



VOL. 24 / MAYO 2022

BOLETÍN MÉDICO EUROESPES HEALTH



Centro Internacional
de Neurociencias y
Medicina Genómica

CONTENIDOS

01

Editorial Mayo

- Asignaturas Pendientes

EuroEspes anuncia el lanzamiento de Mylogy, la Plataforma Digital de Medicina Genómica más avanzada del mundo

Mapa del primer Genoma Humano completo

Genómica cerebral para entender mejor el autismo

Personas Hipermutantes

Bases Metabólicas de la Epilepsia

Demencias Rápidamente Progresivas

Mecanismos de herencia epigenética transgeneracional

Herencia epigenética transgeneracional en la diabetes: Las madres pueden reprogramar el ADN de los padres en favor de la salud de sus hijos

02

Artículos Divulgativos

- Biomarcadores epigenéticos en el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson. Olaia Martínez Iglesias
- Efecto antitumoral del agente epinutracéutico AntiGan en cultivos celulares. Olaia Martínez-Iglesias, Iván Carrera, Vinogran Naidoo y Ramón Cacabelos
- Cerebro Alterado por la Marihuana. Iván Tellado

03

Actualidad COVID-19

- La variante Ómicron potencia la inmunidad anti-COVID
- Susceptibilidad antiviral de Ómicron
- Los daños de la Pandemia
- El Programa SAVE de vigilancia anti-COVID
- Reparar el daño causado por la COVID-19 en la Escuela
- El ejemplo de Japón
- Variantes Ómicron
- La vacuna de la gripe podría proteger frente a COVID-19
- Las vacunas ofrecen poca protección frente a COVID-19 persistente

04

Brevialia

- Tímido renacimiento de la Terapia Génica
- El maravilloso mundo de la inmunología cerebral
- Diálogo de TAU y β -Amiloide en la enfermedad de Alzheimer
- Serias críticas a la FDA y marcha atrás en la aprobación acelerada de fármacos bajo presión política
- Primeros trasplantes de riñón de cerdo en humanos
- Mecanismos para entender mejor el dolor neuropático
- La Inteligencia Artificial amenaza la Ley de Patentes
- Una Vacuna contra Tumores Resistentes
- Productos microbianos en la inflamación intestinal crónica
- Viroterapia Oncolítica: Uso de virus contra el cáncer

CONTENIDOS

05

Voces

- Nuevo análisis e ideas pacificadoras entre Rusia y Ucrania. Salvador Harguindey
- Horacio Abundio Meliès (I). Miguel Nieto

06

Publicaciones científicas

07

Sección Promocional

- Boletín Médico EuroEspes Health 2021
- Mylogy
- Perfil Farmacogenómico
- Perfil Genómico Personal (PgenP)
- Productos Nutracéuticos de Ebiotec

EDITORIAL MAYO

Asignaturas Pendientes



RAMÓN CACABELOS
M.D., PhD., D.M.Sci.

Catedrático de Medicina Genómica

Se ha puesto de moda premiar el fracaso, la vagancia y la mediocridad. Se dan créditos a empresas en quiebra por razones políticas, no económicas; se da pasta a los hijos que no rascan bola; se cultiva la homogeneidad social, la falsa igualdad de género y el pensamiento único, porque así es más fácil controlar al rebaño sin gastar mucho en perros.

Los que se empalagan de democracia en la boca, vomitan autocracia, sufren amnesia del fundamento de libertad, persiguen la disidencia y aniquilan la diversidad, porque todo debe ser igual, a como ellos conciben el territorio de la equidad. Se olvidan -o nunca llegaron a saber- de lo que **Aristóteles** declaraba en su *Política*: "La democracia es la forma de gobierno en la que los libres son reguladores". En un discurso en la Cámara de los Comunes en noviembre de 1947, **Winston Churchill** llegó a decir que "la democracia es la peor de todas las formas de gobierno excepto aquellas que se intentan de vez en cuando". El problema no es de concepto sino de ejercicio, pues, como escribió **John Dryden** en *Absalon and Achitophel*, "la mayoría puede errar tan groseramente como unos pocos". El problema es mayor cuando las minorías imponen sus caprichos a todos los demás para que solo unos cuantos perpetúen su violación de los principios más elementales de democracia y respeto social. Si asumimos, en el momento actual, el concepto de democracia que proponía **Tucídides** en *La Guerra del Peloponeso* ("se nos llama democracia porque la administración está en manos de muchos y no de pocos"), puede que la democracia sea una entelequia disfrazada con tangas de carnaval brasileiro para educar sexualmente a los niños.

En este parco modelo de convivencia hipócrita, existen importantes asignaturas pendientes que, como ahora se pasa de curso sin aprobar, se van acumulando en el arsenal de las violaciones asexuadas, sin legislación punitiva. Uno de esos suspensos históricos es el de la sanidad, léase salud pública, miéntase medicina. Cuando el estadista prusiano y primer canciller del imperio germánico **Otto Eduard Leopold von Bismarck-Schönhausen** inventó la Seguridad Social en la primera década del siglo pasado, la estructura de la pirámide de la población no tenía nada que ver con la actual. La esperanza de vida apenas alcanzaba los 50 años y menos de un 2% de la población llegaba a la edad de jubilación, frente a los 80-85 años de esperanza de vida actuales y el 20-35% de jubilados en las sociedades avanzadas. En aquel esquema demográfico post-decimonónico, el modelo era perfecto para recaudar en época productiva y no gastar en inútiles

retirados. Hoy, el empecinamiento de políticos deslustrados en mantener el modelo de Bismarck, con ridículas pinceladas de modernidad ideológica, han convertido al modelo en la principal causa de bancarrota en cualquier sociedad que la cultive. No es un problema ideológico, ni de izquierdas ni de derechas; es un problema epidemiográfico y económico al que ningún cobarde se atreve a ponerle cascabel de alarma, para no cambiar de gato. Esta asignatura insuperada será la que arruine, además del sistema de salud en quiebra, a las pensiones de millones de inocentes corderos conducidos al matadero por la farsa ideológica de la solidaridad, que solo alimenta a las castas políticas.

El sistema también cojea en el modelo educacional, con currículos anticuados en las Facultades de Medicina y criterios inmovilistas -fundados en la necesidad de mano de obra barata- para la especialización médica, donde no importa la vocación individual sino el número de la lista, que te impone ser proctólogo cuando lo que te gustaría ser es peluquero. El sistema te impone limpiar culos cuando a ti lo que te gustaría es lavar cabezas.

El nepotismo alimenta la desmotivación de los buenos, la desidia, la flojera intelectual y el sometimiento al mercenariado de las compañías de seguros o a la poco elegante deontología de llevar un collar por la mañana y otro collar por la tarde, siendo el mismo perro.

La debilidad de la asignatura hace que se admitan como ciertos postulados erróneos. Sin síntomas no hay enfermedad, aunque te estés muriendo de forma asintomática; por lo tanto, si no rompes no necesitas médico. Y, peor que en un supermercado, puede que quien te atiende hoy no vuelva a verte en la vida, con lo cual cada vez que te ve uno distinto tienes que repetir insulsamente tu historia que, por apatía, se va achicando informativamente, aunque el volumen de síntomas vaya en aumento.

En la medicina de consumo no importa la salud; solo interesa la enfermedad. Entonces, si la salud es un bien de consumo, no tiene sentido que uno pague las irresponsabilidades de otro; y, si además, el sistema está en quiebra, parece absurdo y de escasa inteligencia que los sabios gestores impuestos por la panideología partidista se conviertan en negacionistas, agónicos obstruccionistas, de la co-financiación del gasto sanitario y de la liberalización de la atención médica.

La asignatura tiene muchas lecciones vacías. De hecho, muchos educadores de esta asignatura son entes vacíos, puede que de ética y capacidad intelectual. Se diferencia el presupuesto sociosanitario del presupuesto médico, como si la discapacidad no fuera consecuencia directa de un defecto de fábrica, de un fracaso médico, de una insuficiencia del sistema para asumir la biodiversidad biológica en la que unos son válidos y otros son inútiles.

Los capítulos más sofisticados de la materia son un calvario incomprensible. Cuesta entender que solo se conozca un 10% de las causas primarias de las enfermedades. Falta fe para creer que el 80% de las enfermedades crónicas del adulto tienen una base heredofamiliar previsible; y la fe sigue siendo todavía más poderosa que el conocimiento. Parece increíble que el 80% de los diagnósticos tengan que seguir basándose en fenotipos clínicos, carentes de biomarcadores específicos. Se trata igual una depresión por muerte del gato que por muerte del marido. Se trata igual un exceso de grasa por comer como un cerdo que por no moverte o tener una predisposición familiar a la hipercolesterolemia, la dislipemia o al síndrome metabólico. Aquello del tratamiento personalizado y la farmacogenética es un cuento de unos cuantos lunáticos que elucubran fantasías de laboratorio y no saben de farmacología; porque los únicos que saben de fármacos son los visitantes médicos de la industria farmacéutica, que son los que aleccionan, instruyen, animan, convencen, seducen y compran prescripciones a los obreros del sistema.

Ahora viene la moda de la telemedicina. Todavía no se sabe palpar bien y se pretende diagnosticar y tratar a distancia, por WhatsApp; es lo mejor para no contaminarse, para no mover el culo de la silla, para que cuando el paciente tenga que hacer presencia física venga realmente machacado, lo cual facilita el diagnóstico y consume menos recursos; porque hay que ahorrar. Con este fin se prescriben antibióticos a granel de los de nueva generación, diez veces más caros que los de toda la vida, sin preocuparse de mirar el antibiograma.

La otra moda es digitalizar el sistema, para que todo el mundo tenga acceso a la privacidad de los pacientes. Nadie se preocupa de ver que el disco duro está corrompido.



EUROESPES ANUNCIA EL LANZAMIENTO DE MYLOGY, LA PLATAFORMA DIGITAL DE MEDICINA GENÓMICA MÁS AVANZADA DEL MUNDO

La dirección del Centro Internacional de Neurociencias y Medicina Genómica de EuroEspes ha hecho público el lanzamiento de Mylogy para el día 23 de Junio. Mylogy es la plataforma digital de medicina genómica más avanzada del mundo. En su creación han participado más de 50 personas del entorno médico, científico y bioinformático, coordinados por el Dr. Juan Carlos Carril, Director del Departamento de Genómica y Farmacogenómica, y dirigidos por el Dr. Ramón Cacabelos, Catedrático de Medicina Genómica y Presidente de EuroEspes.

Mylogy es un producto digital que integra documentación médica, farmacológica, genómica y farmacogenética en un formato bioinformático para uso generalizado por la comunidad médica y científica, genetistas, industria farmacéutica y usuarios consumidores de fármacos. Su principal objetivo es permitir al usuario saber qué tipo de tratamientos farmacológicos puede utilizar y qué tipo de medicamentos debe evitar en base a su perfil farmacogenético.



MAPA DEL PRIMER GENOMA HUMANO COMPLETO

Las secuencias del genoma humano han incluido típicamente brechas en regiones repetitivas de ADN. Una combinación de tecnologías de vanguardia ha permitido al *Telomere-to-Telomere (T2T) Consortium* generar la primera secuencia completa del genoma humano.

Desde su lanzamiento inicial en 2000, el genoma humano de referencia ha cubierto solo la fracción eucromática del genoma, dejando sin terminar importantes regiones heterocromáticas. Abordando el 8% restante del genoma, **Sergey Nurk**, del *Genome Informatics Section, Computational and Statistical Genomics Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health*, Bethesda, y un nutrido grupo de colaboradores del *Telomere-to-Telomere (T2T) Consortium* presentaron una secuencia completa de 3055 millones de pares de bases de un genoma humano, T2T-CHM13, que incluye ensamblajes sin brechas para todos los cromosomas -excepto el Y-, corrige errores en las referencias anteriores e introduce casi 200 millones de pares de bases de secuencia que contienen predicciones de genes de 1956, 99 de los cuales se predice que son codificantes de proteínas. Las regiones completadas incluyen todas las matrices de satélites centroméricos, duplicaciones segmentarias recientes y los brazos cortos de los cinco cromosomas acrocéntricos, desbloqueando estas regiones complejas del genoma para estudios variacionales y funcionales.

El genoma humano de referencia actual fue publicado por el Consorcio de Referencia del Genoma (GRC) en 2013 y más recientemente parcheado en 2019

(GRCh38.p13). Esta referencia tiene su origen en el Proyecto Genoma Humano financiado con fondos públicos y se ha mejorado continuamente en las últimas dos décadas. A diferencia del esfuerzo competitivo de Celera y la mayoría de los proyectos de secuenciación modernos basados en el ensamblaje de secuencias de "escopeta", el ensamblaje de GRC se construyó a partir de cromosomas artificiales bacterianos (BAC) secuenciados que se ordenaron y orientaron a lo largo del genoma humano por medio de híbridos de radiación, enlaces genéticos y mapas de huellas dactilares. Sin embargo, las limitaciones de la clonación de BAC condujeron a una subrepresentación de secuencias repetitivas, y el ensamblaje oportunista de BAC derivados de múltiples individuos dio como resultado un mosaico de haplotipos. Como resultado, varias brechas de ensamblaje GRC son irresolubles debido a polimorfismos estructurales incompatibles en sus flancos, y muchas otras regiones repetitivas y polimórficas se dejaron sin terminar o fueron ensambladas incorrectamente.

El conjunto de referencia GRCh38 contiene 151 pares de megabases (Mbp) de secuencia desconocida distribuida por todo el genoma, incluidas las regiones pericentroméricas y subteloméricas, las duplicaciones segmentarias recientes, las matrices de genes amplicónicos y las matrices de ADN ribosómico (ADNr), todas las cuales son necesarias para los procesos celulares fundamentales. Algunas de las brechas de referencia más grandes incluyen matrices de repetición de satélites humanos (HSat) y los brazos cortos de los cinco cromosomas acrocéntricos, que se representan en GRCh38 como tramos multimegabase de bases desconocidas.

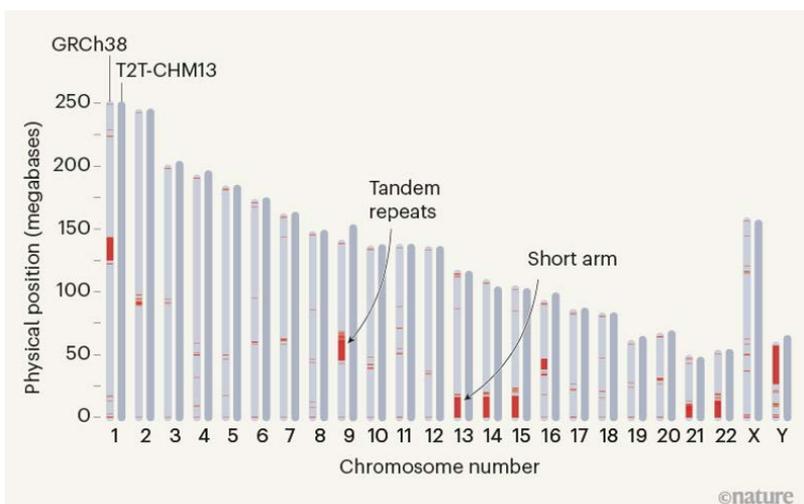
Además de estas brechas aparentes, otras regiones de GRCh38 son artificiales o incorrectas. Por ejemplo, las matrices de satélites alfa centroméricos se representan como modelos generados computacionalmente de monómeros de satélites alfa para servir como señuelos para los análisis de resecuenciación, y la secuencia asignada al brazo corto del cromosoma 21 aparece falsamente duplicada y mal ensamblada. En comparación con otros genomas humanos, GRCh38 también muestra un sesgo de delección de todo el genoma que es indicativo de un ensamblaje incompleto. A pesar de los esfuerzos finales tanto del Proyecto Genoma Humano como del GRC, que mejoraron la calidad de la referencia, hubo un progreso limitado hacia el cierre de las brechas restantes en los años siguientes.

