostrar cualquier beneficio, tanto clínico como radiológico, en estos enfermos⁽¹¹¹⁾. Un efecto potencialmente negativo de los bloqueantes de los canales de sodio consiste en que pueden causar una descompensación de los axones desmielinizados, ya que la redistribución de estos canales a lo largo de los mismos podría ser, al menos parcialmente, responsable de la remisión clínica. Se ha sugerido que un bloqueo más selectivo de los canales del subtipo Nav 1.6 podría obviar este inconveniente, ya que este subtipo de canal estaría más relacionado con el daño axonal, en contraposición al subtipo Nav 1.2, cuya expresión en los axones desmielinizados favorecería la conducción de los impulsos nerviosos. En la actualidad se está investigando el topiramato (un antiepiléptico con efecto de bloqueo parcial de los canales de sodio) asociado a IFN β -1a, para valorar su posible efecto neuroprotector⁽¹¹⁰⁾.

El bloqueo de los canales de calcio voltaje-dependiente es otra de las estrategias dirigidas a la neuroprotección, ya que permitiría elevar las concentraciones de calcio a nivel intracelular y, por tanto, la activación de diferentes proteasas. Un estudio en el modelo de la EAE demostró que el bepridil y la nitrendipina prevenían la pérdida axonal⁽¹¹²⁾.

Antagonistas del glutamato

En la EAE y en la EM las células de la microglía y los macrófagos del cerebro potencialmente pueden dañar los axones y los oligodendrocitos a través de la excitotoxicidad mediada por AMPA. Los antagonistas del AMPA disminuyen el daño axonal en el modelo de la EAE⁽¹¹³⁾.

El riluzol, un antagonista del glutamato aprobado por la FDA para el tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica, ha demostrado ser capaz de disminuir la severidad clínica en el modelo de la EAE inducida por la glicoproteína de la mielina oligodendrocítica, reduciendo la desmielinización y el daño axonal. Un ensayo clínico abierto con este fármaco en pacientes con EMPP reveló un discreto beneficio para los mismos al reducir la atrofia de la médula cervical, así como el número de lesiones hipointensas en T1, aunque no se produjeron modificaciones significativas en la atrofia cerebral⁽¹¹⁴⁾. Otros compuestos que actúan a través de este mismo mecanismo y tendrían, por tanto, un hipotético efecto neuroprotector son el talampanel y los antibióticos inhibidores de la betalactamasa⁽¹¹⁰⁾.

Cannabinoides

Los cannabinoides ejercen acciones antiglutaminérgicas y antiinflamatorias a través de la activación de los receptores CB1 y CB2, respectivamente. Estas sustancias también tienen propiedades antioxidantes, no mediadas aparentemente por la interacción con dichos receptores. La capacidad de los cannabinoides para dirigirse a múltiples dianas, localizadas en diferentes poblaciones neuronales, y de actuar al mismo tiempo sobre varias vías implicadas en el proceso de neurotoxicidad podría incrementar su potencial terapéutico en la EM⁽¹¹⁵⁾. En un estudio piloto se observó que la naltrexona en bajas dosis

era capaz de mejorar diversos parámetros de calidad de vida en los pacientes con EM⁽¹¹⁶⁾. La naltrexona actuaría hipotéticamente reduciendo la apoptosis de los oligodendrocitos mediante la disminución de la actividad de la NO sintetasa inducible. A pesar de estos prometedores resultados, el efecto neuroprotector de los cannabinoides y la modulación de los sistemas endocannabinoides están todavía por establecerse definitivamente.

Estatinas

Las estatinas son inhibidores de la 3 hidroximetilglutaril-Co A reductasa y se utilizan habitualmente en la clínica como hipolipemiantes. Algunos estudios han demostrado que estos fármacos pueden disminuir la expresión de ciertas moléculas de adhesión celular y reducir al mismo tiempo la acción de las moléculas de coestimulación. Los posibles efectos de las estatinas en la EM se han estudiado *in vitro* en células de pacientes con EMRR⁽¹¹⁷⁾.

