



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**NUEVAS TERAPIAS EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE:  
LA REMIELINIZACIÓN COMO NUEVA  
ESTRATEGIA TERAPÉUTICA**

**Autor: Rocío Díaz-Laviada Mesa**

D.N.I.: 05940641V

Tutor: Luis Miguel Bedoya del Olmo

Convocatoria: 30 de junio de 2015

## RESUMEN

*La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica desmielinizante de origen autoinmune y de etiología y evolución heterogéneas. En la EM, la inflamación y el proceso de desmielinización llevan a la neurodegeneración y a la progresión de la discapacidad. En la actualidad, las terapias utilizadas en clínica, basadas en la inmunomodulación y la inmunosupresión, consiguen retrasar el paso a la fase progresiva.*

*En los últimos años, el estudio de los mecanismos endógenos de reclutamiento, diferenciación y formación de mielina de las células precursoras de oligodendrocitos (OPCs) han permitido identificar nuevas dianas terapéuticas, como los receptores de la proteína LINGO-1 y del anticuerpo monoclonal rHIgM22 en la superficie de OPCs y los receptores  $\beta$ -estrogénicos. También se ha estudiado el papel de las células madre mesenquimales en la prevención de la neurodegeneración y la promoción de la remielinización. Los resultados obtenidos en modelos animales de la enfermedad han confirmado el enorme potencial de la remielinización como nueva estrategia terapéutica.*

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

### 1. Esclerosis múltiple: Etiología

La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad crónica inflamatoria desmielinizante más común del Sistema Nervioso Central (SNC) y la principal causa de discapacidad neurológica en adultos jóvenes.

La EM está considerada como una enfermedad de origen autoinmune de etiología y evolución heterogéneas que se desarrolla por la exposición de individuos genéticamente susceptibles a determinados factores de riesgo ambientales.(1)

Diversos estudios han relacionado los antígenos leucocitarios humanos o HLA (del inglés Human Leukocyte Antigen) con el desarrollo de la enfermedad. El principal factor de riesgo genético asociado con la EM es el haplotipo HLA-DRB1. También se ha estudiado su relación con otros genes de receptores de las células T (IL7R $\alpha$ , IL2R $\alpha$ , TNFRSF1 $\alpha$ ). (2)

En cuanto a los factores de riesgo ambientales, se ha relacionado el desarrollo de EM con la infección previa por el virus Epstein-Barr, debido a una posible reacción cruzada de las proteínas del virus con la mielina. Otros factores ambientales relacionados son el consumo

de tabaco, la exposición a toxinas y los niveles plasmáticos de vitamina D, que podría tener un efecto protector, lo que explicaría la mayor incidencia en países de altas latitudes.(3)

Existe cierta controversia en cuanto al papel de las hormonas sexuales en la enfermedad. La mayor incidencia de enfermedades autoinmunes en mujeres hace pensar que las hormonas sexuales femeninas pueden constituir un factor de riesgo, sin embargo, la reducción de brotes durante el embarazo en mujeres con EM ha llevado al estudio de receptores hormonales como dianas terapéuticas de la enfermedad.

## 2. Presentación clínica

En función de su evolución clínica, se ha establecido una clasificación de consenso para las distintas clases de EM.(4)

En aproximadamente en el 80% de los casos la enfermedad comienza como EM **remitente-recurrente** (EMRR), en la que el paciente presenta episodios o brotes de disfunción neurológica más o menos reversibles que se repiten y que se resuelven con una recuperación aparente de la funcionalidad. Entre los brotes no hay progresión de la enfermedad. Cuando este curso clínico se mantiene a lo largo del tiempo, hablamos de **EM benigna**.

En el 50% de los pacientes con EMRR, la enfermedad evoluciona a un curso progresivo a los diez años desde su comienzo, llamamos a esta **EM secundaria-progresiva** (EMSP).

El 10% de pacientes presenta una forma progresiva desde el inicio llamada **EM progresiva-primaria** (EMPP).

Por último se habla de **EM progresiva-recurrente** (EMPR) en pacientes que en un curso progresivo presentan exacerbaciones ocasionales.

## 3. Fisiopatología de la enfermedad

La mielina es un compuesto lipoproteico que encontramos en el sistema nervioso recubriendo los axones neuronales. Actúa como aislante, permitiendo la transmisión del impulso nervioso de forma rápida y energéticamente eficiente, y dando soporte estructural y metabólico a los axones. Las vainas de mielina son producidas en el SNC por los

oligodendrocitos de la microglia. En la EM se produce la pérdida en el SNC de las vainas de mielina que recubren los axones neuronales.

El proceso comienza con la infiltración de los linfocitos Th1 y Th17 proinflamatorios en el SNC, donde atacan antígenos propios, produciéndose las primeras lesiones en forma de placas o focos de desmielinización. Este proceso está relacionado con la presentación en brotes de la enfermedad. La actividad de estas células está modulada por poblaciones de células T reguladoras, por lo que el balance entre las células T proinflamatorias y las reguladoras es crítico para determinar el desarrollo de la enfermedad.