La secuenciación de escopeta de lectura larga supera las limitaciones del ensamblaje basado en BAC y evita los desafíos del polimorfismo estructural entre genomas. Las lecturas multikilobase de una sola molécula de PacBio demostraron ser capaces de resolver variaciones estructurales complejas y brechas en GRCh38, mientras que las lecturas "ultralargas" de >100 kbp de Oxford Nanopore permitieron ensamblajes completos de un centrómero humano (cromosoma Y) y, más tarde, un cromosoma completo (cromosoma X). Sin embargo, la alta tasa de error (>5%) de estas tecnologías planteó desafíos para el ensamblaje de matrices de repetición largas y casi idénticas. La secuenciación de consenso circular "HiFi" más reciente de PacBio ofrece un compromiso de longitudes de lectura de 20 kbp con una tasa de

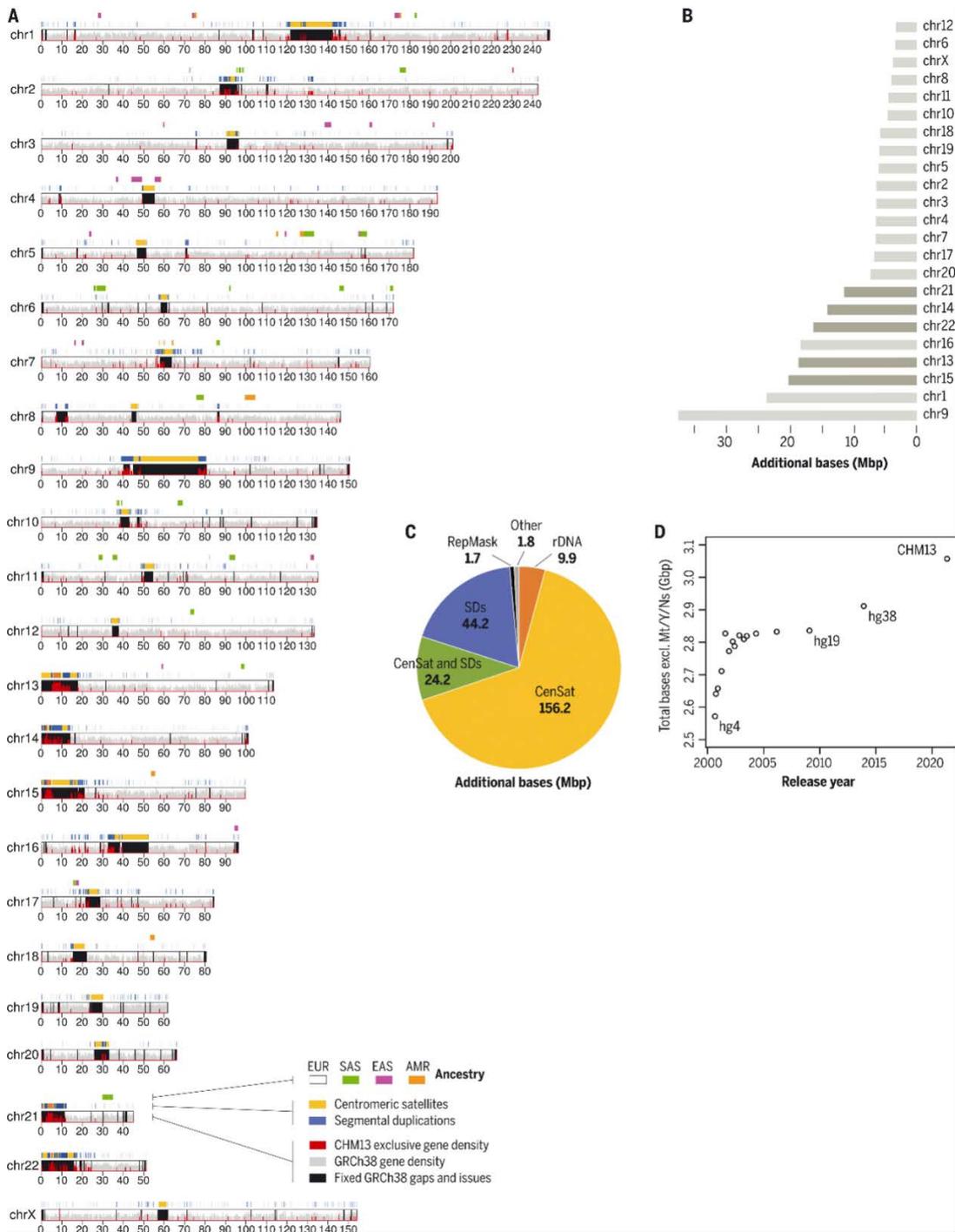
error del 0.1%. Mientras que las lecturas ultralargas son útiles para abarcar repeticiones, las lecturas HiFi sobresalen en la diferenciación de copias de repetición sutilmente divergentes o haplotipos.

Para terminar las últimas regiones restantes del genoma, Nurk et al aprovecharon los aspectos complementarios de la secuenciación de lectura ultralarga *PacBio HiFi* y *Oxford Nanopore* para ensamblar la línea celular CHM13hTERT homocigota uniformemente (CHM13). El conjunto de referencia T2T-CHM13 resultante elimina una barrera de 20 años de antigüedad que ha ocultado el 8% del genoma del análisis basado en secuencias, incluidas todas las regiones centroméricas y los brazos cortos completos de cinco cromosomas humanos.

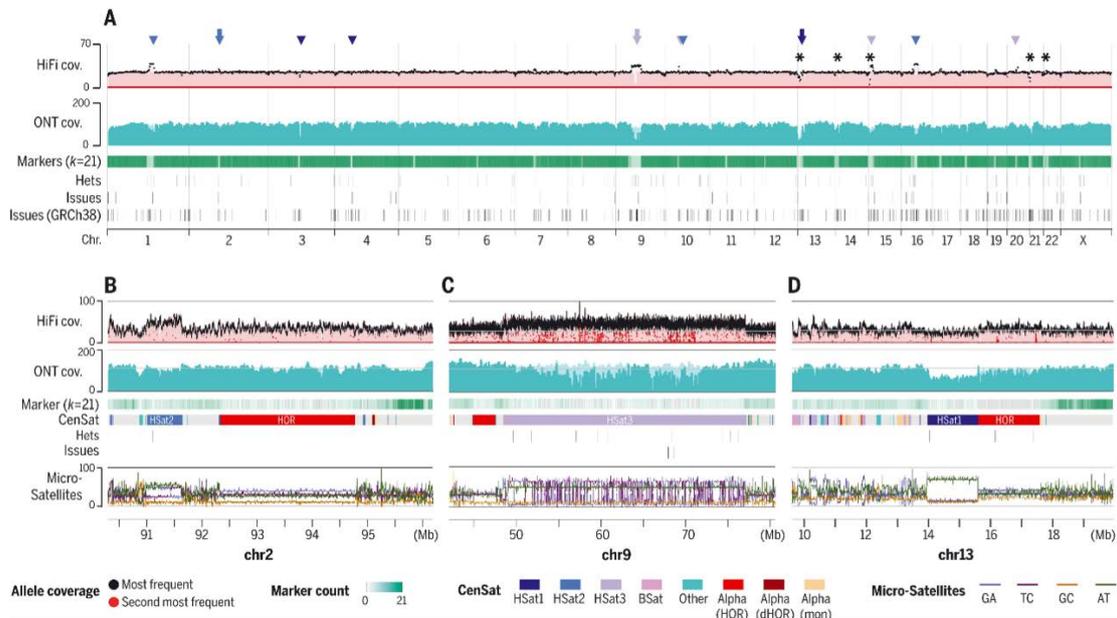
Este es un gran paso para depurar los muchos errores existentes en los mapas previos, pero -sin duda- no será el mapa definitivo. El Genoma Humano sigue ocultando secretos a la ciencia que irá mostrando a medida que la ciencia sea capaz de asimilar lo poco que conoce.



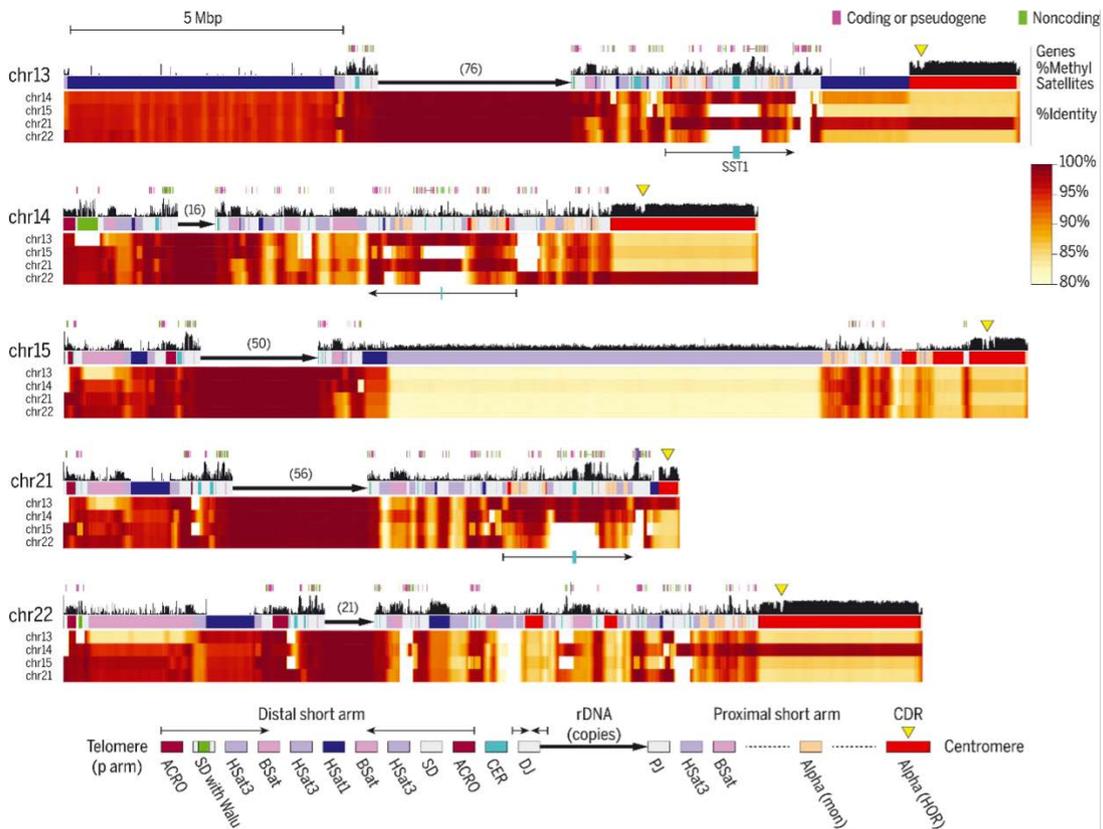
Nature, 23 May, 2022. doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01368-w>.



Ideograma resumen de la Secuencia Completa del Genoma Humano

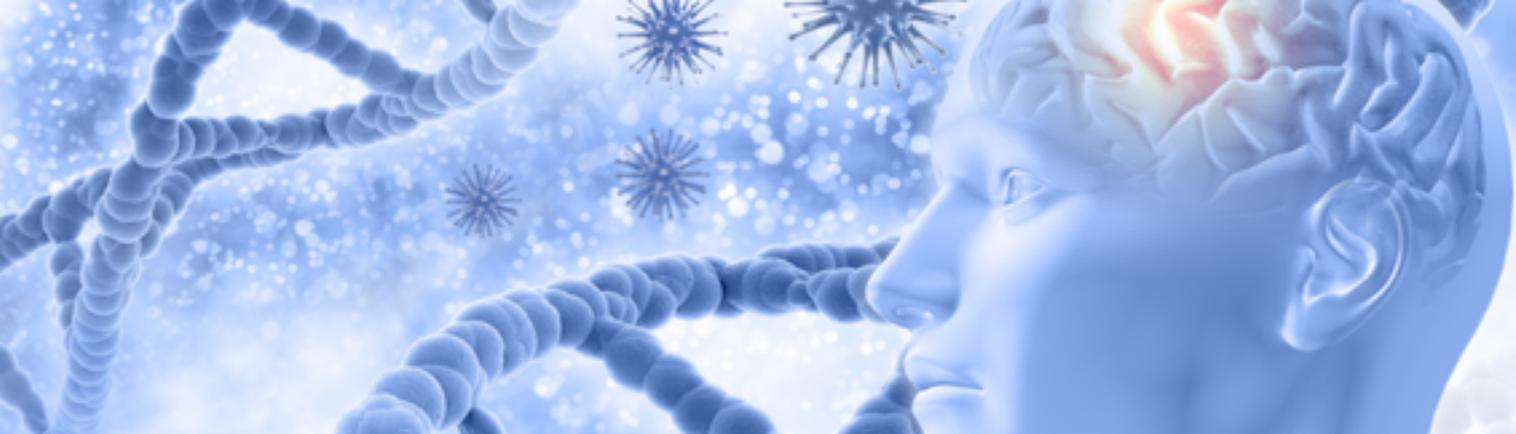


Cobertura de secuenciación y validación de ensamblaje del Genoma Humano



Brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos

Nurk S et al. The complete sequence of a human genome. Science. 2022 Apr;376(6588):44-53. doi: 10.1126/science.abj6987. Epub 2022 Mar 31. PMID: 35357919.



GENÓMICA CEREBRAL PARA ENTENDER MEJOR EL AUTISMO

El trastorno del espectro autista (TEA) constituye un grupo de trastornos del desarrollo etiológica y sintomáticamente heterogéneos de inicio temprano que se definen por déficits centrales en la comunicación social y la presencia de comportamientos repetitivos y estereotipados. Aunque estas características son el diagnóstico *sine quo non*, los individuos llegan a la atención clínica representando una amplia gama de gravedad y, a menudo, con signos y síntomas concurrentes que pueden incluir (pero no se limitan a) discapacidad intelectual, ansiedad, depresión, trastornos del sueño, epilepsia, talentos especializados (también conocidos como habilidades savant), retraso en el desarrollo motor y signos neurológicos blandos. Sin embargo, a pesar de la amplia variedad de manifestaciones clínicas y la ausencia de biomarcadores diagnósticos fiables, el TEA se sitúa persistentemente en la parte superior de la lista de trastornos neuropsiquiátricos con respecto a la contribución genética relativa. De hecho, en los últimos 15 años, a pesar de un extraordinario grado de heterogeneidad etiológica y clínica, la búsqueda de contribuyentes genéticos específicos al TEA ha sido notablemente exitosa. De manera similar a la de otros trastornos relativamente comunes, ahora se confirma que la arquitectura genética del TEA incluye una amplia gama de variaciones con respecto al tipo, la frecuencia y el tamaño del efecto. Sin embargo, la mayor promesa para la comprensión de la patobiología del TEA actualmente es el resultado de un progreso sorprendente en el descubrimiento de genes basado en la identificación de variantes dañinas de gran efecto, raras (a menudo *de novo*) en la parte codificante del genoma.

Se esperaría razonablemente que el éxito en la caracterización de muchas mutaciones raras de efecto grande y el descubrimiento concomitante de

genes sentaran las bases para la rápida identificación de características biológicas clave y posibles objetivos de tratamiento. Sin embargo, la extensa heterogeneidad del *locus* y la pleiotropía biológica de los genes de riesgo de TEA, el dinamismo del desarrollo del cerebro humano junto con su complejidad estructural y funcional, la amplia gama de resultados clínicos asociados incluso con riesgos genéticos de gran efecto, la presencia de un marcado dimorfismo sexual y las limitaciones inherentes de confiar en un sistema modelo evolutivamente distante para iluminar claramente las características humanas han planteado barreras formidables para traducir los conocimientos genéticos en una comprensión procesable de los mecanismos subyacentes.

Helen Rankin Willsey y colegas del *Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, UCSF Weill Institute for Neurosciences, University of California, San Francisco*, han realizado un excelente estudio que resume el progreso en la genética y la genómica de los TEA.

ANÁLISIS DEL EXOMA COMPLETO

Las últimas dos décadas han sido un período de progreso sorprendente en la identificación de genes y *loci* específicos que conllevan individualmente grandes riesgos de TEA "idiopáticos". Los primeros esfuerzos exitosos para aislar genes de riesgo se remontan a comienzos del presente siglo, con la identificación de mutaciones heterocigotas dañinas y putativas de pérdida de función en los genes *NLGN3* y *NLGN4*, a través de estrategias tradicionales de mapeo citogenético y análisis de vinculación paramétrica seguido de secuenciación de ADN. Poco después, la rápida evolución de las tecnologías

genómicas permitió un escaneo rentable y completo del genoma en busca de mutaciones raras y *de novo* a una resolución cada vez más alta. Las observaciones críticas que las variantes estructurales y de secuencia *de novo* contribuyen en gran medida a las formas comunes de TEA, junto con la idea de que incluso un pequeño número de variantes *de novo* extremadamente raras que se mapean al mismo gen o intervalo genómico en individuos no relacionados ofrece suficiente poder estadístico para identificar de manera fiable los *loci* de riesgo y genes con factores de confusión. En la actualidad, los estudios de secuenciación de microarrays y exoma completo (WES) centrados en variantes raras han arrojado un apoyo estadístico convincente para la asociación de aproximadamente una docena de *loci* de variantes de número de copia (CNV) y más de 100 genes, con esta lista creciendo rápidamente.

El progreso inicial en el descubrimiento del gen del TEA se basó en gran medida en la identificación de mutaciones heterocigotas *de novo* raras que conducen a la pérdida putativa de la función de la proteína codificada (también conocida como variantes truncantes de proteínas). Sin embargo, ahora también se ha demostrado que las mutaciones sin sentido *de novo*, así como las mutaciones hereditarias y somáticas raras (también conocidas como mutaciones en mosaico) conllevan riesgo. Además, la dramática expansión de las bases de datos de exomas de control y secuencias del genoma ha permitido la identificación de variaciones genéticas ultra-raras, la caracterización de genes evolutivamente restringidos (es decir, aquellos probablemente intolerantes a la variación) y la priorización de variantes sin sentido con mayor probabilidad de ser perjudiciales. La caracterización de variantes ultra raras entre genes altamente conservados solo en datos de casos y controles ha surgido como una alternativa eficiente y viable a los estudios basados en la familia diseñados para identificar mutaciones raras *de novo*.

También se han identificado variantes recesivas raras y variantes heterocigotas compuestas que contribuyen al TEA. Sobre la base del sólido historial de éxito que se basa en el mapeo de homocigosidad de pedigrís consanguíneos en una amplia gama de trastornos neurológicos y del neurodesarrollo (NDD) graves, incluidos los síndromes de malformación cerebral, la discapacidad intelectual grave y la epilepsia, ha sido algo sorprendente que el rendimiento de nuevos genes haya sido relativamente limitado para el fenotipo TEA, aunque ha habido algunas excepciones notables. Además, varios estudios recientes han demostrado una modesta contribución general de la herencia recesiva, incluyendo mutaciones heterocigotas dañinas compuestas en familias no consanguíneas.

Los estudios también han apoyado la contribución de la variación somática rara al TEA, lo que sugiere que estas variantes pueden contribuir al riesgo en aproximadamente el 5-22% de los casos simplex. Sin embargo, el descubrimiento de genes basado solo en variantes somáticas ha sido insuficiente. Además, debido a que estos estudios generalmente utilizan datos derivados del ADN de tejidos clínicamente accesibles como la sangre periférica y la saliva, las mutaciones somáticas específicas del cerebro, por su naturaleza, se pasarán por alto. La identificación de variantes somáticas dentro del tejido cerebral de individuos con TEA es un área activa de investigación.