Un ensayo clínico abierto realizado en el año 2008 sobre un total de 41 pacientes diagnosticados de EMRR concluyó que la atorvastatina en altas dosis, sola o en combinación con IFN β , produjo una reducción significativa del número de lesiones captantes de gadolinio entre el sexto y el noveno mes tras el inicio de la misma, y que los efectos eran mucho más potentes en el grupo tratado con IFN β más atorvastatina cuando se lo comparaba con el conjunto de pacientes tratados sólo con IFN, lo cual apuntaba a un posible efecto sinérgico⁽¹¹⁸⁾. Por el contrario, Birnbaum *et al.* encontraron que la adición de atorvastatina al tratamiento con IFN β incrementaba la probabilidad de experimentar una activación de la enfermedad, bien fuera clínica o radiológica⁽¹¹⁹⁾. En otro ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, Togha *et al.* reportaron que los pacientes tratados con atorvastatina añadida al IFN β -1a i.m. experimentaron una reducción significativa del número de brotes en comparación con los que recibieron sólo IFN⁽¹²⁰⁾.

En un estudio se ha valorado la posible utilidad de la atorvastatina en el SCA, observándose una reducción del número de lesiones en RM, pero no así un efecto sobre la conversión a EM⁽¹²¹⁾.

Un reciente estudio demostró que, en las formas de EMSP, la simvastatina (80 mg al día) podría tener un efecto sobre el grado de atrofia cerebral y la discapacidad⁽¹²²⁾.

A nivel experimental se ha podido demostrar que las estatinas pueden interferir en los mecanismos de remielinización *in vitro* e *in vivo*⁽¹²³⁾. Las implicaciones clínicas se han de valorar adecuadamente en relación con el posible efecto neuroprotector.

Otros compuestos neuroprotectores del futuro

Entre las diferentes estrategias neuroprotectoras para la EM se incluye en la actualidad el posible uso de una serie de fármacos que se están analizando a nivel experimental. En este sentido, el **resveratrol** y sus derivados, SRT501 y SRT1720, tienen un efecto protector neuronal en la EAE sin afectar la respuesta inflamatoria, actuando supuestamente a través de la activación de la enzima SRT1, una deacetilasa dependiente de NAD, promoviendo de esta manera la función mitocondrial⁽¹²⁴⁾.

El **ibudilast** es un inhibidor de la fosfodiesterasa 4 que parece tener propiedades neuroprotectoras *in vitro*. Esta sustancia actuaría mediante la modulación de la regulación de ciertos mediadores inflamatorios tales como el TNF α , los leucotrienos o el óxido nítrico. En un ensayo clínico realizado en pacientes con EMRR que fueron expuestos al ibudilast, se produjo una menor atrofia cerebral en el grupo tratado, al tiempo que en este mismo grupo las lesiones inflamatorias tenían menos probabilidad de evolucionar hacia la formación de agujeros negros⁽¹²⁵⁾. Actualmente, se está realizando un ensayo clínico con ibudilast para valorar su posible eficacia en el tratamiento de las formas primarias progresivas de EM.

El **NRF2** es un factor de transcripción que regula varios mecanismos antioxidantes. Compuestos que activen el NRF2, como la bromocriptina y la betanaftoflavona, tienen por consiguiente un potencial neuroprotector⁽¹²⁶⁾.

Otros factores neurotróficos con potencial aplicabilidad en el terreno de la neurodegeneración y la neuroprotección son las neurotrofinas, entre las cuales se encuentra el factor de crecimiento nervioso (NGF), las neurotrofinas 3 y 4, el factor neurotrófico derivado de las células gliales, la neurturina, la artemina, la persefina, el factor ciliar neurotrófico, etc.