La evolución de la enfermedad a la fase progresiva es debida a un proceso de neurodegeneración consecuencia del proceso inflamatorio crónico. Prevenir la neurodegeneración podría ser por tanto una vía para frenar el avance de la enfermedad.(5)

La **neurodegeneración** (Figura 1) en esclerosis múltiple (EM) es un proceso lento que comienza con la inflamación aguda mediada por los linfocitos T que evoluciona a una inflamación crónica difusa en el SNC. Este proceso inflamatorio está asociado a numerosos cambios moleculares, como la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, citoquinas y glutamato, así como alteraciones en las concentraciones de iones. Los mecanismos compensadores se saturan y se produce la alteración de las vías metabólicas neuronales, que provoca daño mitocondrial y disfunción de los canales iónicos. Estas alteraciones desembocan en un proceso de neurodegeneración mediado por mecanismos de apoptosis y necrosis.(6)

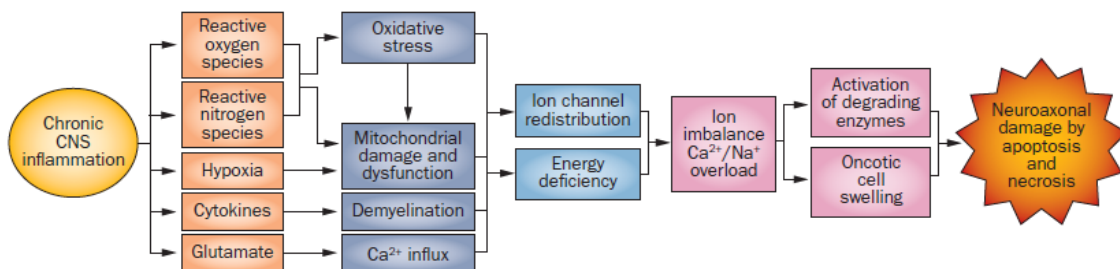


Figura 1. Cambios moleculares que llevan a la apoptosis y la neurodegeneración (6)

#### 4. Tratamientos en EM

El tratamiento de la EM comprende cuatro aspectos diferentes: el tratamiento que modifica la evolución de la enfermedad retrasando su desarrollo, el tratamiento de las

exacerbaciones o brotes, el tratamiento sintomático y el tratamiento para la movilidad. En este trabajo se hace referencia a las terapias inmunomoduladoras que modifican la evolución de la enfermedad.

Las **terapias modificadoras de la enfermedad** (DMT) disponibles en la actualidad (Tabla 1) tienen como objetivo reducir la inflamación, disminuyendo el número de brotes y frenando la evolución a EMSP, evitando con ello la progresión de la discapacidad. (7)

Los interferones (IFNs) y el acetato de glatiramero son los tratamientos de primera elección debido a la gran experiencia clínica que se tiene de su uso, su seguridad a largo plazo y a que no requieren una monitorización continua. El principal inconveniente de los interferones es la pérdida de efectividad debido a la aparición de anticuerpos neutralizadores.

En los últimos años se han desarrollado nuevas alternativas terapéuticas, con diferentes mecanismos de acción, orientadas a aumentar el tiempo entre brotes y a conseguir mayor comodidad en la administración.

Los anticuerpos monoclonales (Natalizumab, Alemtuzumab), desarrollados mediante ingeniería genética, suponen una alternativa a las terapias de primera generación en aquellos pacientes que no responden bien al IFN y al Acetato de glatiramero. Estos tratamientos tienen mayor eficacia y con ellos también se ha conseguido reducir la frecuencia de administración IV, pero no se utilizan como tratamientos de primera línea debido a las complicaciones asociadas a su uso.

También se han comercializado recientemente terapias de administración oral (Fingolimod, Teriflunomida, Dimetil fumarato) con buenos resultados de eficacia. Debido a la falta de experiencia clínica no se utilizan como tratamientos de primera línea.(8)

Por desgracia, no todos los pacientes responden bien a estos tratamientos y, aunque retrasan la progresión de la enfermedad, ninguno de ellos permite una recuperación de la neurodegeneración.

Debido a la complejidad de la EM y a que las terapias actuales actúan únicamente modulando el proceso inflamatorio, es necesario investigar nuevos abordajes terapéuticos. Uno de ellos es la **prevención de la neurodegeneración** mediante la promoción de los mecanismos de **remielinización axonal**.

Tabla 1. Resumen de las terapias modificadoras de la enfermedad disponibles en el tratamiento de la esclerosis múltiple (7) (9)

<b>Primera generación de DMT</b>			
<b>Agente</b>	<b>Dosis/ vía/ frecuencia de administración</b>	<b>Tasa reducción brotes vs. placebo</b>	<b>Mecanismo de acción</b>
<b>Interferón <math>\beta</math>-1b</b> (Betaseron®; Extavia®)	250 $\mu$ g/ SC/ Cada dos días	33%	Modificación de la respuesta biológica mediada por sus interacciones con receptores celulares específicos en la superficie de las células humanas
<b>Interferón <math>\beta</math>-1a</b> (Avonex®)	30 $\mu$ g/ IM/ Semanal	18%	Modificación de la respuesta biológica mediada por sus interacciones con receptores celulares específicos en la superficie de las células humanas
<b>Interferón <math>\beta</math>-1a</b> (Rebif®)	44 $\mu$ g/ SC/ Tres veces a la semana	33%	Modificación de la respuesta biológica mediada por sus interacciones con receptores celulares específicos en la superficie de las células humanas
<b>Acetato de Glatiramero</b> (Copaxone®)	20 $\mu$ g/ SC/ Diaria	29-34%	Estimulación de los linfocitos T reguladores
<b>DMT de última generación</b>			
<b>Mitoxantrona</b> (Novantrone®)	300 mg/ IV/ Cada 4 semanas	48%	Inmunosupresión general. Utilizada en empeoramiento de EMRR y en EMSP.
<b>Fingolimod</b> (Gilenya®)	0,5 mg/ ORAL/ Diaria	53%	Antagonista del receptor de esfingosina-1-fosfato. Impide la salida de los linfocitos de los nódulos linfáticos.
<b>Teriflunomida</b>	7-14 mg/ ORAL/ Diaria	31-36%	Inmunomodulador mediante la inhibición de la Dihidrorato deshidrogenasa, enzima implicada en la síntesis de novo de pirimidina en células con alta tasa de división como los linfocitos T y B.
<b>Dimetil fumarato</b> (Tecfidera®)	240 mg/ ORAL/ 2 al día	44-53%	Reducción de estrés oxidativo por activación de la transcripción del factor nuclear 2. Efecto antiinflamatorio por modulación del factor nuclear $\kappa$ B.
<b>Natalizumab</b>	300 mg/IV/ Cada 4 semanas	68%	Anticuerpo monoclonal que actúa uniéndose a la subunidad $\alpha$ -4 de una integrina, bloqueando la interacción con sus ligandos: molécula de adhesión VCAM-1, osteopontina, CS-1 y MadCAM-1. La alteración de estas interacciones evita la migración de leucocitos mononucleares a través del endotelio hacia el tejido parenquimatoso inflamado.
<b>Alemtuzumab</b> (Lemtrada®)	12 mg/ IV/ 5 días + 3 días (Anual)	49-54% (vs. IFN $\beta$ -1a)	Anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra la glicoproteína de superficie celular CD 52 presente en monocitos y linfocitos T, B y NK. Provoca la depleción de las poblaciones de las células del sistema inmunitario.
<b>Daclizumab</b>	150 mg y 300 mg/ SC/ Cada 4 semanas	50-54%	Anticuerpo monoclonal dirigido contra la glicoproteína CD25, la subunidad $\alpha$ del receptor de IL-2. Reduce la activación de la respuesta inflamatoria y aumenta la población de linfocitos T reguladores.
<b>Ocralizumab</b>	600 mg/ IV/ 24 semanas	En estudio	Anticuerpo monoclonal anti-CD20 en la superficie de linfocitos B. Provoca la depleción de los linfocitos B mediante lisis celular.