En conjunto, las variantes de codificación raras identificadas a partir de WES no solo han sido un recurso particularmente valioso para los estudios biológicos, sino que también se ha demostrado que contribuyen a una minoría sustancial de individuos que se presentan para la evaluación clínica. Las estimaciones de la contribución clínica van desde un mínimo de alrededor del 10% hasta un máximo de aproximadamente la mitad de la población clínica con TEA, dependiendo en parte de los criterios de determinación. Por ejemplo, se sabe que el aumento de la edad de los padres, el bajo coeficiente intelectual en relación con las expectativas de los padres medios, la dismorfología, la epilepsia, las enfermedades cardíacas congénitas, el sexo femenino y el estado simple, junto con un mayor número de hermanos no afectados, conducen a mayores rendimientos positivos en las pruebas genéticas.

Existe un debate sobre la definición de formas "sindrómicas" de trastorno del espectro autista (TEA) *versus* presentaciones "idiopáticas". La sindrómica generalmente se refiere a afecciones raras y graves con una presentación altamente característica que puede tener TEA concurrente, por ejemplo, síndrome de X frágil, síndrome de Angelman, síndrome de Rett, esclerosis tuberosa, neurofibromatosis y síndrome tumoral de hamartoma PTEN. En la práctica, el TEA sindrómico tiende a tener una mayor contribución de características aparte de los déficits de comunicación social y los comportamientos repetitivos, muestra una mayor penetrancia y tiende a la causalidad monogénica. Por el contrario, idiopático se refiere a casos que no están obviamente acompañados de rasgos físicos característicos o una historia natural patognomónica. Aunque puede haber una superposición considerable en los síntomas entre estos grupos, y una creciente apreciación de la biología que se cruza, la historia de los esfuerzos de identificación de genes ha divergido en los extremos de estas distinciones. Por ejemplo, hubo avances sustanciales en la identificación de *loci* y genes sindrómicos aprovechando los métodos genéticos clásicos, antes de la secuenciación del genoma humano y la era genómica. Por el contrario, el

descubrimiento de genes fiables y sistemáticos en el grupo más grande de individuos que comúnmente se presentan clínicamente con TEA fue altamente dependiente del desarrollo de tecnologías genómicas de alto rendimiento centradas en mutaciones raras y *de novo*.

A medida que el descubrimiento de genes ha progresado, y se han caracterizado grupos más grandes de individuos afectados con variantes raras en el mismo gen, los límites entre sindrómicos y no sindrómicos se han vuelto menos claros. Los cuidadosos análisis clínicos retrospectivos de pacientes cuyo TEA es aparentemente idiopático y que comparten un gen mutado del TEA o un segmento cromosómico han conducido infrecuentemente al reconocimiento de características físicas distintivas y comorbilidades que sugieren la presencia de síndromes previamente no apreciados. Por lo tanto, en la actualidad, el TEA sindrómico *versus* idiopático puede considerarse más productivamente que existe en un continuo tanto con respecto a la contribución relativa de las características centrales del diagnóstico de TEA como con respecto a la fiabilidad de las correlaciones genotipo-fenotipo.

SECUENCIACIÓN DEL EXOMA COMPLETO (WES)

Este enfoque tiene como objetivo identificar variantes codificantes raras, especialmente *de novo*, recurrentes en el mismo gen en pacientes no relacionados con más frecuencia de lo esperado por casualidad (según las tasas de mutación teóricas, los hermanos no afectados o la frecuencia de la población). Estos enfoques se han centrado históricamente en las familias "simplex" (padres no afectados con un niño con autismo), que tienden a enriquecerse para las variantes *de novo*. Sin embargo, las variantes hereditarias raras y los datos de casos y controles de tipos de familias simples, multipléxicas o desconocidas han contribuido cada vez más al descubrimiento de genes, especialmente a medida que las bases de datos acumulan información sobre la frecuencia de variantes poblacionales y mejora la capacidad de estratificar las variantes más perjudiciales. A medida que estas bases de datos crecen, la definición de raro está comenzando a cambiar a <0.1% o incluso <0.01%. Los genes identificados por este enfoque tienden a llevar grandes tamaños de efecto.

SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (WGS)

Conceptualmente similares a WES, estos análisis se expanden para incluir variantes no codificantes. La identificación *de loci* no codificantes requiere

tamaños de cohorte muy grandes y es un desafío debido a la caracterización incompleta de *los loci* reguladores, la incapacidad relativa para priorizar variantes deletéreas (especialmente en comparación con las variantes de codificación) y la tendencia de estos efectos a restringirse a épocas de desarrollo, tejidos y/o tipos de células particulares (pero actualmente desconocidos). En consecuencia, aún no se han identificado *loci* específicos no codificantes en umbrales significativos de todo el genoma.

DETECCIÓN DE VARIANTES DE NÚMERO DE COPIA (CNV)

Las CNV son deleciones o duplicaciones de ADN (también conocidas como variantes estructurales). El enfoque para detectar CNV es conceptualmente similar a WES y WGS: identificar CNV raros y/o *de novo* a partir de datos de genotipado o secuenciación, y luego buscar variantes recurrentes que se superpongan al mismo *locus* en múltiples individuos no afectados. Los *loci* asociados tienden a superponerse genes y conllevan grandes efectos. Cuando se combinan con WES y WGS, las CNV codificantes pequeñas, especialmente las deleciones, pueden ayudar a identificar genes de riesgo individuales.

GENOME-WIDE ASSOCIATIONS

Este enfoque se basa en variantes comunes (también conocidas como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)), que ocurren con una frecuencia superior al 1% en la población. Las variantes generalmente se identifican con matrices de genotipado. Los casos y controles se comparan para identificar SNP con un alelo que ocurre con mayor frecuencia en los casos. Se requieren cohortes muy grandes para identificar *loci* de riesgo, ya que tienen tamaños de efecto pequeños. Hasta la fecha, solo se han identificado cinco *loci* significativos de todo el genoma para el trastorno del espectro autista (TEA), pero se espera que este número crezca a medida que aumente el tamaño de la muestra.

Hasta la fecha, la contribución de los estudios de secuenciación del genoma completo (WGS) a la identificación de genes de riesgo y *loci* para el TEA ha sido limitada en comparación con los enfoques mencionados anteriormente. La captura del complemento completo de variación en todo el genoma, incluidas las mutaciones tanto de secuencia como estructurales, representa claramente el futuro de los análisis genómicos para el TEA y, de hecho, de toda la medicina. Sin embargo, varios factores limitan su utilidad actual: en términos generales, que el análisis y el almacenamiento de datos WGS requieren una amplia infraestructura computacional y confieren

costos sustanciales; el "espacio de búsqueda" para WGS es 100 veces mayor que para WES, pero está menos bien caracterizado; la capacidad de interpretar las consecuencias de la variación no codificante es mucho más difícil que asignar importancia funcional a las mutaciones codificantes canónicas; y, como grupo, se estima que la variación rara no codificante conlleva riesgos relativamente más modestos de TEA en comparación con las raras mutaciones codificantes dañinas. En consecuencia, se estima que los tamaños de cohorte necesarios para identificar los *loci* asociados con confianza son de un orden de magnitud o más extensos que para los estudios contemporáneos de WES y, actualmente, ninguna investigación publicada ha realizado aún un número suficiente para identificar, definitivamente, variantes de riesgo individuales no codificantes.

DESCUBRIMIENTO DE VARIANTES COMUNES

Aunque la mayoría de los *loci* de riesgo de TEA confirmados hasta la fecha provienen de estudios de variantes codificantes raras de efecto grande, existe una fuerte evidencia de que las variantes comunes de efecto pequeño conllevan la mayoría del riesgo poblacional. A pesar de esto, los estudios iniciales de asociación del genoma completo del TEA (GWAS) arrojaron resultados decepcionantes debido a la insuficiente potencia estadística. Sin embargo, estudios más recientes, con más de 18 000 casos y casi 28 000 controles, han identificado con éxito cinco alelos de riesgo comunes de efecto modesto, cumpliendo rigurosos criterios estadísticos de asociación. Sin lugar a dudas, este número continuará creciendo a medida que las cohortes de casos y controles aumenten aún más en tamaño. Además, a pesar del número relativamente pequeño de *loci* implicados hasta la fecha, las puntuaciones de riesgo poligénico, que son un medio para cuantificar los riesgos genéticos comunes acumulativos, ya han demostrado una capacidad modesta para diferenciar casos *versus* controles. Las puntuaciones de riesgo poligénico parecen diferir según el sexo, con una mayor carga genética observada en las mujeres, lo que proporciona evidencias de un "efecto protector femenino" (FPE), un fenómeno que también se ha observado ampliamente con respecto a las variantes raras. También ha habido cierto éxito en la identificación de riesgos genéticos comunes compartidos que atraviesan una amplia gama de diagnósticos psiquiátricos aparentemente dispares.

Hay evidencias de que entre los individuos portadores de variantes de riesgo raras de gran efecto, los alelos comunes y la herencia poligénica probablemente contribuyen al TEA idiopático. A medida que crece el rendimiento de los SNPs de TEA en GWAS, las preguntas importantes sobre la arquitectura genética subyacente a varios grupos

de individuos con autismo, incluidos aquellos con el llamado autismo de alto funcionamiento, podrán aclararse. Finalmente, el descubrimiento de un conjunto mucho más grande de alelos comunes significativos en todo el genoma sin duda potenciará estudios de convergencia similares a los que actualmente aprovechan con éxito mutaciones raras y de gran efecto.

EL NÚMERO DE GENES ASOCIADOS AL TEA

Los análisis de asociación contemporáneos de fenotipos comunes, genéticamente complejos y heterogéneos, como el TEA, se basan en gran medida en la aplicación de métodos estadísticos rigurosos que protegen eficazmente contra los hallazgos falsos positivos, que históricamente han acosado los estudios genéticos psiquiátricos. Durante la última década, han surgido dos enfoques amplios para el análisis de variantes raras, utilizando un marco bayesiano o frecuentista, proporcionando al campo resultados robustos y consistentes. Para los estudios de WES específicamente, se ha convertido en un lugar común requerir un valor de P de descubrimiento de menos o igual a 2.5×10^{-6} , corrigiendo efectivamente las comparaciones múltiples entre los aproximadamente 20 000 genes que comprenden el exoma humano. Los métodos alternativos ampliamente utilizados estiman las tasas de descubrimiento falso (FDR) por gen utilizando un enfoque bayesiano, asignando una asociación significativa típicamente a los genes que muestran $FDR \leq 0.1$ y reservando una designación de "mayor confianza" a aquellos con $FDR \leq 0.01$. Por el contrario, el GWAS llegó relativamente rápido a un único estándar y umbral de consenso, a saber, un valor de P de descubrimiento de menos de 5×10^{-8} seguido del hallazgo de significación nominal en una cohorte de replicación. Es importante destacar que el hecho de que sigan existiendo enfoques estadísticos alternativos aceptados para los estudios de WES de variantes raras contribuye a cierto grado de variabilidad en la "contabilidad" de genes. Por ejemplo, en el reciente análisis ómnibus realizado por el *Autism Sequencing Consortium* se cita comúnmente como la identificación de 102 genes de riesgo de TEA, basado en el umbral bayesiano de FDR de 0.1 mencionado anteriormente. Utilizando el umbral de valor significativo de P aceptado en todo el exoma alternativo (2.5×10^{-6}) se obtienen 26 genes de riesgo y restringiendo a los genes de mayor confianza basados en $FDR \leq 0.01$ se identifican 47 genes de riesgo.

Otras cuestiones de definición contribuyen a una serie de puntos de vista sobre lo que constituye la lista definitiva de genes de riesgo. Por ejemplo, algunas bases de datos ampliamente utilizadas (por ejemplo, *SFARI Gene*) incluyen genes descubiertos en estudios

de formas sindrómicas de TEA. Tales enfoques tienen la ventaja de ser más completos que los que se basan únicamente en estudios de asociación a gran escala restringidos a muestras clínicas "idiopáticas". Sin embargo, los enfoques consensuados también introducen un grado de subjetividad y un posible sesgo de determinación que puede evitarse en gran medida centrándose solo en genes que exceden los umbrales estadísticos predeterminados. La tarea de construir una lista singular de genes de riesgo de TEA de alta confianza se hace igualmente más desafiante por estudios que cruzan categorías de diagnóstico. Por ejemplo, aunque los enfoques que combinan TEA y otras cohortes de NDD aumentan el rendimiento del descubrimiento de genes, también complican nuestra comprensión del riesgo relativo que cada gen identificado conlleva para TEA en comparación con otros NDD. Además, los resultados de los estudios que se basan en la secuenciación dirigida pueden ser difíciles de integrar con los hallazgos de WES o WGS, dados los desafíos de llegar a un único enfoque o umbral estadístico aplicable.

TEA VERSUS OTROS TRASTORNOS DEL NEURODESARROLLO

Con el éxito reciente en la identificación de genes a través de múltiples NDD y trastornos psiquiátricos, la cuestión de la superposición de riesgos genéticos entre síndromes clínicos aparentemente distintos ha surgido como un área clave de investigación, tanto por razones conceptuales como pragmáticas. Algunas de las áreas actualmente de mayor interés en este sentido incluyen el grado en que los riesgos de TEA son distinguibles de los riesgos de esquizofrenia o de discapacidad intelectual. Ambas preguntas también tienen relevancia histórica: el autismo se conceptualizó inicialmente clínicamente como una forma de esquizofrenia de inicio en la infancia, pero la sabiduría convencional cambió posteriormente y la noción fue formalmente rechazada después de la segunda edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales. Del mismo modo, ahora está claro que los criterios de diagnóstico temprano para el autismo tendían a enriquecer a los individuos con discapacidad intelectual coexistente, lo que resultó en una sobreestimación de la prevalencia de la discapacidad intelectual en la población con TEA.

La cuestión de si y en qué grado existe especificidad para el riesgo genético de TEA frente a otros fenotipos del desarrollo sigue siendo un tema controvertido. Las sucesivas generaciones de estudios sistemáticos de CNV han demostrado que las variaciones estructurales idénticas pueden contribuir a múltiples resultados diagnósticos distintos, incluidos, entre otros, epilepsia, esquizofrenia, trastorno bipolar, discapacidad intelectual, trastorno por déficit de atención con hiperactividad, trastorno de Tourette y

TEA. Se ha visto que el rendimiento de mutaciones de riesgo raras de estudios de secuenciación de alto rendimiento de cohortes de TEA aumenta a medida que disminuye el coeficiente intelectual. No es sorprendente que este tipo de observaciones hayan alimentado los debates sobre si estos diagnósticos son realmente separables a nivel genético. Para las CNV, esta variabilidad en los resultados fenotípicos ha sido particularmente dramática. A partir de más de una década de progreso en estudios de TEA, esquizofrenia, epilepsia y discapacidad intelectual, se ha vuelto cada vez más difícil identificar cualquier variante estructural asociada con uno de estos diagnósticos que no esté también asociada con algún riesgo para uno o más de los otros, y la lista de resultados clínicos adicionales muestran una superposición continua creciente. Aunque existen algunas pruebas de diferentes representaciones relativas de manifestaciones clínicas para CNV individuales, incluso para duplicaciones *versus* deleciones del mismo intervalo genómico, en general, los datos han apuntado consistentemente a la ausencia de especificidad diagnóstica.

A medida que los estudios de variantes raras y comunes han progresado, está comenzando a surgir una visión más matizada de la arquitectura genética y los *loci* que contribuyen al TEA frente a otros síndromes del neurodesarrollo. Por ejemplo, en comparación con la esquizofrenia, se han requerido cohortes mucho más pequeñas para identificar genes de riesgo de gran efecto en el TEA. Por el contrario, se han requerido tamaños de muestra mucho más grandes para identificar las primeras variantes comunes significativas de todo el genoma en TEA *versus* en esquizofrenia. De acuerdo con estas observaciones, las variantes raras muestran, en promedio, un mayor riesgo relativo en el TEA que en la esquizofrenia. En un estudio reciente de esquizofrenia centrado en la identificación de variantes codificantes ultrararas, ninguno de los 10 genes que cumplen con el límite más riguroso para la significación estadística se superpone con los 26 genes identificados en el mismo umbral en estudios previos de TEA. Un examen de un conjunto más amplio de genes demuestra que solo 3 de estos 34 genes de riesgo probable de esquizofrenia se superponen con los 102 genes de riesgo de TEA de alta confianza identificados en base al mismo límite estadístico.