5 / Conclusiones

Han pasado casi 20 años desde que la FDA aprobara el uso del IFN β -1b para el tratamiento de la EM y aún no tenemos un tratamiento curativo para esta enfermedad. El primer objetivo del mismo consistió en la prevención de los brotes. En los últimos tiempos han surgido nuevas y atractivas moléculas que, con un tolerable perfil de seguridad y eficacia, han determinado el concepto “libre de enfermedad” para un significativo grupo de enfermos. Pero existe todavía un porcentaje de pacientes en los cuales no se produce un beneficio sustantivo a medio y largo plazo. Este grupo estaría integrado fundamentalmente por los que presentan las formas progresivas de la enfermedad, tanto primarias como secundarias. Son muchos los intentos terapéuticos que se han realizado hasta la fecha y los resultados son de momento muy limitados, si bien se está abriendo en los últimos años un amplio abanico de posibilidades para estos pacientes.

El mejor control de la neurodegeneración en la EM pasará por disponer de marcadores biológicos sensibles y específicos que permitan en un futuro implantar las medidas terapéuticas para el definitivo control de la enfermedad.

B | BLIOGRAFÍA

- 1 Tintore M. Rationale for early intervention with immunomodulatory treatments. J Neurol 2008; 255 (Suppl. 1): 37-43.

- 2 Davie CA, Barker GJ, Thopson AJ, Tofts PJ, McDonald WI, Miller DH. 1H magnetic resonance spectroscopy of chronic cerebral white matter lesions and normal appearing white matter in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 63 (6): 736-42.
- 3 Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol* 2004; 55: 458-68.
- 4 Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mork S, Bo L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N. Engl J Med* 1998; 338: 278-85.
- 5 Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Bruck W. Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000; 123: 1174-83.
- 6 De Stefano N, Narayanan S, Francis GS, et al. Evidence of axonal damage in the early stages of multiple sclerosis and its relevance to disability. *Arch Neurol* 2001; 58: 65-70.
- 7 Petzold A, Eikelenboom MJ, Keir G, et al. Axonal damage accumulates in the progressive phase of multiple sclerosis: three year follow up study. *J J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 206-11.
- 8 Norgren N, Sundstrom P, Svenningsson A, et al. Neurofilament and glial fibrillary acidic protein in multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 63: 1586-90.
- 9 Teunissen CE, Dijkstra C, Polman C. Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2005; 4 (1): 32-41.
- 10 Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference I: the interferon. *Proc R Soc Lond* 1957; 147: 258-67.
- 11 Jacobs L, O'Malley J, Freeman A, Ekes R. Intrathecal interferon reduces exacerbations of multiple sclerosis. *Science* 1981; 214: 1026-8.
- 12 Jacobs L, Salazar AM, Herndon R, Reese PA, Freeman A, Josefowicz R, et al. Multi-centre double-blind study of effect of intrathecally administered natural human fibroblast interferon on exacerbations of multiple sclerosis. *Lancet* 1986; 2: 1411-3.
- 13 Prieto M, Lema M. Interferón β en la EM. *Rev neurol* 2003; 36: 980-9.
- 14 The INF-B Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta 1b is effective in relapsing remitting multiple sclerosis. *Neurology* 1993; 43: 655-61.
- 15 Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1430-8.
- 16 Trapp BD, Ransohoff R, Rudick R. Axonal pathology in multiple sclerosis: relationship to neurologic disability. *Curr Opin Neurol* 1999; 12: 295-302.
- 17 Trojano M, Pellegrini F, Fuiani A, Paolicelli D, Zipoli V, Zimatore GB, et al. New natural history of interferon-beta-treated relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2007; 61 (4): 300-6.
- 18 Nagtegaal GJ, Pohl C, Wattjes MP, Hulst HE, Freedman MS, Hartung HP, et al. Interferon beta-1b reduces black holes in a randomised trial of clinically isolated syndrome. *Mult Scler* 2013; 10: 234-42.
- 19 Filippi M, Rocca MA, Camesasca F, et al. Interferon β -1b and glatiramer acetate effects on permanent black hole evolution. *Neurology* 2011; 76 (14): 1222-8.
- 20 Barhkof F, Nagtegaal G, Polman C, et al. IFNB-1b therapy started at CIS reduces the evolution of persistent T1 hypointensities on brain MRI. Presentado en: 5th Joint Triennial Congress of the European and Americas Committees for Treatment and Research in Multiple Sclerosis; October 19-22, 2011; Amsterdam, The Netherlands. Poster: P959.
- 21 Arnon R, Aharoni R. Neurogenesis and neuroprotection in the CNS: fundamental elements in the effect of glatiramer acetate on treatment of autoimmune neurological disorders. *Mol Neurobiol* 2007; 36: 245-53.