## 5. Remielinización: una nueva perspectiva en el tratamiento de la EM

La mielinización en el SNC es función de los oligodendrocitos. El proceso comienza con la formación de células precursoras de oligodendrocitos (OPCs) a partir de células madre neurales (NSCs) en todo el SNC. Las OPCs migrarán de forma específica a las distintas zonas del SNC en un proceso mediado por multitud de factores como quimioquinas, factores de crecimiento e interacciones con proteínas de matriz extracelular.

La diferenciación de las OPCs a oligodendrocitos (Figura 2) es un proceso coordinado con la apoptosis con el fin de generar un número adecuado de oligodendrocitos en cada región del SNC. Una vez se han diferenciado, los oligodendrocitos formados interaccionan con los axones neuronales y finalmente se transforman en oligodendrocitos maduros que sintetizan mielina cubriendo los axones con capas concéntricas de esta lipoproteína.

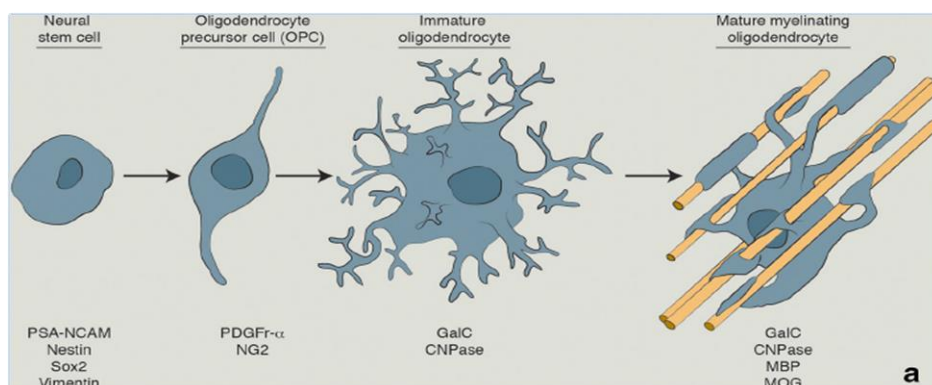


Figura 2. Proceso de diferenciación de las células precursoras de oligodendrocitos. En cada etapa se indican los marcadores celulares específicos. (10)

En los estados iniciales de la EM, tras un proceso de desmielinización, las células de la microglía y los astrocitos de las zonas dañadas activan las OPCs inactivas del SNC. Promueven con ello su migración a la zona de lesión y su proliferación y diferenciación a oligodendrocitos maduros capaces de producir mielina, permitiendo la remielinización de los axones afectados. Esto podría explicar la remisión de los brotes y la recuperación de la funcionalidad en EMRR.

Según avanza la enfermedad, los mecanismos que permiten la remielinización se vuelven insuficientes y pueden fallar, lo que precipita el proceso de neurodegeneración al perder los axones el soporte estructural y metabólico que ofrecen las vainas de mielina.

Se han identificado factores de crecimiento, vías de transcripción y marcadores de la migración, proliferación y diferenciación de las OPCs. Las vías celulares que promueven los mecanismos endógenos de remielinización se estudian en la actualidad como posibles **dianas terapéuticas** para promover este proceso en pacientes con EM.(10)

También se ha desarrollado el trasplante autólogo de células madre que promuevan la formación de mielina y contribuyan a recuperar la neurodegeneración en el SNC.

## **OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es revisar las principales estrategias terapéuticas de remielinización, analizando los resultados obtenidos en los diferentes estudios *in vivo* e *in vitro* y presentando las conclusiones más relevantes. Asimismo, se resumen los principales ensayos clínicos realizados con los nuevos agentes terapéuticos. Finalmente, se discuten y contrastan los datos encontrados.

## **METODOLOGÍA**

Se realizó una búsqueda bibliográfica comprensiva en las principales bases de datos de publicaciones científicas: PubMed/ Medline del NCBI (National Center for Biotechnology Information). También se revisaron artículos de revistas como Multiple Sclerosis Journal.

Se buscaron combinaciones de *Multiple Sclerosis* con las siguientes palabras clave: *Genetics, risk factors, therapies, emerging therapies, remyelination, mesenchymal stem cells, cell therapy*. Se seleccionaron revisiones bibliográficas consideradas de relevancia y ensayos preclínicos y clínicos realizados en los últimos 15 años.