También ha habido interés en la superposición, tanto clínica como etiológicamente, de los TEA y la discapacidad intelectual. Los criterios de diagnóstico temprano para el autismo estaban sesgados hacia la determinación de individuos con deterioro intelectual concomitante. Sin embargo, a medida que el espectro más amplio de manifestaciones

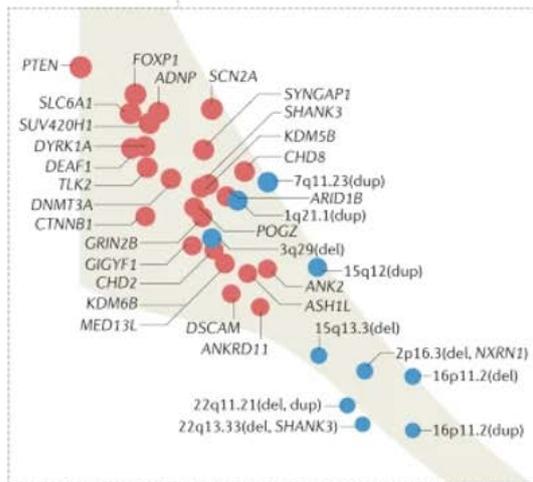
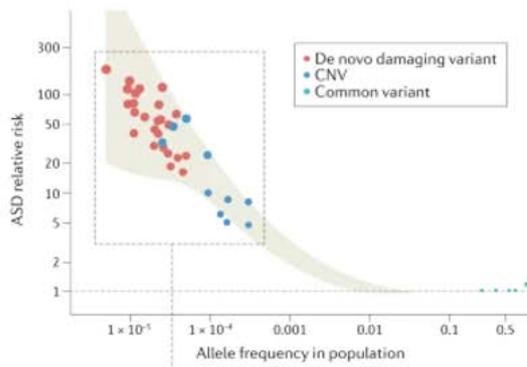
clínicas de TEA se ha apreciado cada vez más, el porcentaje de individuos con TEA y sin discapacidad intelectual ha aumentado notablemente y ahora refleja la mayoría de los que llevan un diagnóstico de TEA. No obstante, la frecuente co-ocurrencia clínica de la discapacidad intelectual y el TEA ha provocado un debate en curso sobre la separabilidad del funcionamiento social *versus* intelectual y ha planteado preguntas clave sobre si los recientes esfuerzos de descubrimiento de genes en cohortes de TEA tienen el potencial de ofrecer información sobre la biología central de la discapacidad social. Existe una hipótesis de que la capacidad social se distribuye continuamente en la población y que los coeficientes intelectuales más altos amortiguan el comportamiento contra los síntomas del autismo. Una interpretación contemporánea de esta idea es que la reciente avalancha de mutaciones de gran efecto identificadas en estudios de WES conduce principalmente a un coeficiente intelectual más bajo, lo que, a su vez, limita la capacidad de un individuo para compensar el deterioro social mediado por alelos comunes. En esta línea, múltiples análisis han observado que la tasa de mutaciones raras *de novo* en cohortes de TEA aumenta a medida que disminuye el CI y algunos han concluido que las mutaciones raras de la secuencia *de novo* están sobrerrepresentadas solo en individuos con CI por debajo de la media.

Por el contrario, múltiples estudios han demostrado que las variantes de secuencia raras y las CNV que contribuyen con grandes cantidades de riesgo se encuentran en todo el rango de CI. Uno de estos estudios evaluó los genes de TEA con respecto a si mostraban evidencias de ser "predominantes en TEA" o "predominantes en TEA/NDD" y encontraron evidencias de diferentes distribuciones de fenotipos correspondientes a genes específicos. Aunque los autores del estudio no concluyeron que ningún gen conllevara exclusivamente el riesgo de TEA solo, su análisis fue consistente con numerosas observaciones que sugieren que la rara variante genética del funcionamiento social e intelectual humano es separable hasta cierto punto. Por ejemplo, un estudio mostró que las duplicaciones *versus* deleciones de la región idéntica del síndrome de Williams en el cromosoma 7q11.23 conducen, en promedio, a niveles similares de deterioro intelectual, pero también, típicamente, a fenotipos sociales sorprendentemente divergentes.

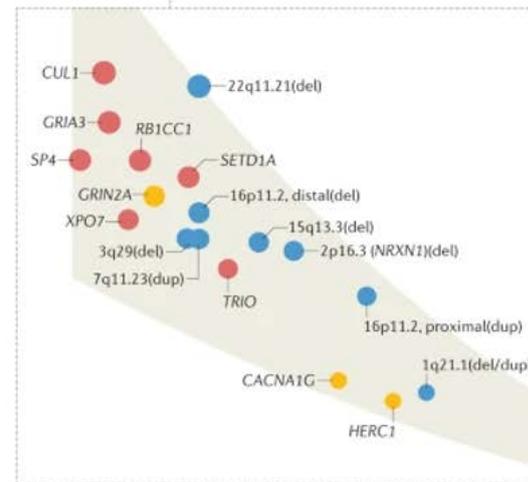
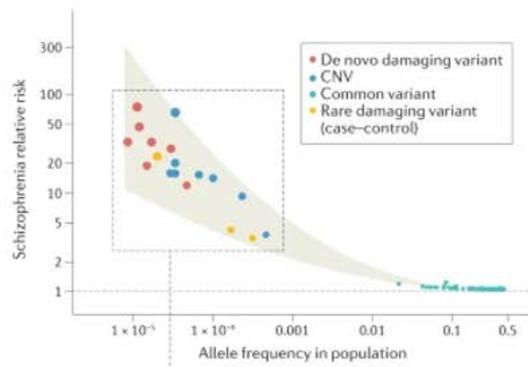
A medida que el progreso en los estudios de variantes comunes y raras dibuja una imagen más completa de la arquitectura alélica del TEA, la discapacidad intelectual, la esquizofrenia y otros trastornos psiquiátricos, las múltiples preguntas relacionadas se volverán cada vez más manejables. Los estudios que examinan la correlación de genes específicos con diferentes distribuciones de diagnósticos

tendrán un mayor poder para sacar conclusiones definitivas. Es probable que las relaciones entre el diagnóstico, la clase de variante (variantes truncantes de proteínas *versus* variantes sin sentido), la dirección del efecto (duplicación *versus* deleción y pérdida de función *versus* ganancia de función) y el sexo del paciente proporcionen información clave sobre los mediadores y moderadores de cualquier especificidad que se encuentre presente. Existe una consternación comprensible con respecto a la posibilidad de que los riesgos genéticos de TEA, discapacidad intelectual, epilepsia y otros NDD sean inseparables, así como el alto grado de comorbilidad que también se observa. Lo que parece claro es que todavía estamos muy lejos de entender las claves genéticas responsables de los trastornos del neurodesarrollo, entre los cuales el autismo es un problema prevalente. En cualquier caso, los avances realizados en la última década deben servir para optimizar la precisión diagnóstica de autismo basado en la tecnología genómica disponible y, sobre todo, personalizar el tratamiento farmacológico mediante la farmacogenética para evitar dar medicamentos inadecuados a cerebros infantiles en desarrollo en los cuales la toxicidad de neurolépticos y psicofármacos pueden dejar huellas irreparables para toda la vida.

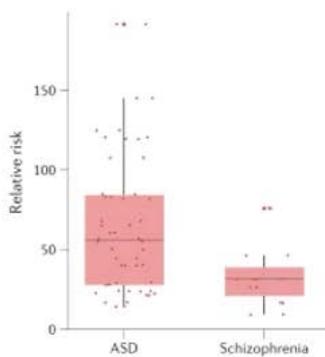
a Relative risk versus allele frequency for ASD genetic variants



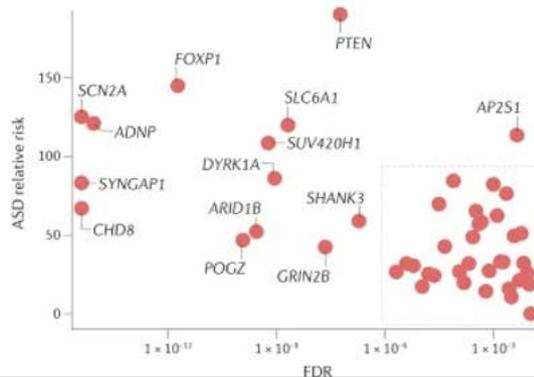
b Relative risk versus allele frequency for schizophrenia genetic variants



c Relative risk for de novo damaging variants in ASD versus schizophrenia genes



d Relative risk versus false discovery rate for de novo damaging variants in high-confidence ASD risk genes (FDR < 0.01)



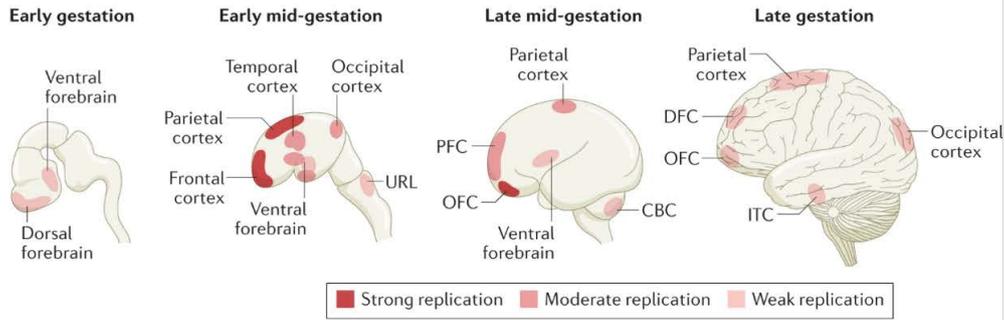
Genes relacionados con Autismo y Esquizofrenia. Relación entre el tamaño del efecto y la frecuencia de los alelos para los *loci* descubiertos en el trastorno del espectro autista o la esquizofrenia.

a,b) Los estudios sistemáticos de variantes raras y comunes han identificado loci de riesgo para el trastorno del espectro autista (TEA) y para la esquizofrenia, pero la trayectoria del descubrimiento difiere entre estas afecciones. En el TEA, la mayoría de los loci descubiertos hasta la fecha son genes y han sido identificados por estudios de secuenciación de todo el exoma de variantes codificantes raras, generalmente de novo, mientras que en la esquizofrenia la mayoría son polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y se han descubierto sobre la base de estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) de variantes comunes. Ninguno de estos genes (rojo) o SNP (verde azulado) se superponen entre el TEA y la esquizofrenia. Ambos trastornos tienen un número similar de loci asociados basados en variantes raras, generalmente de novo, del número de copias (CNV; puntos azules; para TEA, tasa de falso descubrimiento basado en permutación). En contraste con las variantes de codificación raras y las variantes comunes, la mayoría de las CNV superiores se superponen entre el TEA y la esquizofrenia. En general, las variantes raras conllevan riesgos relativos sustancialmente más altos que las variantes comunes.

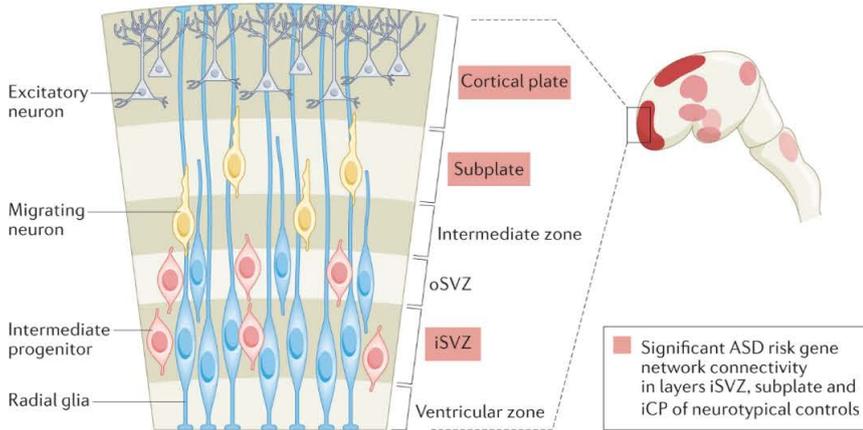
c) Las variantes dañinas de novo en los 26 genes de riesgo de TEA principales tienden a conllevar un mayor riesgo relativo que las variantes dañinas de novo dentro de los 7 genes de riesgo de esquizofrenia principales (se han identificado variantes dañinas de novo en solo 7 de los 10 genes de riesgo de esquizofrenia), lo que subraya la contribución particularmente grande de variantes raras al TEA.

d) La utilización de un umbral FDR conservador en lugar de un valor de P significativo en todo el exoma destaca 47 genes de riesgo de TEA de alta confianza, con riesgos relativos variables. En general, los genes más fuertemente asociados conllevan los mayores riesgos relativos. Las variantes dañinas consisten en variantes truncantes de proteínas (cambio de marco, aceptor de empalme canónico, donante de empalme canónico y variantes sin sentido) y variantes sin sentido 3 (Mis3). Los 26 genes identificados en el TEA tienen múltiples variantes dañinas de novo. Sin embargo, solo siete de cada diez genes identificados en la esquizofrenia tienen variantes de novo (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

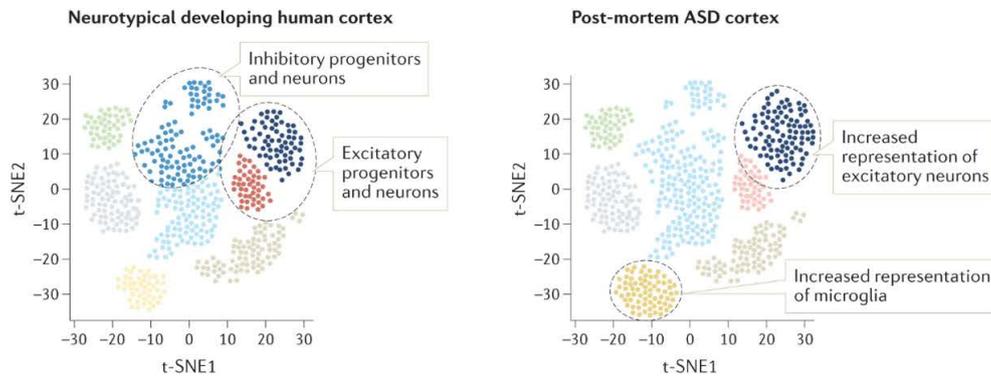
a Studies on neurotypical controls indicate points of convergence of ASD genetic risk (bulk tissue data)



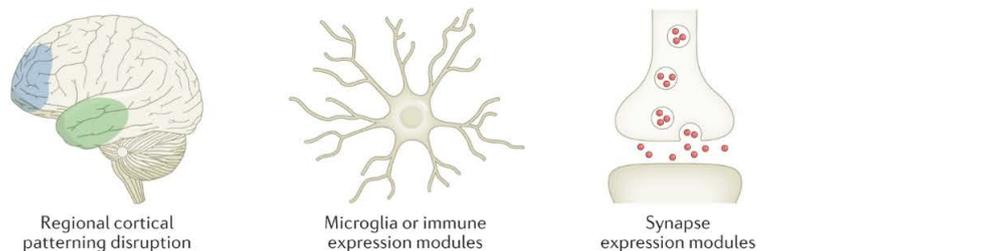
b ASD genetic risk may disrupt neurogenesis in midgestational cortex (dissected tissue data)



c ASD risk genes are differentially enriched in cell types of the human brain (single-cell data)



d Post-mortem human brains studies suggest differences in ASD (bulk tissue data)



Genopatogenia del Autismo

Willsey, H.R., Willsey, A.J., Wang, B. et al. Genomics, convergent neuroscience and progress in understanding autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci* 23, 323–341 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00576-7>



PERSONAS HIPERMUTANTES

Las mutaciones en la línea germinal generan toda la variación genética evolutiva y son una causa de enfermedad genética. La edad parental es el principal determinante del número de nuevas mutaciones germinales en el genoma de un individuo. **Joanna Kaplanis** y colegas del *Wellcome Sanger Institute* en el *Wellcome Genome Campus* de Hinxton, en Reino Unido, analizaron las secuencias de todo el genoma de 21 879 familias con enfermedades genéticas raras e identificaron 12 individuos con un genoma hipermutado con entre dos y siete veces más variantes *de novo* de un solo nucleótido de lo esperado. En la mayoría de las familias (9 de 12), el exceso de mutaciones provino del padre. Dos familias tenían impulsores genéticos de la hipermutación de la línea germinal, y los padres portaban una variación genética dañina en los genes de reparación del ADN. Para cinco de las familias, la exposición paterna a agentes quimioterapéuticos antes de la concepción fue probablemente un factor clave de la hipermutación. Estos resultados sugieren que la línea germinal está bien protegida de los efectos mutagénicos, la hipermutación es rara, el número de mutaciones excesivas es relativamente modesto y la mayoría de los individuos con un genoma hipermutado no tendrán una enfermedad genética grave.

Se estima que el número promedio de mutaciones *de novo* (DNM) que generan variantes de un solo nucleótido (SNV) es de 60 a 70 por genoma humano por generación, pero se sabe poco sobre individuos con hipermutación de la línea germinal con un número inusualmente grande de DNM. La tasa de mutación de la línea germinal humana

varía entre individuos, familias y poblaciones, y ha evolucionado con el tiempo. La edad de los padres explica una gran proporción de varianza para los SNV, las deleciones de inserción (indels) y las repeticiones cortas en tándem. Se ha estimado que hay un aumento de alrededor de 2 DNM por cada año adicional en la edad del padre y alrededor de 0.5 DNM por cada año adicional en la edad de la madre. También se han observado diferencias sutiles entre los espectros mutacionales materno y paterno y pueden ser indicativas de diferentes procesos mutagénicos. Diferentes mecanismos mutacionales pueden dejar distintos patrones mutacionales denominados "firmas mutacionales". Actualmente existen más de 100 firmas mutacionales somáticas que se han identificado en una amplia variedad de cánceres, de los cuales la mitad se han atribuido a procesos mutagénicos endógenos o mutágenos específicos. La mayoría de las mutaciones de la línea germinal pueden explicarse por dos de estas firmas, denominadas firma 1 (SBS1), probablemente debido a la desaminación de 5-metilcitosina, y firma 5 (SBS5), que se cree que es un proceso endógeno generalizado y relativamente parecido a un reloj. Ambas firmas son ubicuas entre los tipos de células normales y cancerosas y han sido reportadas previamente en estudios en trío. El impacto de los mutágenos ambientales ha sido bien establecido en el soma pero no se entiende tan bien en la línea germinal. Las exposiciones ambientales en los padres, como la radiación ionizante, pueden influir en el número de mutaciones transmitidas a la descendencia. Las tasas de mutación individuales también pueden verse influenciadas por los antecedentes genéticos. Con respecto a la mutación somática, se ha demostrado que miles de variantes

hereditarias de la línea germinal aumentan el riesgo de cáncer. Muchas de estas variantes se encuentran en genes que codifican componentes de vías de reparación del ADN que, cuando se deterioran, conducen a un aumento en el número de mutaciones somáticas. Sin embargo, no está claro si las variantes en los genes mutadores somáticos conocidos pueden influir en las tasas de mutación de la línea germinal. Hay ejemplos en los que se ha demostrado que los antecedentes genéticos afectan la tasa de mutación de la línea germinal local de repeticiones cortas en tándem, minisatélites y translocaciones.