- 22 Ge Y, Grossman RI, Udupa JK, Fulton J, Constantinescu CS, Gonzales-Scarano F, et al. Glatiramer acetate (Copaxone) treatment in relapsing–remitting MS: Quantitative MR assessment. *Neurology* 2000; 54: 813-6.
- 23 Rovaris M, Comi G, Filippi M. Can glatiramer acetate reduce brain atrophy development in multiple sclerosis? *J Neurol Sci* 2005; 233 (1-2): 139-43.
- 24 Rovaris M, Comi G, Rocca MA, Wolinsky JS, Filippi M. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group Short-term brain volume change in relapsing-remitting multiple sclerosis: effect of glatirameracetate and implications. *Brain* 2001; 124: 1803-12.
- 25 Rudick RA. Impact of disease-modifying therapies on brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2004; 14 (3 Suppl.): 54S-64S.
- 26 Calabrese M, Bernardi V, Atzori M, Mattisi I, Favaretto A, Rinaldi F, et al. Effect of disease-modifying drugs on cortical lesions and atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis* 2012; 18: 418-24.
- 27 Fox EJ. Mechanism of action of mitoxantrone. *Neurology* 2004; 12 (Suppl. 6): S15-S18.
- 28 Jeffery DR, Herdon R. Review of mitoxantrone in treatment of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 12 (Suppl. 6): S19-S24.
- 29 Morrissey SP, Le Page E, Edan G. Mitoxantrone in the treatment of multiple sclerosis. *Int MS J* 2005; 12: 74-87.
- 30 Hartung HP, Gonsette R, Koning N, et al. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double blind, randomised, multicenter trial. *Lancet* 2002; 21: 360.2018-25.
- 31 Fernández O, Fernández V, De Ramon E. Azathioprine and methotrexate in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2004; 223: 29-34.
- 32 Cavaletti G. Current status and future prospective of immunointervention in multiple sclerosis. *Curr Med Chem* 2006; 13: 2329-43.
- 33 Massacesi L, Parigi A, Barilaro A, Repice AM, Pellicano G, Konze A, et al. Efficacy of azathioprine on multiple sclerosis new brain lesions evaluated using magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 2005; 62: 1843-7.
- 34 Engelhardt B, Kappos L. Natalizumab: targeting alpha4-integrins in multiple sclerosis. *Neurodegener Dis* 2008; 5: 16-22.
- 35 Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, et al.; AFFIRM Investigators. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 899-910.
- 36 Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, et al.; SENTINEL Investigators. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 911-2.
- 37 Havrdova E, Galetta S, Hutchinson M, et al. Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis: a retrospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study. *Lancet Neurol* 2009; 8 (3): 254-60.
- 38 Kappos L, O'Connor PW, Polman CH, Vermersch P, Wiendl H, Pace A, et al. Clinical effects of natalizumab on multiple sclerosis appear early in treatment course. *J Neurol* 2013; 260: 1388-95.
- 39 Gunnarsson M, Malmeström C, Axelsson M, et al. Axonal damage in relapsing multiple sclerosis is markedly reduced by natalizumab. *Ann Neurol* 2011; 69: 83-9.
- 40 Salzer J, Svenningsson A, Sundstrom P. Neurofilament light as a prognostic marker in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16: 287-92.
- 41 Tasset I, Bahamonde C, Agüera E, et al. Effect on natalizumab on oxidative damage biomarkers in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Pharmacol Rep* 2013; 65 (3): 624-31.