Para obtener información de ensayos clínicos realizados con las nuevas terapias, se consultó la web de ensayos clínicos del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)



## **RESULTADOS**

### **1. Modelos animales para el estudio de la EM**

Se utilizan principalmente 4 modelos animales de EM para realizar estudios in vivo de la enfermedad.

El más común es el de Encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE). En este modelo, se induce la enfermedad en roedores mediante la inmunización activa con un antígeno de mielina o mediante la inmunización pasiva con células T específicas para antígeno de mielina. Es un modelo accesible y versátil, debido a la posibilidad de modificar el curso de la enfermedad mediante el procedimiento de inmunización utilizado.

La Encefalomiелitis Murina de Theiler (TMEV) es un modelo vírico de EM que supone una mejor aproximación a la fisiopatología de la enfermedad.

Estos modelos son los más utilizados para el estudio de la fisiopatología de la EM. Su limitación principal es el hecho de que los procesos de desmielinización y remielinización tienen lugar de forma simultánea, lo que hace difícil determinar la función del tratamiento remielinizador en estudio.

Otros modelos animales muy utilizados son los basados en la inducción de la enfermedad mediante toxinas como la cuprizona, la lisolecitina y el bromuro de etidio. Estas toxinas inducen la apoptosis de los oligodendrocitos maduros dando lugar a un intenso proceso de desmielinización.

Aunque no son útiles para el estudio del proceso autoinmune que lleva a la destrucción de las vainas de mielina, estos modelos suponen la mejor aproximación para determinar los mecanismos celulares y moleculares básicos de la remielinización, ya que evitan posibles confusiones con los efectos de la inflamación.

También se utilizan modelos genéticos de la enfermedad en los que la mielina se encuentra a muy bajos niveles o está ausente. (11)

## 2. Nuevas dianas terapéuticas para promover la remielinización

### ○ *Anticuerpo monoclonal IgM 22 (rHIgM22)*

El rHIgM22 fue identificado en el suero de pacientes de EM. Este anticuerpo se une a su antígeno correspondiente en las membranas de los oligodendrocitos, induciendo la proliferación y maduración de OPCs y promoviendo la supervivencia de estas células mediante la inhibición de la apoptosis.

Se ha demostrado que 500 ng en dosis única de este anticuerpo incrementan significativamente la remielinización a las 5 semanas en modelos víricos de la enfermedad.(12)

Estudios en modelos EAE y TMEV han demostrado que su administración disminuye el número de lesiones y aumenta la remielinización por mecanismos no relacionados con la inmunomodulación.(13)

El trabajo realizado por Watzlawik y col. demuestra que la acción del rHIgM22 es dependiente a factores liberados por los astrocitos y la microglia, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2). La mediación del rHIgM22 en la activación del receptor  $\alpha$  del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF- $\alpha$ -R) es necesario para estimular la proliferación de OPCs. La presencia de rHIgM22 permite disminuir la cantidad de PDGF requerida para la proliferación de las OPCs. (14)

### ○ *Anti-LINGO-1*

LINGO-1 es una proteína rica en leucina que interacciona con el receptor Nogo inhibidor de mielina. Se expresa de manera específica en oligodendrocitos y axones del SNC. La expresión de esta proteína aumenta con el avance de la enfermedad y del daño neuronal.

LINGO-1 es un regulador negativo del proceso de diferenciación y formación de mielina de las OPCs que impide la remielinización y promueve el proceso neurodegenerativo.

Distintos modelos de experimentación, ratones con EAE y ratones con desmielinización inducida por lisolecitina y cuprizona, han sido tratados con anticuerpos anti-LINGO-1. Se ha

comprobado así que el bloqueo de la proteína incrementa la diferenciación y maduración de los OPCs (Figura 3A,3B). En estos experimentos se produjo una recuperación funcional de los ratones, correlacionada con la recuperación de la integridad axonal y del recubrimiento de mielina.(15)

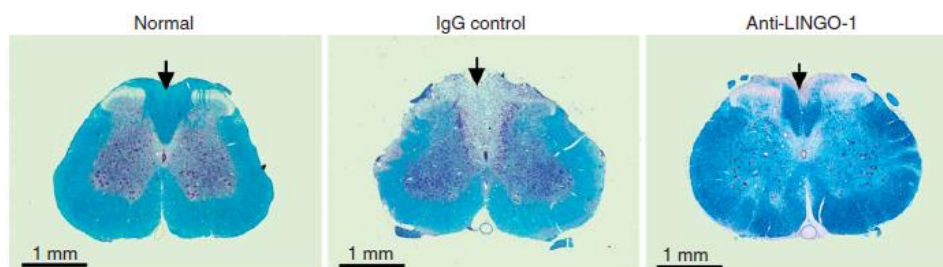


Figura 3A. Sección de la médula espinal de ratones sanos (izquierda), con tratamiento control (centro) y tratados con anti-LINGO-1 (derecha) teñida con azul luxol. Las zonas pálidas indican desmielinización, las zonas azules mielinización.

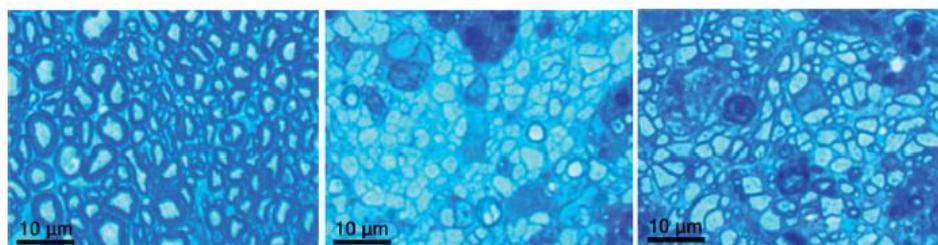


Figura 3B. Secciones teñidas con toluidina en las que se aprecia el proceso de remielinización (derecha) frente a los controles (centro). La vaina de mielina en los ratones tratados con anti-LINGO-1 es más fina que la de ratones sanos (izquierda).