El aumento de la tasa de mutación de la línea germinal se traduce en un mayor riesgo de que la descendencia nazca con un trastorno genético dominante. Se ha demostrado que los efectos a largo plazo de las diferencias de tasa de mutación como resultado de la acumulación de mutaciones en ratones tienen efectos sobre las tasas de reproducción y supervivencia y puede haber un impacto similar en humanos.

Poco se sabe acerca de los valores atípicos raros con tasas de mutación extremas. Los DNM son una causa sustancial de trastornos genéticos raros y las cohortes de pacientes con tales trastornos tienen más probabilidades de incluir individuos con hipermutación de la línea germinal.

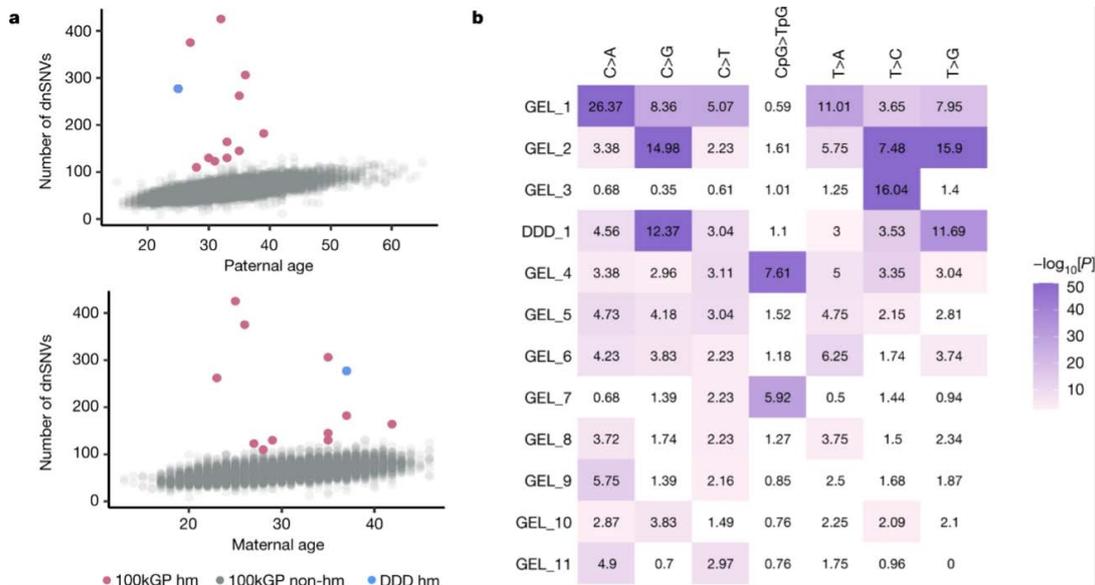
INDIVIDUOS CON HIPERMUTACIÓN DE LA LÍNEA GERMINAL

Kaplanis et al identificaron individuos con hipermutación de la línea germinal en dos cohortes separadas que comprenden tríos padre-descendencia: 7930 tríos secuenciados con exoma del estudio Descifrando Trastornos del Desarrollo (DDD) y 13 949 tríos secuenciados con genoma completo en el brazo de enfermedades raras del Proyecto Genoma 100 000 (100kGP). Seleccionaron nueve tríos del estudio DDD con el mayor número de DNM, dadas sus edades parentales, que posteriormente fueron secuenciados en el genoma completo para caracterizar los DNM en todo el genoma. En la cohorte de 100kGP, realizaron el filtrado de los DNMs, lo que resultó en un total de 903 525 SNVs *de novo* (dnSNVs) y 72 110 indels *de novo* (dnIndels). La mediana del número de DNM por individuo fue de 62 para dnSNV y 5 para dnIndels (mediana de edades paternas y maternas de 33 y 30 años).

Observaron un aumento en el número total de dnSNVs de 1.28 dnSNV por año de edad paterna y un aumento de 0.35 dnSNVs por año de edad materna. Se escalonaron 241 063 dnSNV y se encontró que el 77% eran de origen paterno. Las estimaciones del efecto de la edad parental en las mutaciones escalonadas fueron 1.23 dnSNV paternos por año de edad paterna y 0.38 dnSNV maternos por año de edad materna. La edad paterna y materna también se asociaron significativamente con el número de dnIndels: un aumento de 0.071 dnIndels por año de edad paterna y un aumento menor de 0.019 dnIndels por año de edad materna. Las proporciones de aumentos de mutaciones paternas a maternas por año fueron muy similares: 3.7 para los SNV y 3.8 para los indels. La proporción de DNMs que en fase paterna aumentó en 0.0017 por cada año de edad paterna. Sin embargo, la proporción de DNMs que se escalonan paternalmente en los padres más jóvenes se mantiene en torno a 0.75 y, por tanto, el efecto de la edad paterna por sí solo no explica del todo el fuerte sesgo paterno. Los DNM derivados de la madre tienen una proporción significativamente mayor de mutaciones C>T (0.27 maternas frente a 0.22 paternas), mientras que los DNM derivados por el padre tienen una proporción significativamente mayor de mutaciones C>A, T>G y T>C (C>A: 0.08 materna *versus* 0.10 paterna; T>G: 0.06 *versus* 0,7; T>C: 0.25 *versus* 0.26). La mayoría de las mutaciones paternas y maternas podrían explicarse por SBS1 y SBS5, con una contribución ligeramente mayor de SBS1 en mutaciones paternas (0.16 paternas frente a 0.15 maternas).

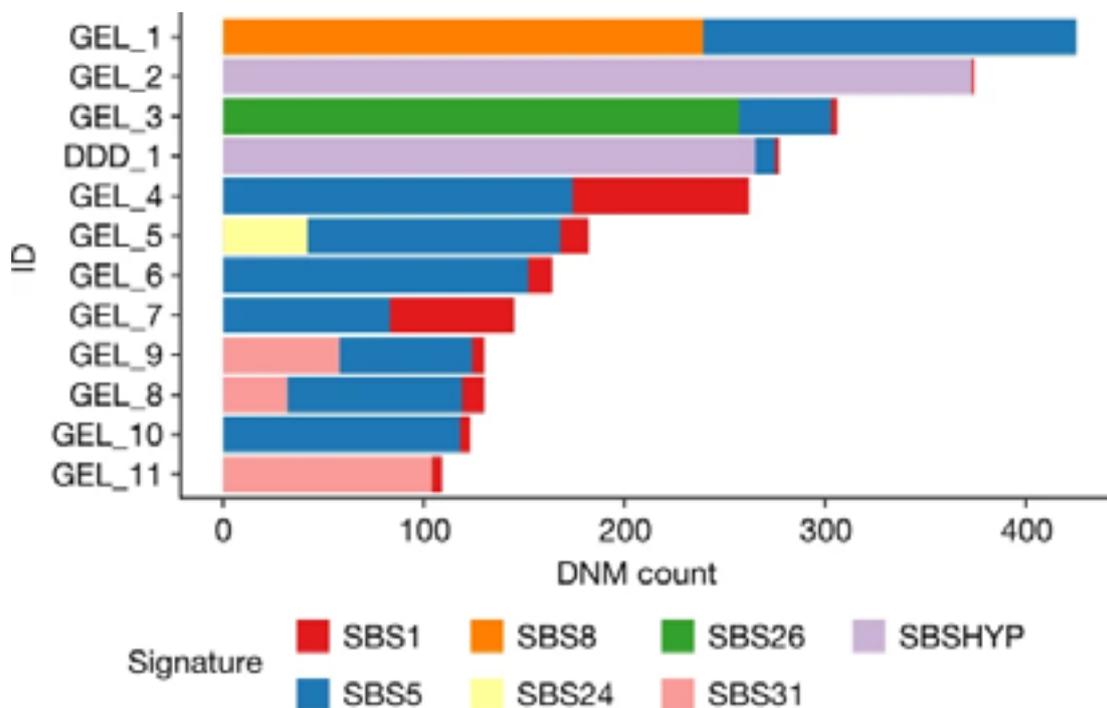
Se identificaron 12 individuos con hipermutación de la línea germinal después de tener en cuenta la edad de los padres: 11 de 100kGP y 1 de DDD. El número de dnSNV para cada uno de los 12 individuos con hipermutación varió de 110 a 425, lo que corresponde a un aumento de pliegues de 1.7-6.5 en comparación con el número medio de dnSNV por individuo. Dos de estos individuos también tuvieron un número significativamente mayor de dnIndels. Los espectros mutacionales a través de estos individuos con hipermutación variaron considerablemente.

Las tres fuentes potenciales de hipermutación de la línea germinal son defectos paternos en genes de reparación del ADN, exposición paterna a quimioterapéuticos y factores mutacionales postcigóticos.



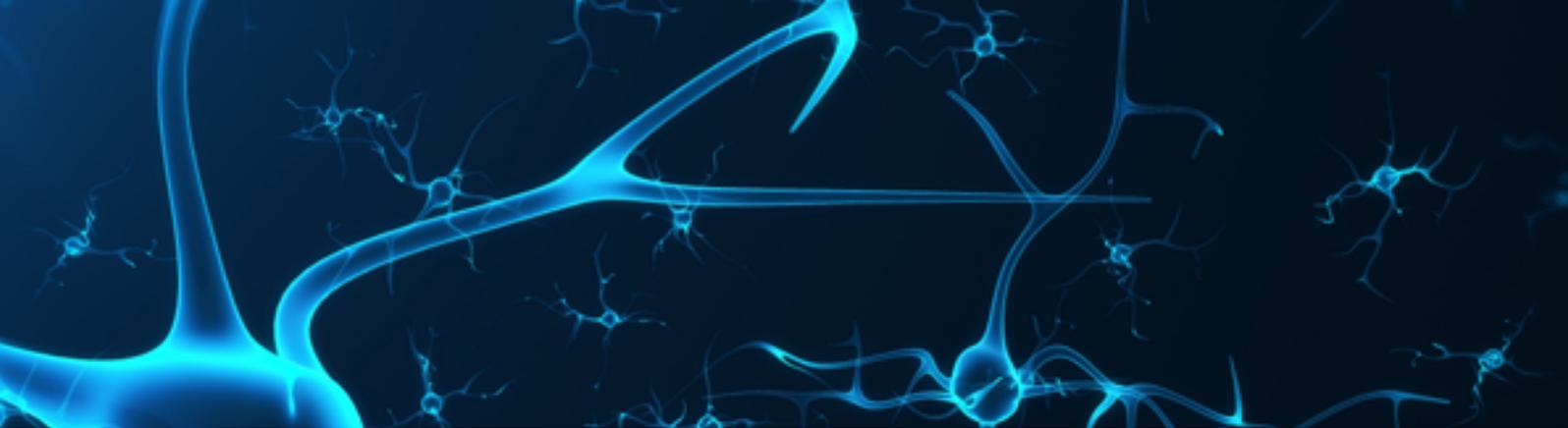
Identificación de individuos con hipermutación de la línea germinal.

- a. Edad paterna y materna versus el número de dnSNV. Se resaltan los individuos con hipermutación (hm) de la cohorte 100kGP (rosa) y los individuos con hipermutación de la cohorte DDD (azul).
- b. Enriquecimiento (observado/esperado) del tipo de mutación para individuos con hipermutación.



Firmas mutacionales en individuos con hipermutación de la línea germinal

Kaplanis, J., Ide, B., Sanghvi, R. et al. Genetic and chemotherapeutic influences on germline hypermutation. *Nature* 605, 503–508 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04712-2>.



BASES METABÓLICAS DE LA EPILEPSIA

El cerebro es un órgano altamente exigente de energía y requiere adaptabilidad bioenergética para equilibrar la actividad normal con el combustible fisiopatológico de las convulsiones recurrentes espontáneas, la característica distintiva de las epilepsias. Desde hace mucho tiempo se sabe que las convulsiones recurrentes o prolongadas alteran permanentemente los circuitos neuronales y causan lesiones excitotóxicas e inflamación aberrante. Además, los cambios patológicos en la bioenergética y el metabolismo se consideran consecuencias posteriores de las convulsiones epilépticas que comienzan a nivel sináptico. Los trastornos primarios en el metabolismo celular o mitocondrial pueden dar lugar a la génesis de las convulsiones y conducir a convulsiones recurrentes espontáneas. La investigación básica y traslacional indica que las relaciones entre el metabolismo cerebral y las convulsiones epilépticas son complejas y bidireccionales, produciendo un círculo vicioso que agrava las consecuencias perjudiciales de las convulsiones. Los tratamientos basados en el metabolismo, como la dieta cetogénica alta en grasas y anticonvulsivos, se han convertido en la corriente principal, y los sustratos metabólicos y las enzimas se han convertido en objetivos moleculares atractivos para la prevención y recuperación de las convulsiones. Además, dado que el metabolismo es crucial para los cambios epigenéticos e inflamatorios, la idea de que la epileptogénesis puede estar influenciada negativa y positivamente por los cambios metabólicos está ganando terreno rápidamente.

Jong M. Rho, del Departamento de Neurociencias de la Universidad de California en San Diego, y

Detlev Boison, del Departamento de Neurocirugía de la *Robert Wood Johnson Medical School* en la *Rutgers University* de Piscataway, New Jersey, han realizado un magnífico estudio que concluye lo siguiente: (i) Las convulsiones epilépticas inducen trastornos generalizados en el metabolismo celular y mitocondrial, así como en el flujo sanguíneo cerebral; (ii) Los defectos primarios en los genes que codifican proteínas mitocondriales y/o sustratos metabólicos y enzimas pueden aumentar la excitabilidad de la red neuronal y glial; (iii) La homeostasis y la función metabólica cerebral se pueden ver como una interacción entre la circulación cerebral, la glía y las neuronas, también conocida como la unidad neurovascular; (iv) La epilepsia puede ser vista como una enfermedad metabólica, y los mecanismos primordiales evocados por compuestos como la adenosina podrían ser muy relevantes para las convulsiones y la epileptogénesis; (v) Los tratamientos basados en el metabolismo, como la dieta cetogénica alta en grasas y sus variantes, pueden ayudar a restaurar la homeostasis metabólica y permitir el control de las convulsiones; (vi) Como las terapias dietéticas a menudo pueden controlar las convulsiones en individuos con epilepsia médicamente intratable, se deben explorar terapias experimentales basadas en objetivos metabólicos.

La epilepsia es un trastorno neurológico común que puede ocurrir a cualquier edad y tiene una prevalencia mundial de aproximadamente el 1% en la población general. Las convulsiones recurrentes espontáneas (SRS), el sello distintivo definitorio de la epilepsia, se han relacionado con el aumento de la excitabilidad neuronal y la hipersincronía, y a menudo

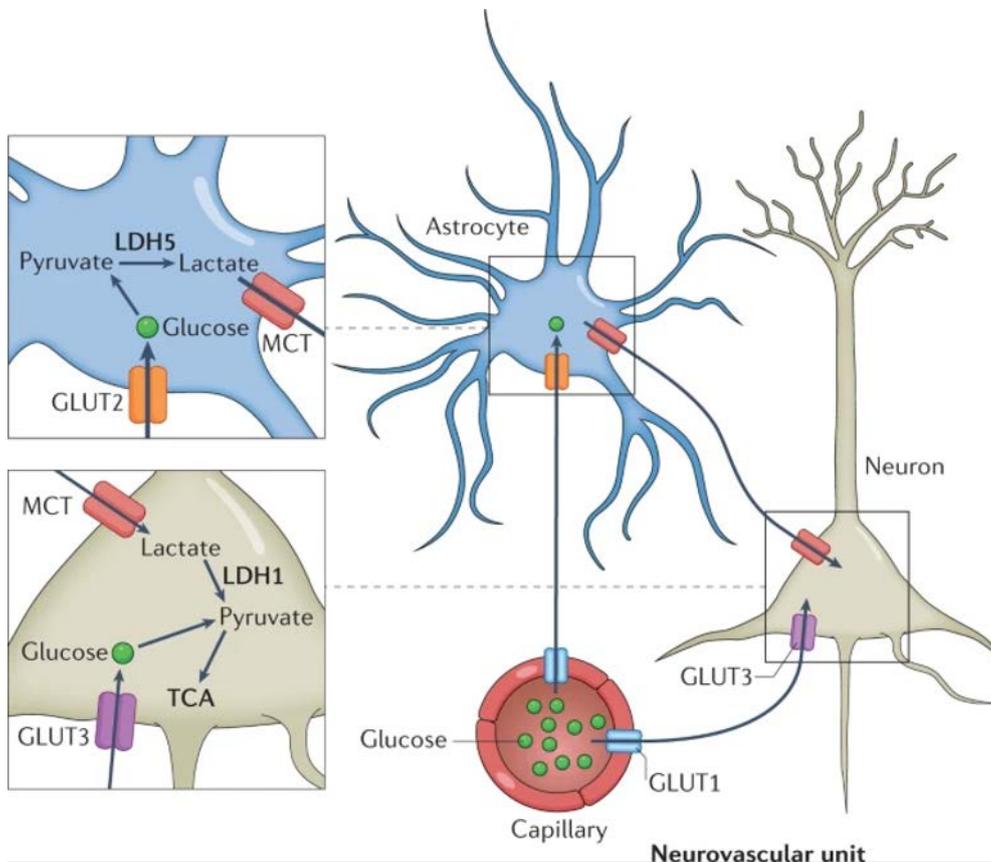
son el resultado de insultos genéticos u otros insultos cerebrales, cuyos efectos se modifican por factores ambientales. Independientemente de la etiología, la epilepsia crea una alta necesidad de energía en el cerebro para iniciar el inicio de las convulsiones (ictogénesis), para mantener una actividad convulsiva prolongada, para promover la recuperación de las convulsiones y para reparar el daño. De hecho, sin suficiente ATP, la moneda de energía universal de la vida, producida principalmente por las mitocondrias, sería imposible regenerar los potenciales de membrana que se necesitan para permitir la actividad epileptiforme. Por el contrario, los tratamientos metabólicos como la dieta cetogénica, que aumenta el combustible para el cerebro en forma de cuerpos cetónicos, son especialmente adecuados para prevenir las convulsiones y ayudar a la recuperación después de una convulsión.