- 42 **Inglese M.** MRI measures of neuroprotection and repair in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2011; 311 (Suppl. 1): S16-23.
- 43 **Miller DH, Soon D, Fernando KT, MacManus DG, Barker GJ, Yousry TA, et al.** MRI outcomes in a placebo-controlled trial of natalizumab in relapsing MS. *Neurology* 2007; 68: 1390-401.
- 44 **Dalton CM, Miszkiel KA, Barker GJ, et al.** Effect of natalizumab on conversion of gadolinium enhancing lesions to T1 hypointense lesions in relapsing multiple sclerosis. *J Neurol* 2004; 251 (4): 407-13.
- 45 **Zivadinov R, Dwyer MG, Hussein S, et al.** Voxel-wise magnetization transfer imaging study of effects of natalizumab and IFN beta-1 a in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18 (8): 1125-34.
- 46 **Rudick R, Goodman A, Kappos L, et al.** Six-year natalizumab safety and efficacy data from the STRATA study. 29th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. October 2-5 2013. Copenhagen, Denmark.
- 47 **Kappos L, Radue E-W, O'Connor P, et al.** A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 387-401.
- 48 **Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al.** Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 402-15.
- 49 **Choi JW, Gardell SE, Herr DR, Rivera R, Lee CW, Noguchi K, et al.** FTY720 (fingolimod efficacy in an animal model of multiple sclerosis requires astrocyte sphingosine 1-phosphate receptor 1 (S1P1) modulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 751-6.
- 50 **Van Doorn R, Van Horssen J, Verzijl D, Witte M, Ronken E, Van Het Hof B, et al.** Sphingosine 1-phosphate receptor 1 and 3 are upregulated in multiple sclerosis lesions. *Glia* 2010; 58: 1465-76.
- 51 **Yamagata K, Tagami M, Torii Y, Takenaga F, Tsumagari S, Itoh S, et al.** Sphingosine 1-phosphate induces the production of glial cell line-derived neurotrophic factor and cellular proliferation in astrocytes. *Glia* 2003; 41: 199-206.
- 52 **Miron VE, Schubart A, Antel JP.** Central nervous system-directed effects of FTY720 (fingolimod). *J Neurol Sci* 2008; 274 (1-2): 13-7.
- 53 **Di Menna L, Molinaro C, Di Nuzzo L, Riozzi B, Zappulla C, Pozzilli C, et al.** Fingolimod protects cultured cortical neurons against excitotoxic death. *Pharmacol Res* 2013; 67: 1-9.
- 54 **Deogracias R, Yazdani M, Dekkers MP, Guy J, Ionescu MC, Vogt KE, et al.** Fingolimod, a sphingosine-1 phosphate receptor modulator, increases BDNF levels and improves symptoms of a mouse model of Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 14230-5.
- 55 **Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC.** Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009; 5: 256-66.
- 56 **Bermel RA, Bakshi R.** The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006; 5: 158-70.
- 57 **Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, Selmaj K, et al.** Impact of fingolimod therapy on MRI outcomes in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2012; 69: 1259-69.
- 58 **Merrill JE, Hanak S, Pu SF, Liang J, Dang C, Iglesias-Bregna D, et al.** Teriflunomide reduces behavioral, electrophysiological, and histopathological deficits in the Dark Agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurol* 2009; 256: 89-103.
- 59 **O'Connor P, Wolinsky JS, Confavreux C, et al.; TEMSO Trial Group.** Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1293-303.
- 60 **Kappos L, Comi G, Confavreux C, et al.** The efficacy and safety of teriflunomide in patients with relapsing MS: results from TOWER, a phase III, placebo-controlled study. 28th Congress of the European Committee for Research and Treatment in Multiple Sclerosis (ECTRIMS); October 10-13, 2012; Lyon, France.