Actualmente, terapias con rHIgM22 y anti-LINGO-1 se encuentra en fase de ensayo clínico (Tabla 2).

Molécula	Ensayo ( <i>Nº de identificación</i> )	Año finalización	Fase	Estado
<b>rHIgM22</b>	An Intravenous Infusion Study of rHIgM22 in Patients With Multiple Sclerosis Immediately Following a Relapse ( <i>NCT02398461</i> )	(Sept.2016)	1	Sin reclutar
	An Intravenous Infusion Study of rHIgM22 in Patients With Multiple Sclerosis ( <i>NCT02398461</i> )	Enero 2015	1	Completado
<b>Anti-LINGO-1</b>	Study to Assess the Efficacy, Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of BIIB033 in Participants With Relapsing Forms of Multiple Sclerosis When Used Concurrently With Avonex	(Junio 2016)	2	En proceso

	215ON201 BIIB033 In Acute Optic Neuritis ( <i>NCT01721161</i> )	Octubre 2014	2	Completado
	BIIB033 Single Ascending Dose Study in Healthy Volunteer Subjects ( <i>NCT01052506</i> )	Octubre 2011	1	Completado
	Safety Study of BIIB033 in Subjects With Multiple Sclerosis ( <i>NCT01244139</i> )	Abril 2012	1	Completado

Tabla 2. Ensayos clínicos de moléculas que acúan a nivel de la remielinización ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov))

### ○ *Miconazol y Clobetasol*

Najm, Madhavan y colaboradores publicaron recientemente un estudio en el que realizaban un cribado de moléculas con el objetivo de determinar qué fármacos de los ya utilizados en la práctica clínica eran también activadores de la remielinización.

Se ensayó la actividad biológica de una librería de compuestos en cultivos de OPCs de ratón y se realizó un estudio de relación estructura- actividad (REA). Dos de estos compuestos, miconazol y clobetasol, consiguieron resultados positivos *in vitro* y fueron ensayadas en ratones con EAE y en ratones con desmielinización inducida con lisolecitina (Figura 4).

Ambas moléculas, el miconazol por activación de factores de transcripción a través de la ruta de la MAP kinasa y el clobetasol a través de su interacción con receptores de glucocorticoides, tenían efecto en el proceso de remielinización y la formación de oligodendrocitos. El clobetasol además es un potente inmunosupresor. (16)

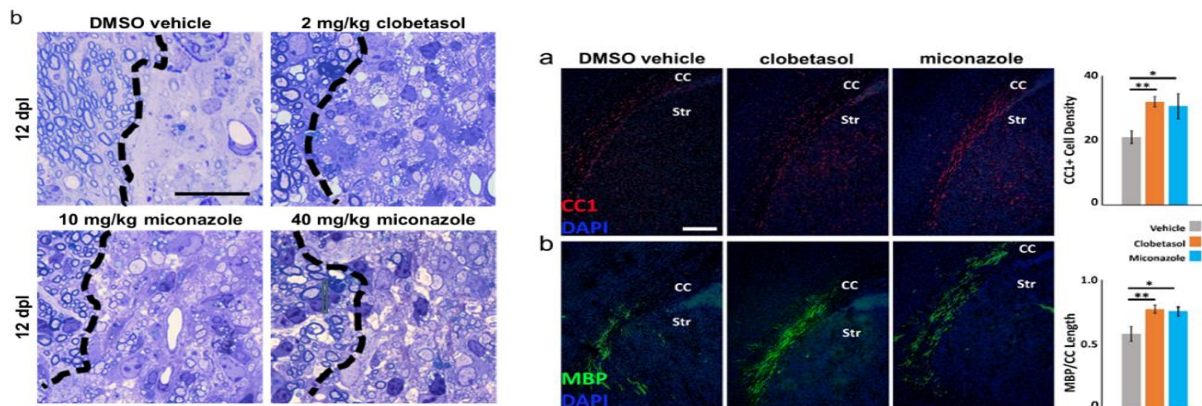


Figura 4. Izquierda: Secciones de tejido teñidas con azul de toluidina. La línea negra discontinua marca el límite de la lesión. A la izquierda de esta línea observamos el tejido no dañado. Derecha: Imágenes del cuerpo calloso de ratones tratados 4 días con vehículo, clobetasol (2 mg/kg), y miconazol (10mg/kg). En CC1 (rojo) oligodendrocitos formados tras tratamiento. El MBP (verde) permite identificar la extensión de la remielinización. Ambos tratamientos incrementaron significativamente el número de oligodendrocitos CC1 positivos en el lateral del cuerpo calloso. (t-test, \*P#0.05 y \*\*P#0.01)

### ○ *Terapia hormonal*

Muchas investigaciones se han centrado en el papel de las hormonas en el proceso de remielinización.

Las hormonas sexuales, principalmente los ligandos del receptor estrogénico  $\beta$ , podrían tener un lugar en el arsenal terapéutico de la EM como antiinflamatorios y neuroprotectores.

Se ha investigado la capacidad del tratamiento con ligandos del receptor  $\beta$  estrogénico de afectar a la desmielinización y de estimular la mielinización endógena en ratones con EAE. Se observó una disminución de los axones desmielinizados y dañados en los ratones tratados con el ligando a pesar de la presencia de inflamación.

Además, en estos ratones se observó un aumento del número de oligodendrocitos, así como del grosor de las vainas de mielina que se tradujo en una mejora en la velocidad de conducción (Figura 5).