Desde hace tiempo se sabe que el SRS y las convulsiones prolongadas, como el status epiléptico, inducen aberraciones secundarias en la bioenergética celular y el metabolismo. Estas aberraciones incluyen lesiones mediadas por glutamato y mediadas por radicales libres, neuroinflamación e interrupciones generalizadas en los mecanismos homeostáticos cerebrales. Sin embargo, menos apreciada es la observación de que los defectos inherentes al metabolismo energético cerebral, ya sea como resultado de mutaciones en genes que codifican proteínas mitocondriales o sustratos metabólicos y enzimas que constituyen vías bioquímicas importantes o de inestabilidad redox o cambios epigenéticos, pueden precipitar convulsiones de forma independiente. Independientemente de los eventos o causas incitantes, la actividad convulsiva se caracteriza por un círculo vicioso de trastornos metabólicos y daño excitotóxico al cerebro, lo que agrava aún más los mecanismos fundamentales que generan excitabilidad e inestabilidad aberrantes de la red.

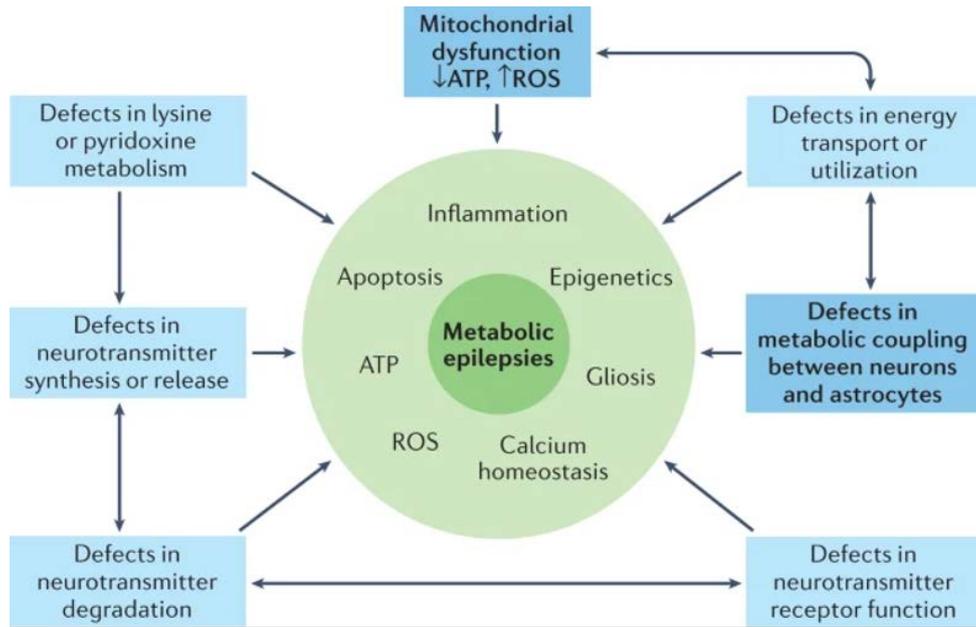
El pilar de la terapéutica de la epilepsia es el creciente arsenal de medicamentos anticonvulsivos (MAPE), la mayoría de los cuales están diseñados para dirigirse a los canales iónicos y transportadores unidos a la membrana celular para reducir la excitación y/o aumentar la neurotransmisión inhibitoria a nivel sináptico. Aunque se ha demostrado que las MAPE controlan el SRS en la mayoría de los pacientes con epilepsia (peronosin efectos adversos potencialmente graves), las convulsiones siguen siendo médicamente intratables en aproximadamente un tercio de los casos. A pesar de décadas de investigación básica y traslacional de la epilepsia y la aprobación de

docenas de nuevos fármacos para uso clínico, la proporción relativa de esta población refractaria se ha mantenido sin cambios, probablemente en parte porque el desarrollo de fármacos para la epilepsia se ha basado tradicionalmente en modelos de convulsiones provocadas agudamente que no recapitulan fielmente los cambios fisiopatológicos observados en la epilepsia crónica, y se ha centrado principalmente en dianas moleculares localizadas en la membrana celular neuronal. Algunos de los agentes farmacológicos actuales en uso clínico y en desarrollo parecen tener nuevos mecanismos de acción, como la unión a la proteína 2A de la vesícula sináptica y la inhibición del colesterol 24-hidroxilasa. Además, el uso de modelos de epilepsia crónica en el proceso de cribado para el desarrollo preclínico de MAPE está aumentando constantemente. Sin embargo, es importante destacar que las dianas metabólicas han comenzado recientemente a llamar la atención en el campo de la terapéutica experimental de la epilepsia.

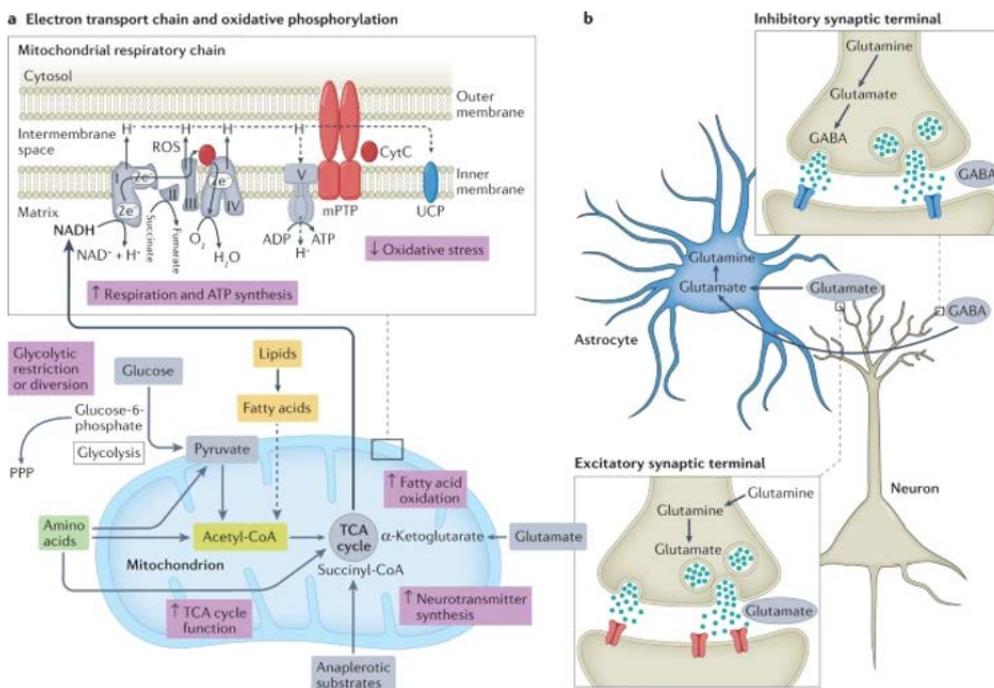
La dieta cetogénica alta en grasas y baja en carbohidratos de un siglo de antigüedad, el tratamiento basado en el metabolismo mejor establecido para la epilepsia, proporciona la evidencia más sólida de que la orientación de la bioenergética cerebral y el metabolismo puede mitigar la actividad convulsiva, especialmente en pacientes que no responden a los MAPE. Las variaciones exitosas de la dieta cetogénica, como la dieta de triglicéridos de cadena media, la dieta Atkins modificada y el tratamiento de bajo índice glucémico (LGIT), han proporcionado una validación adicional basada en las evidencias de las terapias metabólicas y dietéticas para el espectro de epilepsias encontradas en la práctica clínica. Aunque los mecanismos fundamentales que subyacen a la eficacia anticonvulsiva de tales tratamientos siguen sin estar claros, se están acumulando evidencias de que los enfoques metabólicos derivados de estas dietas pueden tener efectos neuroprotectores, y tal vez incluso modificadores de la enfermedad.



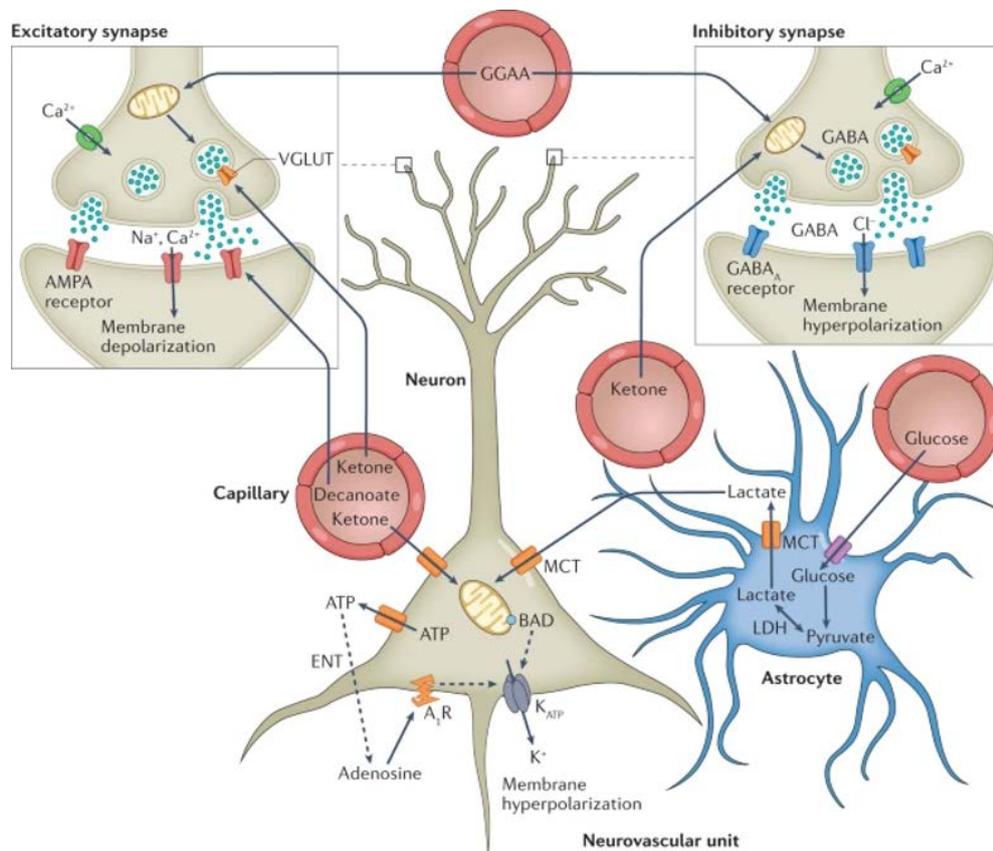
Transbordador Astrocito-Neuronal. La hipótesis del transbordador de lactato astrocito-neurona se formuló para explicar cómo los astrocitos controlan el acoplamiento neurometabólico. La glucosa es absorbida de la circulación periférica por transportadores de glucosa (GLUTs), que se localizan diferencialmente en diferentes elementos de la unidad neurovascular tripartita. GLUT1 es el principal transportador de glucosa de astrocitos, mientras que en las neuronas las principales isoformas son GLUT2 y GLUT3. La glucosa se metaboliza a piruvato a través de la vía glucolítica y luego se convierte en lactato por la lactato deshidrogenasa (LDH), que también existe como isoformas distintas, con LDH1 y LDH5 mostrando una expresión robusta en neuronas y astrocitos, respectivamente. El lactato no puede difundirse pasivamente por su gradiente de concentración a través de la barrera hematoencefálica y debe transportarse a través de transportadores de ácido monocarboxílico (MCT). El lactato generado en los astrocitos se transporta a las neuronas y posteriormente se convierte en piruvato, que luego entra en el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) para generar energía.



Principales mecanismos asociados a epilepsia metabólica

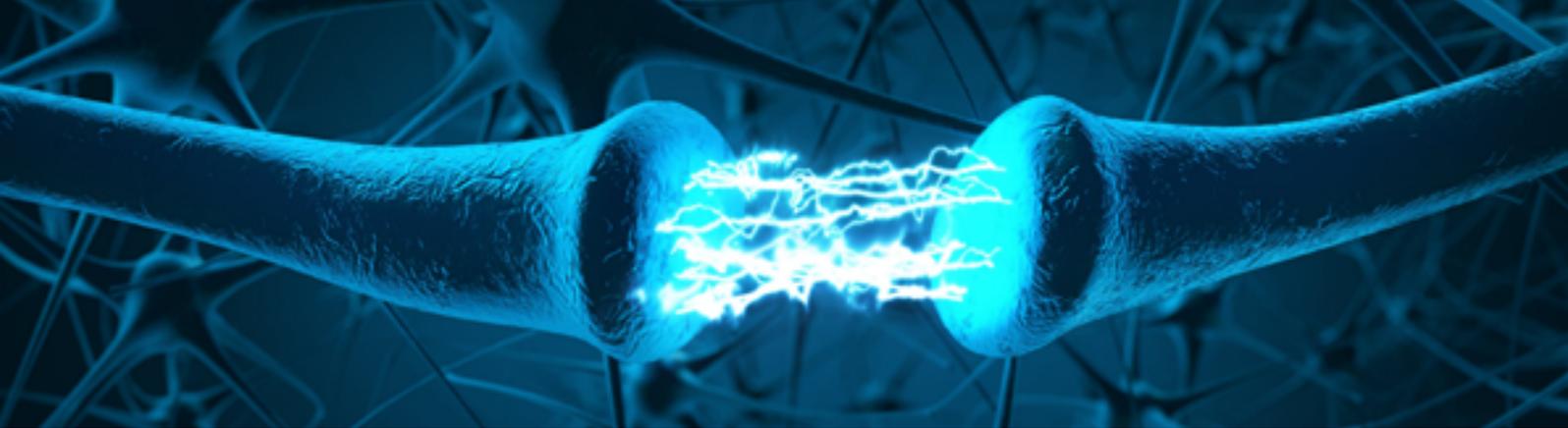


Rutas Bioquímicas y Mitochondria



Unidad Neurovascular. Esquema de la unidad neurovascular (neurona, astrocito y microvasculatura) y vistas ampliadas de sinapsis centrales excitatorias e inhibitorias prototípicas. Los cuerpos cetónicos pueden competir directamente con el sitio regulador del anión cloruro de los transportadores vesiculares de glutamato (VGLUTs) para prevenir la liberación presináptica de glutamato. El decanoato, un triglicérido de cadena media C10, puede inhibir los receptores AMPA postsinápticos de manera similar al medicamento anticonvulsivo perampanel. Las cetonas también pueden servir como sustrato para la producción de glutamato en terminales presinápticos inhibitorios, lo que aumenta la síntesis de GABA a través de la descarboxilasa del ácido glutámico, mejorando así la neurotransmisión inhibitoria. Además, las cetonas mejoran la producción de ATP mitocondrial. Cuando el ATP se libera en el espacio extracelular a través de los canales de panexina, se degrada a adenosina a través de una nucleotidasa equilibrante (ENT). A su vez, la adenosina puede unirse a los receptores inhibitorios de adenosina tipo 1 (A₁R) de manera autocrina para limitar la excitabilidad de la membrana. Probablemente a través de este mecanismo, las cetonas pueden activar indirectamente los canales de potasio sensibles al ATP (K_{ATP}), que inducen la hiperpolarización de la membrana. Además, el aumento de la actividad de la membrana podría agotar los niveles de ATP en la proximidad o subyacente a los canales K_{ATP}, lo que disminuiría la relación ATP a ADP y activaría estos canales inhibitorios. Los canales K_{ATP} también pueden ser regulados indirectamente por el agonista de la muerte celular (BAD) asociado a Bcl2, una proteína que cumple una doble función como factor proapoptótico y modulador de la glucólisis. La glucosa transportada a los astrocitos se descompone para producir piruvato, que se puede convertir en lactato a través de la lactato deshidrogenasa (LDH). La inhibición de la LDH (por ejemplo, por el estiripentol) produce efectos anticonvulsivos. Las alteraciones inducidas por la dieta cetogénica en el microbioma intestinal disminuyen los niveles sanguíneos de aminoácidos γ -glutamilo (GGAA), lo que resulta en cambios en la producción de glutamato y GABA, específicamente, un aumento en la proporción de GABA a glutamato.

Rho, J.M., Boison, D. The metabolic basis of epilepsy. *Nat Rev Neurol* 18, 333-347 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00651-8>.



DEMENCIAS RÁPIDAMENTE PROGRESIVAS

Las demencias rápidamente progresivas (Rapid Progressive Dementias, RPD) son un grupo de trastornos heterogéneos que incluyen encefalopatías inmunomediadas, infecciosas y metabólicas, así como enfermedades priónicas y presentaciones atípicamente rápidas de enfermedades neurodegenerativas más comunes. Algunas de estas afecciones son tratables, y algunas deben diagnosticarse con prontitud debido a su posible infectividad. La enfermedad priónica se considera la RPD prototípica, pero en las últimas dos décadas, los informes epidemiológicos y la identificación de varios anticuerpos mediadores de encefalitis han llevado a un creciente reconocimiento de otras encefalopatías como posibles causas de rápido deterioro cognitivo. El conocimiento de las etiologías, síndromes y protocolos de diagnóstico de RPD ayudará a los médicos a establecer un diagnóstico temprano y preciso, reduciendo así la morbilidad y la mortalidad, especialmente en las demencias inmunomediadas y otras demencias potencialmente reversibles.