- 61 He D, Xu Z, Dong S, Zhang H, Zhou H, Wang L, Zhang S. Teriflunomide for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD009882.
- 62 Linker RA, Lee DH, Ryan S, et al. Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain* 2011; 134: 678-92.
- 63 Scannevin RH, Chollate S, Jung MY, et al. Fumarates promote cytoprotection of central nervous system cells against oxidative stress via the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 341: 274-84.
- 64 Lee DH, Gold R, Linker RA. Mechanisms of oxidative damage in Multiple Sclerosis and neurodegenerative diseases: therapeutic modulation via fumaric acid esters. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 11783-803.
- 65 Gold R, Linker RA, Stangel M. Fumaric acid and its esters: an emerging treatment for multiple sclerosis with antioxidative mechanism of action. *Clin Immunol* 2012; 142: 44-8.
- 66 Wilms H, Sievers J, Rickert U, Rostami-Yazdi M, Mrowietz U, Lucius R. Dimethylfumarate inhibits microglial and astrocytic inflammation by suppressing the synthesis of nitric oxide, IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 in an in-vitro model of brain inflammation. *J Neuroinflammation* 2010; 7: 30.
- 67 Albrecht P, Bouchachia I, Goebels N, Henke N, Hofstetter HH, Issberner A, et al. Effects of dimethyl fumarate on neuroprotection and immunomodulation. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 163.
- 68 Gold R, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Giovannoni G, Selmaj K. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 1098-107.
- 69 Fox RJ, Miller DH, Phillips JT, et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 1087-97.
- 70 Yang JS, Xu LY, Xiao BG, Hedlund G, Link H. Laquinimod (ABR-215062) suppresses the development of experimental autoimmune encephalomyelitis, modulates the Th1/Th2 balance and induces the Th3 cytokine TGF-beta in Lewis rats. *J Neuroimmunol* 2004; 156: 3-9.
- 71 Brück W, Pförtner R, Pham T, Zhang J, Hayardeny L, Piryatinsky V, et al. Reduced astrocytic NFκB activation by laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination. *Acta Neuropathol* 2012; 124: 411-24.
- 72 Thöne J, Ellrichmann G, Seubert S, Peruga I, Lee DH, Conrad R, et al. Modulation of autoimmune demyelination by laquinimod via induction of brain-derived neurotrophic factor. *Am J Pathol* 2012; 180: 267-74.
- 73 Brück W, Wegner C. Insight into the mechanism of laquinimod action. *J Neurol Sci* 2011; 306: 173-9.
- 74 Comi G, Jeffery D, Kappos L, et al.; ALLEGRO Study Group. Placebo-controlled trial of oral laquinimod for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1000-9.
- 75 Vollmer TL, Sorensen PS, Selmaj K, et al.; on behalf of the BRAVO Study Group. A randomized placebo-controlled phase III trial of oral laquinimod for multiple sclerosis. *J Neurol* 2014; 261 (4): 773-83.
- 76 Jones JL, Coles AJ. Spotlight on alemtuzumab. *Int MS J* 2009; 16: 77-81.
- 77 Coles AJ, Cox A, Le PE, Jones J, Trip SA, Deans J, et al. The window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis: evidence from monoclonal antibody therapy. *J Neurol* 2006; 253: 98-108.
- 78 Cox AL, Thompson SA, Jones JL, Robertson VH, Hale G, Waldmann H, et al. Lymphocyte homeostasis following therapeutic lymphocyte depletion in multiple sclerosis. *Eur J Immunol* 2005; 35: 3332-42.
- 79 Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, et al. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 359: 1786-801.
- 80 Jones JL, Anderson JM, Phuah CL, Fox EJ, Selmaj K, Margolin D, et al. Improvement in disability after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis is associated with neuroprotective autoimmunity. *Brain* 2010; 133: 2232-47.