Por tanto, existe una relación directa entre el tratamiento con ligandos de receptores  $\beta$  estrogénicos y la neuroprotección y diferenciación de OPCs, mielinización y conducción neuronal. (17)

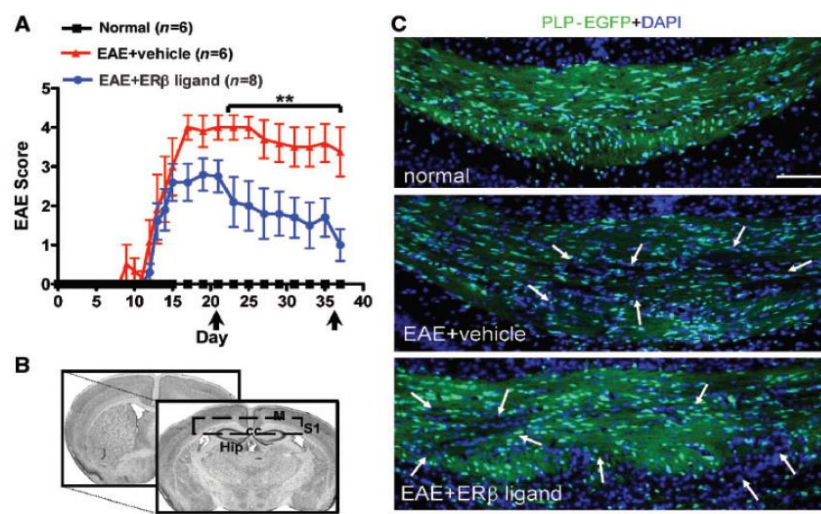


Figura 5. Tratamiento con diarilpropionitrilo, ligando del receptor  $\beta$  estrogénico, en ratones con EAE crónica progresiva. (A) A los 20 días, se observa una diferencia significativa en los ratones tratados con diarilpropionitrilo frente a los tratados con placebo. C. Áreas de remielinización en microscopio de fluorescencia: los oligodendrocitos están marcados con GFP (Green fluorescent protein). La mielina se observa teñida de azul con DAPI.

### 3. Terapia celular en Esclerosis Múltiple

Debido a un mejor perfil de seguridad y a la experiencia clínica que ya se tiene de su uso, el trasplante autólogo de **células madre mesenquimales (MSC)** de la médula ósea es la principal vía de investigación de terapia celular en EM.

Las células mesenquimales representan menos del 0,01% del total de células de la médula ósea. Se aíslan de forma relativamente sencilla y su multiplicación *in vitro* también resulta bastante accesible. *In vitro*, las células mesenquimales pueden diferenciarse en determinadas condiciones a células neurales.

La presencia de células precursoras neuronales y progenitores de oligodendrocitos en las lesiones de pacientes con EM hace plantearse la utilidad real del trasplante autólogo de células madre. Estas células ya están presentes en el SNC y, como hemos visto, son los mecanismos de reclutamiento, diferenciación y maduración de estas células los que resultan insuficientes en estados progresivos de EM.

A pesar de ello, el trasplante de células madre ha adquirido importancia y continúa siendo una importante vía de investigación. Aunque no parece probable que *in vivo* puedan diferenciarse a neuronas o células remielinizadoras, se ha observado su función reparadora de tejidos a través de diferentes mecanismos, algunos de los cuales están relacionados con la esclerosis múltiple. (18)

Las MSC tienen capacidad para migrar al tejido inflamado del SNC y se ha comprobado una mejora en las funciones neuronales tras su inyección intratecal o intravenosa que sugiere que pueden influir en la reparación neuronal.

Las MSC conseguirían este efecto mediante al menos tres mecanismos de acción diferentes: la neuroprotección, la inducción de procesos endógenos y un efecto inmunomodulador, que en algunos casos puede llegar a ser inmunosupresor (Figura 6).

Las MSC actúan como inmunomoduladores, dado que inhiben la respuesta celular T específica del antígeno (Figura 7).

Sus propiedades inmunomoduladoras e inmunosupresoras sobre el sistema inmunológico innato y adaptativo, justifican su uso en EMRR (19).



Contribuyen a prevenir la neurodegeneración al provocar el aumento de los niveles de factor de crecimiento neuronal (NGF), que contribuye a reducir la pérdida axonal, y por su acción antioxidante protectora al liberar superóxido dismutasa 3 (20)(21).

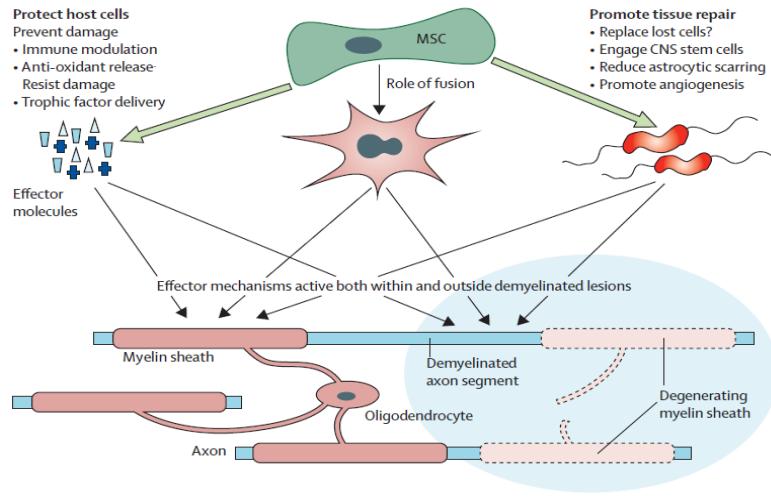


Figura 6. Mecanismos por los que las células madre mesenquimales podrían contribuir a la prevención de la neurodegeneración y a promover la remielinización (18).