En un excelente análisis de las RPDs, **Peter Hermann**, del Departamento de Neurología, del *Clinical Dementia Center and National Reference Center for CJD Surveillance*, en el Centro Médico de la Universidad de Göttingen en Alemania, y su colega **Inga Zerr**, de su mismo departamento y del *German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE)* en Göttingen, realizan las siguientes generalizaciones: (i) Las definiciones de demencia rápidamente progresiva (RPD) varían según los antecedentes etiológicos y se relacionan con la velocidad del deterioro cognitivo, el tiempo desde el primer síntoma hasta el síndrome de demencia y/o la supervivencia general; (ii) La RPD puede ocurrir en enfermedades neurodegenerativas de progresión rápida, como las enfermedades

priónicas, o en enfermedades principalmente progresivas lentamente como consecuencia de factores intrínsecos o patologías concomitantes; (iii) Además de las enfermedades neurodegenerativas, las enfermedades inflamatorias (inmunomediadas e infecciosas), vasculares, metabólicas y neoplásicas del SNC son causas importantes y frecuentes de RPD; (iv) Para identificar las causas tratables de la RPD, el estudio de diagnóstico técnico debe incluir resonancia magnética y análisis de sangre y líquido cefalorraquídeo, y se pueden indicar diagnósticos adicionales en casos poco claros; (v) Las opciones terapéuticas para muchas causas no neurodegenerativas de RPD ya están disponibles. Las terapias modificadoras de la enfermedad para las RPD neurodegenerativas son un foco importante de la investigación actual y podrían convertirse en una opción de tratamiento en un futuro próximo.

El término "demencia rápidamente progresiva" (RPD) se usa comúnmente para describir un trastorno cognitivo con progresión rápida que conduce al síndrome clínico de demencia, según lo definido por el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, dentro de un período de tiempo relativamente breve, que comúnmente se considera inferior a 1 o 2 años. Esta definición bastante vaga abarca un gran grupo de trastornos heterogéneos, incluidas las encefalopatías inmunomediadas, infecciosas y metabólicas, así como las enfermedades priónicas y las presentaciones atípicamente rápidas de otras enfermedades neurodegenerativas. Como la RPD es una de las características clínicas típicas de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) y ha sido durante mucho tiempo parte de los criterios diagnósticos para esta afección, las enfermedades priónicas se han considerado RPD prototípicas. Sin embargo, el creciente reconocimiento de la encefalitis inmunomediada, los subtipos rápidamente

progresivos de demencias clásicas como la enfermedad de Alzheimer (EA) y otros imitadores de enfermedades priónicas exigen una consideración exhaustiva de los diagnósticos diferenciales, especialmente las condiciones potencialmente reversibles. Además, la posible infectividad de algunas enfermedades subyacentes a la RPD, como el VIH o las enfermedades priónicas, debe considerarse como una cuestión de salud pública.

Uno de los primeros artículos científicos en mencionar la RPD, publicado en la década de 1950, describió este trastorno en el contexto de las enfermedades desmielinizantes. En los años intermedios, la RPD se ha reconocido cada vez más como un síndrome clínico distinto que ocurre en demencias atípicas (no EA), enfermedades priónicas humanas y trastornos relacionados que se consideran en el diagnóstico diferencial de estas afecciones. Aunque las definiciones generales consideran menos de 1 o 2 años como el lapso de tiempo desde el primer síntoma relacionado con la enfermedad hasta el desarrollo del síndrome de demencia, algunas causas de RPD, como la encefalitis o las encefalopatías metabólicas, pueden conducir a la demencia en cuestión de semanas. Además, se han propuesto definiciones particulares de RPD en enfermedades neurodegenerativas, utilizando la duración total de la enfermedad o medidas para la velocidad del deterioro cognitivo, como los cambios en las puntuaciones del Mini-Mental State Examination (MMSE) en la EA de rápida progresión (rpAD).

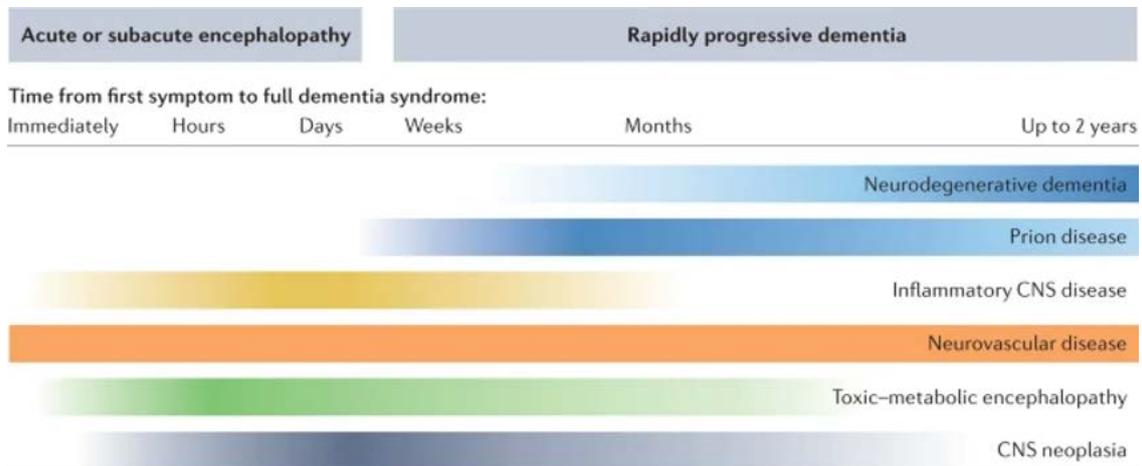
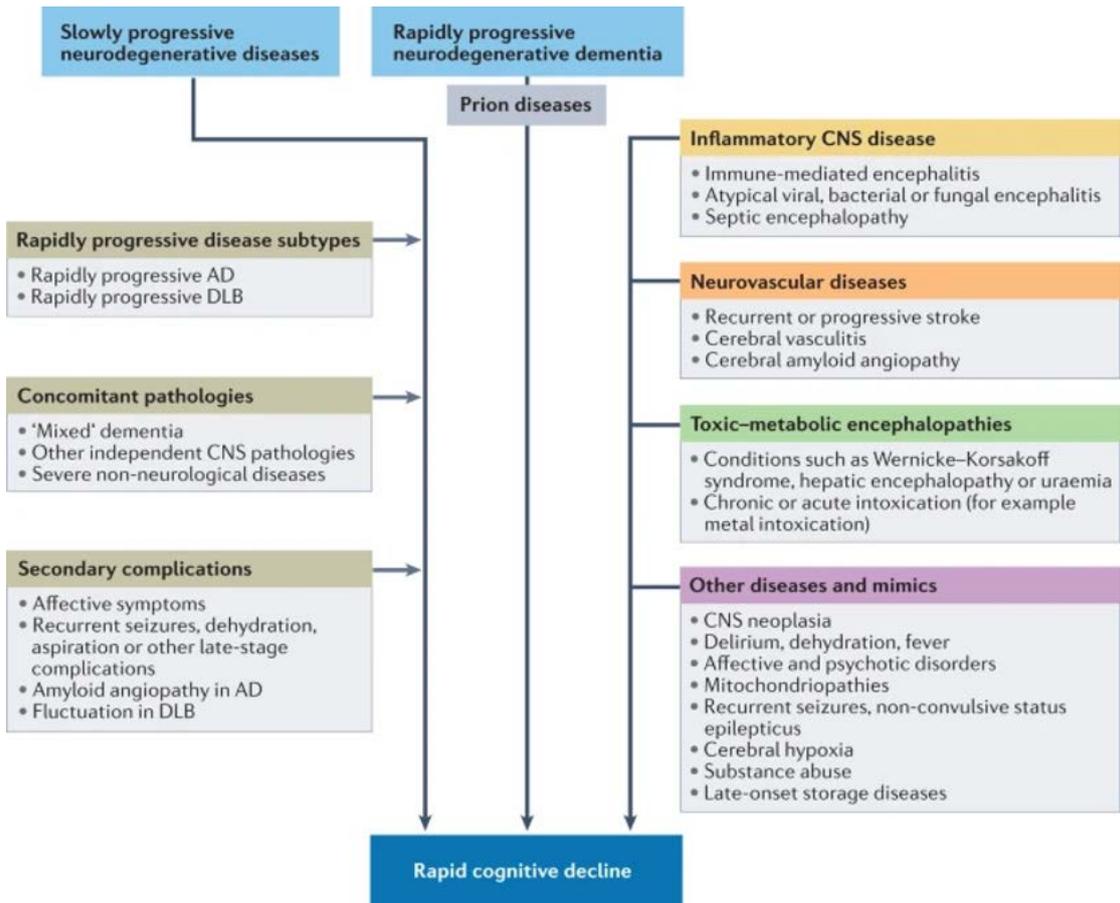
La incidencia general de RPD es difícil de determinar o incluso de estimar, y los datos son escasos. Según un estudio brasileño de un centro de atención terciaria, el 3.7% de todos los pacientes remitidos a una unidad neurológica durante 3 años fueron diagnosticados con RPD. En otros estudios de un solo centro, alrededor de una cuarta parte de los pacientes hospitalizados con demencia se clasificaron como RPD (24% en Grecia y 27% en India). La cuantificación de la prevalencia o incidencia de la RPD depende de su definición, del tipo de centro evaluador y, probablemente, también de las características demográficas de la población. Los análisis de la carga mundial de morbilidad han demostrado que 43.8 millones de personas vivían con demencia en 2016. Suponiendo que un porcentaje sustancial de estos pacientes presentaron RPD, el síndrome tiene una relevancia clínica extremadamente alta.

La progresión rápida de la enfermedad en los síndromes de demencia se puede clasificar aproximadamente como primaria o secundaria. La progresión rápida primaria de la enfermedad ocurre en enfermedades priónicas, tipos rápidamente progresivos de otras demencias neurodegenerativas, encefalitis y otras enfermedades que generalmente causan lesiones neuronales graves en un período de tiempo relativamente breve. La progresión

rápida secundaria de la enfermedad puede ocurrir principalmente en enfermedades del SNC progresivas que cursan lentamente como consecuencia de complicaciones (p.e., convulsiones) o en presencia de patologías concomitantes del SNC (p.e., EA con enfermedad cerebrovascular o enfermedad por cuerpos de Lewy). Las patologías graves no relacionadas con el SNC pueden contribuir a la lesión neuronal, a la impresión clínica general (p.e., dolor, disnea o neoplasia) o a la reducción de los tiempos de supervivencia.

La distribución de diferentes etiologías de RPD ha sido evaluada en varios estudios de centros especializados y terciarios, y las frecuencias observadas son altamente dependientes del diseño del estudio. Según datos de los centros de referencia de ECJ, las enfermedades priónicas representaron el 53-76% de los casos en las series de autopsias, frente al 34% en un estudio multicéntrico longitudinal que utilizó datos de autopsia o criterios diagnósticos clínicos que incluyeron análisis de EEG, RM y líquido cefalorraquídeo (LCR). Entre los individuos sin enfermedad priónica, la EA fue el diagnóstico diferencial más frecuente (16-51%), y las afecciones potencialmente tratables como la encefalitis (8-21%) o las encefalopatías tóxicas-metabólicas (1-10%) fueron menos comunes. Por el contrario, en un estudio más pequeño y reciente, las enfermedades inflamatorias (inmunomediadas e infecciosas) y cerebrovasculares fueron los diagnósticos diferenciales más importantes para la ECJ. Aunque estos números pueden reflejar las etiologías de la RPD hasta cierto punto, deben interpretarse con cautela. Los estudios incluyeron pacientes con sospecha de ECJ y no se basaron en la presencia de un síndrome de RPD solo. En estudios retrospectivos de centros terciarios, sólo del 8% al 31% de los síndromes RPD referidos fueron causados por enfermedades priónicas. En estos estudios, las enfermedades inflamatorias del SNC (35-66%) y las enfermedades neurodegenerativas (28-47%) fueron los diagnósticos diferenciales más frecuentes. Estas discrepancias podrían atribuirse a diferencias en el diseño del estudio, el tipo de centro de referencia o el sistema de atención médica, o a una mayor conciencia de la encefalitis inmunomediada como una causa potencial de RPD a lo largo de los años.

A pesar de las diversas advertencias, estos datos resaltan la importancia de considerar etiologías potencialmente reversibles y condiciones reversibles superpuestas en el diagnóstico diferencial de RPD. La diferenciación clínica entre enfermedades verdaderamente progresivas, enfermedades monofásicas y eventos recurrentes que pueden conducir a un rápido deterioro cognitivo puede ser un desafío. Las afecciones que generalmente muestran inicio inmediato o progresión gradual pueden imitar otras RPD y se consideran con frecuencia en el diagnóstico diferencial.



Hermann, P., Zerr, I. Rapidly progressive dementias – aetiologies, diagnosis and management. *Nat Rev Neurol* 18, 363–376 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00659-0>



MECANISMOS DE HERENCIA EPIGENÉTICA TRANSGENERACIONAL

La secuencia de ADN es la base de la información genética para la vida. Sin embargo, su correcta implementación requiere otro nivel de información, en forma de señales regulatorias. El estudio de estas señales se conoce como 'epigenética', un término acuñado originalmente por **Conrad Waddington** en 1942, que desde entonces ha sufrido varias redefiniciones. En una reciente revisión, **Maximilian H. Fitz-James** y **Giacomo Cavalli**, del *Institute of Human Genetics* en la Universidad de Montpellier, consideran que la epigenética denota "el estudio de moléculas y mecanismos que pueden perpetuar estados alternativos de actividad génica en el contexto de la misma secuencia de ADN". Esta definición abarca aquellas señales moleculares periféricas al ADN que generalmente se conocen como epigenéticas, como la metilación del ADN o la modificación de las histonas, así como las señales reguladoras de genes descubiertas más recientemente, como la organización del genoma 3D. También incluye tanto la herencia mitótica de estas señales como la herencia a través de generaciones.

Hace décadas se mostraron ejemplos de herencia epigenética a través de generaciones en hongos y animales, pero no estaba claro si este tipo de herencia estaba muy extendida, particularmente en mamíferos. Cuando se habla de herencia epigenética, es importante distinguir entre herencia "intergeneracional" y "transgeneracional". La herencia intergeneracional ocurre cuando un organismo en el que se desencadena un cambio, por ejemplo por un estímulo ambiental, transmite este cambio a su descendencia inmediata. Sin embargo, las observaciones aparentes de tal herencia a corto plazo no implican necesariamente la transmisión de una señal epigenética. En primera instancia, un cambio epigenético puede desencadenarse solo

en el padre, teniendo un efecto diferente en su línea germinal, que luego se manifiesta en la descendencia pero posteriormente se pierde.

Alternativamente, el cambio puede desencadenarse directamente pero por separado tanto en los padres como en los hijos. De hecho, la exposición del padre implica la exposición de la línea germinal del padre, que incluye las células que producirán la próxima generación. Por lo tanto, en cierto sentido, la descendencia también estuvo directamente expuesta al estímulo. Para que un cambio epigenético sea transgeneracional debe heredarse más allá del punto en el que el individuo que lo porta tuvo contacto directo con la señal ambiental, demostrando que la señal epigenética se está manteniendo en ausencia de este estímulo. En los mamíferos, esto significa herencia a partir de la generación F2 si el progenitor macho estuvo expuesto, o el F3 si el progenitor hembra estuvo expuesto (dado que la exposición de una hembra embarazada también resulta en la exposición de la línea germinal de su feto).

El cambio epigenético puede surgir en un individuo esporádicamente o por exposición a algún estímulo ambiental. Si este cambio se transmite a la siguiente generación, se convierte en una marca epigenética heredable. La herencia en la descendencia inmediata del individuo en el que surgió el cambio se denomina "intergeneracional". En ratones, esto corresponde a la herencia en la generación F1 para un padre macho expuesto o en las generaciones F1 y F2 para una hembra expuesta. Esto se debe a la exposición no solo del ratón individual, sino también de su línea germinal y, potencialmente, en el caso de la hembra, de la línea germinal de su descendencia por nacer. Más allá de estas primeras generaciones se pierden muchas señales epigenéticas, y la herencia no pasa

de la etapa intergeneracional. En algunos casos, sin embargo, la señal se mantiene en las generaciones F2/F3 y más allá. Pasado este punto, se denomina herencia epigenética "transgeneracional", porque la señal epigenética se mantiene incluso en ausencia del estímulo inicial o desencadenante epigenético.

Existe abundante evidencia de herencia epigenética intergeneracional, pero la relevancia de la herencia epigenética transgeneracional (TEI), aunque propuesta desde hace mucho tiempo, ha sido más controvertida, particularmente en mamíferos. Esto se debe en parte a la dificultad de demostrar que las diferencias fenotípicas son de origen epigenético, no genético. Es solo relativamente reciente que los avances técnicos junto con estudios cuidadosamente controlados, principalmente en organismos modelo, han proporcionado evidencias sólidas para TEI y una visión de sus mecanismos moleculares.

Las implicaciones de estos hallazgos son de gran alcance y requieren una reevaluación de la contribución relativa de la epigenética y la genética al fenotipo. Para ello, algunos estudios ya han revelado factores epigenéticos hereditarios en enfermedades como el cáncer y la obesidad. Un principio importante de la biología evolutiva es que la información genética es la base última para la selección. Sin embargo, se ha propuesto que las "epimutaciones" pueden contribuir a la supervivencia a corto plazo en un entorno cambiante, o representar precursores de mutaciones genéticas posteriores.

METILACIÓN DEL ADN

La adición covalente de un grupo metilo a un nucleótido de ADN es una marca epigenética bien conocida. Su mecanismo de transmisión es la metilación de la citosina en dinucleótidos CpG. Aunque está presente en especies de invertebrados y hongos, es en vertebrados y plantas donde la metilación del ADN tiene el papel más destacado en la regulación transcripcional y, por lo tanto, el mayor potencial para contribuir a los fenotipos heredados transgeneracionalmente.