- 81 Coles AJ, Fox E, Vladic A, et al. Alemtuzumab versus interferon beta-1a in early relapsing-remitting multiple sclerosis: post-hoc and subset analyses of clinical efficacy outcomes. *Lancet Neurol* 2011; 10: 338-48.
- 82 Schippling DS, Martin R. Spotlight on anti-CD25: daclizumab in MS. *Int MS J* 2008; 15: 94-8.
- 83 Hao J, Campagnolo D, Liu R, et al. Interleukin-2/interleukin-2 antibody therapy induces target organ natural killer cells that inhibit central nervous system inflammation. *Ann Neurol* 2011; 69, 721-34.
- 84 Rech AJ, Vonderheide RH. Clinical use of anti-CD25 antibody daclizumab to enhance immuneresponses to tumor antigen vaccination by targeting regulatory T cells. *Ann NY Acad Sci* 2009; 1174: 99-106.
- 85 Oh U, Blevins G, Griffith C, Richert N, Maric D, Lee CR, et al. Regulatory T cells are reduced during anti-CD25 antibody treatment of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009; 66: 471-9.
- 86 Bielekova B, Richert N, Howard T, Blevins G, Markovic-Plese S, McCartin J, et al. Humanized anti-CD25(daclizumab) inhibits disease activity in multiple sclerosis patients failing to respond to interferon beta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8705-8.
87. Wynn D, Kaufman M, Montalban X, Vollmer T, Simon J, Elkins J, et al. Daclizumab in active relapsing multiple sclerosis (CHOICE study): a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled, add-on trial with interferon beta. *Lancet Neurol* 2010; 9: 381-90.
88. Reske D, Haupt WF. Use of rituximab in multiple sclerosis: current progress and future perspectives. *Expert Rev Clin Immunol* 2008; 4: 573-82.
89. Petereit HF, Moeller-Hartmann W, Reske D, Rubbert A. Rituximab in a patient with multiple sclerosis-effect on B cells, plasma cells and intrathecal IgG synthesis. *Acta Neurol Scand* 2008; 117: 399-403.
- 90 Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 676-88.
- 91 Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, Calabresi PA, Antel J, Simon J, et al. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol* 2009; 66: 460-71.
- 92 Kappos L, Li D, Calabresi PA, et al. Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2011; 378: 1779-87.
- 93 Sorensen PS, Lisby S, Grove R, Derosier F, Shackelford S, Havrdova E, et al. Safety and efficacy of ofatumumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: A phase 2 study. *Neurology* 2014; 82: 573-81.
- 94 Mi S, Hu B, Hahn K, et al. LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 2007; 13: 1228-33.
- 95 Mi S, Miller RH, Lee X, Scott ML, Shulag-Morskaya S, Shao Z, et al. LINGO-1 negatively regulates myelination by oligodendrocytes. *Nat Neurosci* 2005; 8: 745-51.
- 96 Lee JY, Petratos S. Multiple sclerosis: does Nogo play a role? *Neuroscientist* 2013; 19: 394-408.
- 97 Zivadinov R, Coofair D, Srinivasraghavan B, et al. Interferon beta 1-a slows progression of brain atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis predominantly by reducing gray matter atrophy. *Mult Scler* 2007; 13: 490-501.
- 98 Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009; 5: 256-66.
- 99 De Stefano N, Narayanan S, Francis GS, et al. Evidence of axonal damage in the early stages of multiple sclerosis and its relevance to disability. *Arch Neurol* 2001; 58: 65-70