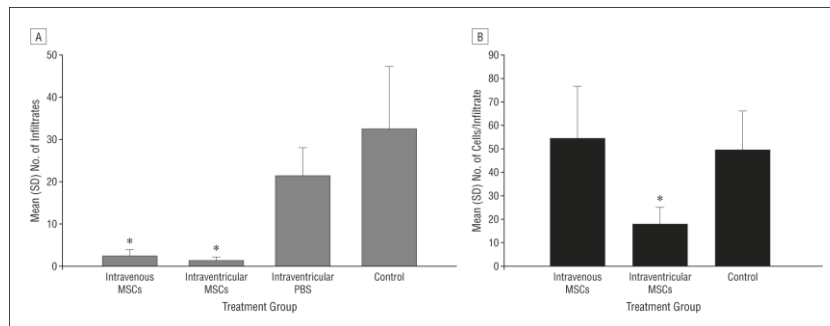


Figura 7. Infiltración linfática en el SNC de ratones con EAE tratados con solución salina (control) y con MSCs. A: Se observa una reducción significativa del número de infiltrados en los animales tratados con MSCs. B: La media de linfocitos se redujo en el grupo tratado con MSCs vía intraventricular.  $P < .001$  (Mann-Whitney U test) (19).

Por otro lado, en muchos modelos experimentales se ha demostrado un efecto inductor al administrar MSC y comprobar que promueven la proliferación, migración y supervivencia de las células madre neuronales. Cabe destacar, además, que la implantación de MSC humanas en modelos murinos incrementa la síntesis de factores tróficos. Recientemente, se ha demostrado que las MSC provenientes de médula ósea promueven la oligodendrogénesis e inhiben la astrogliosis en modelos de EAE.

El ensayo clínico fase 2 aleatorizado, enmascarado y cruzado con placebo llevado a cabo en pacientes con EMRR por Llufriu y colaboradores, evidenció las propiedades inmunosupresoras del trasplante autólogo de MSCs y la seguridad de esta terapia (22).

El Grupo Europeo para el Trasplante de Sangre y Médula Ósea (EBMT) realizó en 2009 un estudio observacional retrospectivo que recoge 12 años de experiencia clínica de trasplante autólogo de precursores hematoepoyéticos en enfermedades autoinmunes. La EM era la indicación más frecuente del estudio (Tabla 3) .

El estudio concluye que el HSCT puede inducir una remisión de más de 5 años y es una opción terapéutica válida en pacientes que sufren una enfermedad de rápida progresión refractaria a tratamientos convencionales. La supervivencia a los 5 años era del 85% y la supervivencia libre de progresión del 43%, aunque los resultados variaban en función del tipo de enfermedad y de la experiencia el centro (23).

<b>Número de HSCT autólogos</b>	345						
<b>Edad de HSCT</b>	35(14-65)						
<b>Duración de la enfermedad (meses)</b>	77 (0,5-351)						
<b>Origen de las células madre hematopoyéticas</b>	<table style="border: none; width: 100%;"> <tr> <td style="border: none;"><i>Médula ósea</i></td> <td style="border: none; text-align: right;">16</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><i>SP ± médula ósea</i></td> <td style="border: none; text-align: right;">326 (95%)</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><i>Sin dato</i></td> <td style="border: none; text-align: right;">3</td> </tr> </table>	<i>Médula ósea</i>	16	<i>SP ± médula ósea</i>	326 (95%)	<i>Sin dato</i>	3
<i>Médula ósea</i>	16						
<i>SP ± médula ósea</i>	326 (95%)						
<i>Sin dato</i>	3						
<b>Mortalidad por trasplante a los 100 días (IC 95%)</b>	2 (0-4)						
<b>Supervivencia libre de progresión a los 3 años (IC 95%)</b>	55 (49-61)						
<b>Supervivencia a los tres años (IC 95%)</b>	93 (89-97)						

Tabla 3. Resultados del estudio observacional del EBMT para EM. (SP: Sangre periférica)

## DISCUSIÓN

El estudio de los mecanismos endógenos de reclutamiento, diferenciación y formación de mielina de las OPCs ha permitido identificar nuevas dianas terapéuticas. Los ensayos *in vivo* en modelos animales adecuados permiten observar los efectos en la remielinización.



Entre las nuevas dianas terapéuticas del proceso de remielinización, destaca el uso de anticuerpos promotores del proceso de remielinización (rHIgM22, anti-LINGO-1) que tienen como diana proteínas de superficie de los oligodendrocitos.

Los resultados obtenidos en modelos experimentales son claros y han permitido el avance de las investigaciones. Los tratamientos con anti-LINGO-1 están siendo estudiados en ensayos clínicos de fase 2 y los primeros ensayos de fase 1 de rHIgM22 ya han sido completados.

La determinación de la actividad biológica y la REA de moléculas ya comercializadas ha permitido descubrir el potencial del clobetasol y el miconazol en el tratamiento de la EM. Investigar nuevas indicaciones en moléculas ya utilizadas en la práctica clínica es una buena alternativa que permitirá un avance más rápido y eficiente en el descubrimiento de nuevas terapias.

Aunque algunos ligandos de receptores estrogénicos han demostrado su capacidad remielinizadora *in vivo*, es necesario continuar investigando el papel de las hormonas en la etiología de la EM y en las vías de remielinización para determinar su utilidad en el tratamiento de la enfermedad.

Las terapias basadas en el trasplante de células madre mesenquimales a través del trasplante autólogo de médula ósea suponen una buena alternativa en pacientes con EMSP refractarios a terapias convencionales. La actividad inmunosupresora y neuroprotectora de las MSCs ha sido demostrada *in vitro* e *in vivo*. En la actualidad las investigaciones se centran en conocer y entender las vías por las que las células madre ejercen estos efectos. Es necesario tener en cuenta que el uso de esta alternativa terapéutica en clínica considera el balance beneficio-riesgo de los pacientes, reservándose para aquellos que no responden a otros tratamientos.