- 100 Villoslada P, Arrondo G, Sepulcre J, Alegre M, Artieda J. Memantine induces reversible neurologic impairment in patients with MS. *Neurology* 2009; 72: 1630-3.
- 101 Gonsette RE, Sindic C, D'Hooghe MB, et al. Boosting endogenous neuroprotection in multiple sclerosis: the association of losine and Interferon beta in RRMS (ASIIMS) trial. *Mult Scler* 2010; 16: 455-62.
- 102 Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 10526-31.
- 103 Settler MB, Merkler D, Maier K, et al. Neuroprotective effects and intracellular signaling pathways of erythropoietin in a rat model of multiple sclerosis. *Cell Death Differ* 2004; 11 (Suppl. 2): S181-S192.
- 104 Ehrenreich H, Fischer B, Norra C, et al. Exploring recombinant human erythropoietin in chronic progressive multiple sclerosis. *Brain* 2007; 130: 2577-88.
- 105 Slaets H, Hendriks JJ, Stinssen P, Kilpatrick Tj, Hellings N. Therapeutic potential of LIF in multiple sclerosis. *Trends Mol Med* 2010; 16:493-500.
- 106 Crawford DK, Mangiardi M, Song B, et al. Oestrogen receptor beta ligand: a novel treatment to enhance endogenous functional remyelination. *Brain* 2010; 133: 2999-3016.
- 107 Chesik D, DeKeyser J, Bron R, Fuhler GM. Insulin-like growth factor binding protein-1 activates integrin-mediated intracellular signaling and migration in oligodendrocytes. *J Neurochem* 2010; 113: 1319-30.
- 108 Steiner JP, Hamilton GS, Ross DT, et al. Neurotrophic immunophilin ligands stimulate structural and functional recovery in neurodegenerative animal models. *Proc Natl Acad Sci* 1977; 94: 2019-24.
- 109 Gold BG, Voda J, Yu X, McKeon G, Bourdette DN. FK506 and a non immunosuppressant derivative reduce axonal and myelin damage in experimental autoimmune encephalomyelitis: neuro-immunophilin ligand-mediated neuroprotection in a model of multiple sclerosis. *J Neurosci Res* 2004; 77 (3): 367-77.
- 110 Luessi F, Siffrin V, Zipp F. Neurodegeneration in multiple sclerosis: novel treatment strategies. *Expert Rev Neurother* 2012; 12 (9): 1061-76.
- 111 Kapoor R, Furby J, Hayton T, et al. Lamotrigine for neuroprotection in secondary progressive multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial. *Lancet Neurol* 2010; 9: 681-8.
- 112 Brand-Schieber E, Werner P. Calcium channel blockers ameliorate disease in a mouse model of multiple sclerosis. *Exp Neurol* 2004; 189: 5-9.
- 113 Pitt D, Werner P, Raine CS. Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis. *Nat Med* 2000; 6: 67-70.
- 114 Kalkers NF, Barkhof F, Bergers E, van Schijndel R, Polman CH. The effect of the neuroprotective agent riluzole on MRI parameters in primary progressive multiple sclerosis: a pilot study. *Mult Scler* 2002; 8: 532-3.
- 115 Fujiwara M, Egashira N. New perspectives in the studies on endocannabinoid and cannabis: abnormal behaviors associate with CB1 cannabinoid receptor and development of therapeutic application. *J Pharmacol Sci* 2004; 96: 362-6.
- 116 Cree BA, Kornyeveva E, Goodin DS. Pilot trial of low naltrexona and quality of life in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010; 68: 145-50.
- 117 Neuhaus O, Stüve O, Zamvil SS, Hartung HP. Are statins a treatment option for multiple sclerosis? *Lancet Neurol* 2004; 3: 369-71.
- 118 Paul F, Waiczies S, Wuerfel J, et al. Oral high dose atorvastatin treatment in relapsing remitting multiple sclerosis. *PLoS One* 2008; 3: e1928.

- 119 Birnbaum G, Cree B, Altafullah I, Zinser M, Reder AT. Combining beta interferon and artovastin may increase disease activity in multiple sclerosis. *Neurology* 2008; 71: 1390-5.
- 120 Togha M, Karvigh SA, Nabavi M, et al. Simvastatin treatment in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis receiving interferon- β 1a: a double-blind randomized-controlled trial. *Mult Scler* 2010; 16: 848-54.
- 121 Waubant E, Pelletier D, Mass M, et al. Randomized controlled trial of atorvastatin in clinically isolated syndrome: the STAyCIS study. *Neurology* 2012; 78: 1171-8.
- 122 Chataway J, Schuerer N, Alsanousi A, Chan D, MacManus D, Hunter K, et al. Effect of high-dose simvastatin on brain atrophy and disability in secondary progressive multiple sclerosis (MS-STAT): a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2014; 383: 2213-21.
- 123 Klopffleisch S, Merkler D, Schmitz M, et al. Negative impact of statins on oligodendrocytes and myelin formation in vitro and in vivo. *J Neurosci* 2008; 28: 13609-14.
- 124 Shinder KS, Ventura E, Dutt M, et al. Oral resveratrol reduces neuronal damage in a model of multiple sclerosis. *J Neuroophthalmol* 2010; 30: 328-39.
- 125 Barkhof F, Hulst HE, Drulovic J, et al. Ibudilast in relapsing-remitting multiple sclerosis: a neuroprotectant? *Neurology* 2010; 74: 1033-40.
- 126 Nannelli A, Rossignolo F, Tolando R, et al. Effect of beta-naphthoflavone on AhR-regulated genes and antioxidant enzymes in various brain regions of pig. *Toxicology* 2009; 265: 69-79.