## CONCLUSIONES

La inmunomodulación es insuficiente como única estrategia terapéutica en esclerosis múltiple. El proceso de remielinización constituye una interesante vía de investigación y supone un nuevo abordaje de una enfermedad de gran complejidad.

Los resultados en modelos animales experimentales han permitido comprobar el enorme potencial de nuevas terapias que tienen como objetivo promover las vías endógenas de remielinización y prevenir la neurodegeneración axonal que lleva a la progresión de la

discapacidad. En los últimos años se han conseguido grandes avances y algunas de estas moléculas se encuentran ya en fase de ensayo clínico.

La posibilidad de determinar el papel que moléculas ya utilizadas en clínica tienen en estos procesos, permite un avance más rápido en la investigación de tratamientos para enfermedades como la EM, pues son moléculas de las que ya se conoce el perfil de seguridad.

Es necesario seguir investigando en este sentido y realizar ensayos clínicos para determinar la eficacia de estos tratamientos. Como ocurre con las últimas terapias inmunosupresoras comercializadas, la evaluación de los efectos adversos de estas terapias y la determinación de la relación beneficio-riesgo en cada paciente serán necesarias para determinar su uso en la práctica clínica en un futuro.

La combinación de las DMTs utilizadas actualmente en clínica con nuevos fármacos podría mejorar considerablemente el pronóstico de una enfermedad que es principal causa de discapacidad neurológica en adultos jóvenes en el mundo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Hauser SL, Oksenberg JR. The Neurobiology of Multiple Sclerosis: Genes, Inflammation, and Neurodegeneration. *Neuron*. 2006;52(1):61–76.
2. Dymont D a, Ebers GC, Sadovnick a D. Review Genetics of multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2004;3(February):104–10.
3. Ramagopalan S V., Dobson R, Meier UC, Giovannoni G. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2010;9(7):727–39.
4. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. *Neurology* 1996;46:907–911.
5. Weiner H. A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *J Neurol* [Internet]. Steinkopff-Verlag; 2008;255(1):3–11.

6. Friese M a, Schattling B, Fugger L. Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2014;10(4):225–38.
7. Wingerchuk DM, Carter JL. Multiple sclerosis: current and emerging disease-modifying therapies and treatment strategies. *Mayo Clin Proc* [Internet]. Elsevier Inc; 2014;89(2):225–40.
8. Perumal J, Khan O. Emerging disease-modifying therapies in multiple sclerosis. *Curr Treat Options Neurol*. 2012;14(3):256–63.
9. Cross a. H, Naismith RT. Established and novel disease-modifying treatments in multiple sclerosis. *J Intern Med*. 2014;275(4):350–63.
10. Hartley MD, Altowaijri G, Bourdette D. Remyelination and Multiple Sclerosis: Therapeutic Approaches and Challenges. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014;14(10).
11. Gudi V, Gingele S, Skripuletz T, Stangel M. Glial response during cuprizone-induced de- and remyelination in the CNS: lessons learned. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2014;8(March):73.
12. Warrington AE, Bieber AJ, Ciric B, Pease LR, Van Keulen V, Rodriguez M. A recombinant human IgM promotes myelin repair after a single, very low dose. *J Neurosci Res* [Internet]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2007;85(5):967–76.
13. Pirko I, Ciric B, Gamez J, Bieber AJ, Warrington AE, Johnson AJ, et al. A human antibody that promotes remyelination enters the CNS and decreases lesion load as detected by T2-weighted spinal cord MRI in a virus-induced murine model of MS. *FASEB J*. 2004;18(13):1577–9.
14. Watzlawik JO, Warrington AE, Rodriguez M. PDGF is Required for Remyelination-Promoting IgM Stimulation of Oligodendrocyte Progenitor Cell Proliferation. *PLoS One*. 2013;8(2):1–16.
15. Mi S, Hu B, Hahm K, Luo Y, Kam Hui ES, Yuan Q, et al. LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* [Internet]. Nature Publishing Group; 2007 Oct;13(10):1228–33

16. Najm FJ, Madhavan M, Zaremba A, Shick E, Karl RT, Factor DC, et al. Drug-based modulation of endogenous stem cells promotes functional remyelination in vivo. *Nature* [Internet]. 2015.
17. Crawford DK, Mangiardi M, Song B, Patel R, Du S, Sofroniew M V., et al. Oestrogen receptor  $\beta$  ligand: A novel treatment to enhance endogenous functional remyelination. *Brain*. 2010;133(10):2999–3016.
18. Rice CM, Kemp K, Wilkins A, Scolding NJ. Cell therapy for multiple sclerosis: An evolving concept with implications for other neurodegenerative diseases. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2013;382(9899):1204–13.
19. Kassis I, Grigoriadis N, Gowda-Kurkalli B, al et. Neuroprotection and immunomodulation with mesenchymal stem cells in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Arch Neurol* [Internet]. 2008 Jun 1;65(6):753–61.
20. Zhang J, Li Y, Lu M, Cui Y, Chen J, Noffsinger L, et al. Bone marrow stromal cells reduce axonal loss in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *J Neurosci Res* [Internet]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2006;84(3):587–95.
21. Wilkins A, Kemp K, Ginty M, Hares K, Mallam E, Scolding N. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells secrete brain-derived neurotrophic factor which promotes neuronal survival in vitro. *Stem Cell Res* [Internet]. 2009 Jul;3(1):63–70.
22. Llufríu S, Sepúlveda M, Blanco Y, Marín P, Moreno B, Berenguer J, et al. Randomized Placebo-Controlled Phase II Trial of Autologous Mesenchymal Stem Cells in Multiple Sclerosis. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(12):e113936.
23. Farge D, Labopin M, Tyndall A, Fassas A, Mancardi GL, Van Laar J, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: An observational study on 12 years' experience from the European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party on Autoimmune Diseases. *Haematologica*. 2010;95(2):284–92.