Dos ejemplos clásicos de herencia epigenética en ratones son los alelos *agouti* viable amarillo (A_{vy}) y *axina fusionado* (A_{xinFu}). Ambos son los llamados epialelos metaestables: alelos que se expresan de manera variable en individuos genéticamente idénticos. La expresión variable de ambos alelos resulta de la inserción de retrotransposones de la familia de partículas A intracisternales (IAP) adyacentes a un gen, lo que resulta en niveles de metilación de CpG que varían considerablemente entre individuos, mientras que permanecen relativamente constantes entre los tejidos de un

solo individuo. Esta variación conduce a un fenotipo de color de pelaje en ratones A_{vy} y un fenotipo de "torcedura de cola" en ratones A_{xinFu}, los cuales pueden heredarse a través de generaciones. Un cribado exhaustivo de otros epialelos metaestables similares a A_{vy} y A_{xinFu} identificó 87 IAP candidatos metilados de forma variable.

En contraste con los pocos ejemplos confirmados en mamíferos, la participación de la metilación de CpG en la herencia epigenética en las plantas es más generalizada, y de hecho es uno de los casos más claros de TEI. Se ha encontrado que las poblaciones naturales de *Arabidopsis thaliana*, por ejemplo, varían mucho en su metilación de citosina, con dos accesiones cualesquiera que difieren entre sí entre 90 000 y 500 000 posiciones diferencialmente metiladas. Curiosamente, estos individuos tienen perfiles de metilación drásticamente diferentes, que pueden mantenerse hasta al menos la generación F8.

Muchos casos sorprendentes de variación fenotípica en varias especies de plantas se han atribuido a la metilación del ADN heredable. Se encontró que la variación de la metilación natural del ADN en el *locus* de *Lcyc* en la especie *Linaria vulgaris* se correlaciona directamente con la morfología de la flor, lo que resulta en simetría bilateral o radial. En los tomates, la metilación del promotor del gen *LeSPL-CNR* da como resultado una expresión reducida y frutos incoloros y no madurantes.

El ADN se metila principalmente en las citosinas de los dinucleótidos CpG en la mayoría de los organismos, aunque también se produce la metilación de CHG y CHH (donde H es A, T o C), especialmente en plantas. Esta modificación es catalizada inicialmente por una 'metiltransferasa *de novo*', que añade un grupo metilo a la citosina en la posición 5' del anillo de pirimidina. Cómo y cuándo se dirige esta metilación *de novo* varía entre los organismos. En los vertebrados, las enzimas ADN metiltransferasa 3 (DNMT3) *de novo* son más activas durante dos etapas clave de desarrollo, la gametogénesis y la etapa preimplantacional, para establecer nuevos patrones de metilación después de la reprogramación. En las plantas, la metilación *de novo* se produce por una vía de metilación del ADN dirigida por ARN en concierto con la pequeña vía de ARN interferente (siRNA). Su momento en el desarrollo es más complejo y ocurre en una variedad de etapas.

La naturaleza simétrica del dinucleótido CpG proporciona un mecanismo simple por el cual su metilación se puede mantener a través de la división celular. Tras la replicación, las hebras parentales metiladas se separan y las nuevas hebras hijas no metiladas se sintetizan a partir de su plantilla,

de modo que las moléculas de ADN de doble cadena resultantes se metilan asimétricamente. Una 'metiltransferasa de mantenimiento' (DNMT1 en vertebrados, MET1 en plantas) reconoce este ADN hemimetilado y metila la citosina no modificada. Este mecanismo hace que la metilación de CpG sea el candidato ideal para una marca epigenética "verdadera", con el potencial de mantenerse indefinidamente a menos que se interfiera con ella. La metilación en sitios no CG depende de otras metiltransferasas de mantenimiento, que dependen más de factores externos a la propia metilación del ADN, incluido el paisaje local de la cromatina.

Tanto en plantas como en animales la función más relevante de la metilación del ADN a la expresión génica es reprimir la iniciación de la transcripción, lo que se consigue bloqueando o promoviendo la unión de las proteínas efectoras a los promotores génicos. Entre ellas se encuentran la familia de proteínas del dominio de unión al metilo (MBD), que se unen a la CpG metilada y reclutan una serie de modificadores de histonas (incluida la histona H3 lisina 9 (H3K9) metiltransferasa Suv39 y varias histonas deacetilasas (HDAC)), remodeladores de cromatina (principalmente de la familia SWI/SNF como Mi-2, BRM y ATRX) y más. La metilación de CpG es, por lo tanto, un componente clave de la maquinaria de regulación transcripcional con un mecanismo claro de transmisión y, por lo tanto, es un candidato atractivo para la causa subyacente de los epialelos.

MODIFICACIÓN DE HISTONAS

Las histonas forman el núcleo del nucleosoma, que es la unidad funcional de la cromatina alrededor de la cual se envuelve el ADN. Las modificaciones químicas que se pueden aplicar a las histonas son muchas y variadas, al igual que sus posibles efectos sobre el ADN subyacente. Además de su papel en la regulación de la expresión de genes, muchas modificaciones de histonas tienen propiedades que se prestan bien a TEI. Estos incluyen el potencial de autopropagación y propagación de la señal epigenética mediante el acoplamiento de las funciones de "lector" y "escritor".

Dos modificaciones frecuentemente implicadas en TEI son las marcas represivas histona H3 lisina 9 trimetilación (H3K9me3) y H3K27me3. En muchos casos, estas marcas están inextricablemente vinculadas a otras señales epigenéticas. H3K9me3, por ejemplo, está fuertemente asociado con la metilación del ADN en vertebrados. Hay ejemplos de TEI en los que las modificaciones de histonas parecen ser la única o primaria señal epigenética. En la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe*,

donde la metilación del ADN está ausente, H3K9me ha demostrado ser heredable bajo ciertas condiciones cuando se deposita ectópicamente (donde H3K9me se refiere colectivamente a H3K9me2 y H3K9me3). Además de estos casos artificiales de H3K9me TEI, la exposición de *S. pombe* a insultos ambientales como la cafeína y el estrés oxidativo también puede inducir epimutaciones que pueden heredarse a través de generaciones. En el caso de la exposición a la cafeína, se generaron varias cepas epimutantes, muchas de las cuales eran genéticamente idénticas al tipo salvaje, en el que la resistencia a la cafeína había surgido del silenciamiento heredable de genes clave por H3K9me. Estas epimutaciones no fueron rastreadas a través de la meiosis, aunque en otro estudio se heredaron epimutantes similares basados en H3K9me a través de la mitosis y la meiosis. Por el contrario, se ha encontrado que la pérdida de H3K9me3 inducida por el estrés es hereditaria durante varias generaciones tanto en *D. melanogaster* como en *C. elegans*, lo que resulta en la desrepresión de ciertos genes durante varias generaciones. Estos eventos no estaban vinculados a ninguna otra señal epigenética y parecen surgir más de la falla del sistema de automantenimiento de H3K9me3 para restablecer la marca de histona perdida que de cualquier mecanismo que mantenga activamente un estado dereprimido.

También se ha encontrado que H3K27me3 media un caso intrigante de TEI seleccionable en un transgén en *D. melanogaster*. En este estudio, el nivel de expresión del marcador mini-blanco, que regula el color de los ojos, se pudo seleccionar a lo largo de varias generaciones para generar moscas con ojos completamente blancos o completamente rojos a partir de una línea parental con color de ojos mosaico. Estas diferencias fenotípicas surgieron de las diferencias en los niveles de H3K27me3 en el transgén (conocido como Fab2L), que podrían aumentarse o disminuir gradualmente a lo largo de generaciones. Las moscas mantuvieron una memoria epigenética de los niveles de H3K27me3 sobre el transgén, pero el transgén podría restablecerse a un estado "ingenuo" en una sola generación.

Aunque H3K9me3 y H3K27me3 son las modificaciones de histonas más frecuentes en TEI, se sabe que otras marcas contribuyen a TEI y es probable que otras hayan pasado desapercibidas hasta ahora. En *C. elegans*, las mutaciones en el complejo H3K4 histona metiltransferasa conducen a una disminución de H3K4me y a una mayor longevidad. Incluso después de restaurar el genotipo de tipo salvaje, esta longevidad es heredable durante tres generaciones en la progenie de tipo salvaje de los ancestros mutantes. Del mismo modo, la sobreexpresión de la KDM1A desmetilasa en la línea germinal del ratón condujo a una disminución de los espermatozoides

H3K4me y a cambios en la expresión génica que fueron hereditarios durante varias generaciones después de que se restablecieron los niveles normales de expresión de KDM1A.

Las histonas, alrededor de las cuales el ADN se envuelve para formar el nucleosoma (la unidad estructural básica de la cromatina), son uno de los principales portadores de información epigenética en los eucariotas. Esto se logra mediante la colocación de histonas variantes, que pueden llevar información más allá de la de las histonas canónicas. Los más destacados entre estos son CENP-A, la variante de histona H3 que marca dominios centroméricos, H3.3, asociado con elementos reguladores activos como potenciadores y promotores, y H2A.Z, que tiene varias funciones que pueden incluir actuar como un "marcador de posición" epigenético en la herencia epigenética transgeneracional (TEI), aunque existen muchas más.

El portador más importante de información epigenética, sin embargo, es la modificación post-traducciona de histonas, tanto canónicas como variantes, que han surgido como uno de los principales constituyentes de la maquinaria reguladora de la transcripción. Estas modificaciones suelen afectar a las largas colas aminoterminales ricas en lisina de las histonas, siendo H3 la más estudiada. Las modificaciones más comunes y conocidas son la metilación y acetilación de los residuos de lisina, aunque la ubiquitilación de lisina y la fosforilación de serina/treonina/tirosina también tienen funciones importantes.

En términos generales, las modificaciones de histonas son depositadas por una proteína o complejo "escritor" que cataliza la modificación química del aminoácido objetivo, y pueden ser eliminadas selectivamente por un "borrador". Una vez depositada, la modificación puede ser reconocida específicamente por un "lector". Los lectores influyen en la cromatina subyacente tanto por acción directa como por reclutamiento de efectores secundarios como factores de transcripción, remodeladores de cromatina y otros modificadores de cromatina, mediando efectos posteriores que pueden tener un impacto en la expresión de genes subyacentes.

H3K9me3 es una modificación generalizada en eucariotas catalizada por metiltransferasas de histonas del dominio SET (HMT), incluido el supresor de la variegación 3-9 (conocido generalmente como Suv39 e incluyendo Su(var)3-9 en *Drosophila melanogaster*, SUV39H1 y SUV39H2 en mamíferos, Ctr4 en levadura de fisión y cierta homología a SET-25 en *Caenorhabditis elegans*) y SET-dominio bifurcado 1 (SETDB1 en mamíferos, MET-2 en *C.*

elegans). El lector más importante de H3K9me3 es la proteína heterocromatina 1 (HP1, Swi6 en levadura de fisión, HPL-1 y HPL-2 en *C. elegans*). HP1 recluta una serie de socios secundarios que conducen al silenciamiento transcripcional y la compactación de la cromatina y, por lo tanto, a la inaccesibilidad. La unión de Suv39 tanto directamente a H3K9me3 como indirectamente a través de HP1 garantiza el acoplamiento de las funciones de escritor y lector y, por lo tanto, el mantenimiento y la propagación de la señal de cromatina. Los dominios H3K9me3 a menudo se denominan "heterocromatina constitutiva" debido a su papel en regiones perpetuamente silenciadas como centrómeros y telómeros. Sin embargo, H3K9me3 también es importante en el silenciamiento específico de otras regiones, especialmente elementos repetitivos. En muchos organismos, incluidos los mamíferos, el H3K9me3 también suele estar fuertemente asociado con la metilación del ADN33.

H3K27me3 es otra marca represiva generalizada que es más importante en metazoos y plantas. H3K27me3 es depositado por el complejo represivo Polycomb 2 (PRC2), que integra una serie de proteínas que en conjunto median el escritor (Ezh1/2), el lector (Eed es el más importante) y otras funciones. H3K27me3 es un sello distintivo de la llamada 'heterocromatina facultativa', que silencia los genes durante el desarrollo, actuando en oposición a la marca activadora H3K4me3. A menudo se asocia en una relación compleja con H2AK119ub, depositado por el complejo PRC1. PRC1 existe en una variedad de las llamadas formas "canónicas" y "no canónicas" que varían en composición, aunque todas incluyen una de las seis proteínas PCGF, y la escritora E3 ubiquitina ligasa RING1A/B. Ya sea independiente de PRC2 o altamente asociado, cada complejo PRC1 tiene su propio patrón de reclutamiento, y la relación entre los dos aún se está dilucidando.

ARN NO CODIFICANTES

Los ARN pequeños no codificantes son un importante regulador de la expresión génica tanto a nivel transcripcional como post-transcripcional. Para la regulación transcripcional, existen varias vías por las cuales los ARN pequeños pueden alterar el estado epigenético de un gen para silenciarlo, a saber, las vías de ARN interferente pequeño (siRNA) y ARN que interactúa con PIWI (piRNA). En esta capacidad, por lo tanto, no son una marca epigenética aislada, sino que actúan a través de modificaciones de cromatina, incluida la metilación del ADN. Por otro lado, tienen mecanismos claros de propagación y, por lo tanto, son candidatos para una señal hereditaria en TEI. Para la regulación post-transcripcional, los ARN pequeños pueden actuar por degradación del ARNm. A pesar de no afectar a la cromatina, estos procesos pueden

alterar la actividad de los genes de una manera independiente de la secuencia de ADN que puede considerarse "epigenética". Un ejemplo interesante se puede encontrar en el hongo patógeno *Mucor circinelloides*, en el que la exposición a fármacos antifúngicos da lugar a la aparición de varias epimutaciones resistentes. La investigación del mecanismo reveló que estas epimutaciones dependían únicamente de la vía de silenciamiento de la interferencia de ARN independiente de Dicer (ARNi), y por lo tanto parecen derivar únicamente del silenciamiento post-transcripcional de genes clave, en contraste con la resistencia a la cafeína en *S. pombe*.

En animales, los mecanismos basados en ARN más comunes involucrados en TEI son las pequeñas vías de silenciamiento de ARN. La vía piRNA se identificó por primera vez en *D. melanogaster* como una defensa contra la proliferación de elementos transponibles en la línea germinal. Esto se logra tanto mediante la degradación post-transcripcional de la transcripción del elemento transponible como la regulación transcripcional mediante la focalización de la heterocromatina H3K9me3. Este H3K9me3 está dirigido no solo a elementos transponibles, sino también a los llamados 'grupos de piRNA', a partir de los cuales se transcriben precursores de piRNA, alimentando la vía para garantizar que se mantenga el silenciamiento. Aunque contrario a la intuición a la visión general de H3K9me3 como una marca silenciadora, la orientación de la heterocromatina a los grupos de piRNA en realidad promueve la transcripción en este caso mediante el reclutamiento directo de la maquinaria transcripcional central, en forma del factor de transcripción IIA paralogue Moonshiner, por la variante HP1 Rhino. La comparación de cepas de mosca revela diferencias en la biogénesis de piRNA correlacionándose con diferencias de H3K9me3 sobre grupos de piRNA. Estas diferencias se heredan epigenéticamente y dependen de los piRNAs depositados maternamente en el ovocito para la transmisión. Por lo tanto, los piRNAs y H3K9me3 forman un bucle de retroalimentación positiva que garantiza el silenciamiento de elementos transponibles a través de generaciones por TEI.

El silenciamiento de ARN pequeño es particularmente frecuente en *C. elegans*, con 27 proteínas Argonaute distintas codificadas en su genoma, e implica marcas de silenciamiento que incluyen H3K9me342, H3K27me361 y H3K23me362. Se demostró que las condiciones de inanición, por ejemplo, inducen la expresión de un conjunto de siRNAs endógenos dirigidos a varios genes nutricionales. Estos siRNAs se heredaron durante al menos tres generaciones después de devolver los nematodos a condiciones nutricionalmente ricas, lo que podría transmitir una

memoria epigenética para hacer frente a la escasez de alimentos. De manera similar, se ha encontrado que el estrés por calor altera la expresión génica transgeneracionalmente a través de pequeños ARN, que duran de dos a tres generaciones después de un retorno a las condiciones normales de temperatura. Más recientemente, y como un puente interesante entre el siRNA endógeno y el exógeno, se encontró que una fuente exógena de pequeños ARN de una bacteria patógena induce TEI en un gen endógeno. Este estudio mostró que la exposición a una cepa patógena de *Pseudomonas aeruginosa* indujo a evitar el mismo patógeno durante cuatro generaciones. Este comportamiento se debe al silenciamiento del siRNA del gen neuronal maco-1 por una sola molécula de ARN de *P. aeruginosa* a la que es complementaria. Este proceso está en línea con resultados similares que muestran TEI de siRNAs neuronales que gobiernan la quimiotaxis.

En mamíferos, gran parte de los trabajos recientes se han centrado en los ncRNAs de los espermatozoides como vector de herencia epigenética. Varios estudios en ratones han demostrado alteración de los ARN de los espermatozoides, en particular los microARN (miRNAs) y los pequeños RNAs derivados del ARNt (tsRNAs), tras la exposición paterna a insultos o cambios en la dieta.

siRNAs

Entre los organismos modelo, el silenciamiento de siRNA está presente en plantas, *Schizosaccharomyces pombe*, *Caenorhabditis elegans* y *Drosophila melanogaster*. A pesar de la gran brecha evolutiva entre estas especies, las similitudes son evidentes en el núcleo de estas vías. Los siRNAs son moléculas de ARN de doble cadena (dsRNA) de 21 a 24 nucleótidos. Se generan a partir de una transcripción más larga de ARN monocatenario (ssRNA) mediante el procesamiento que involucra homólogos de la ribonucleasa de Dicer y, en ciertas especies, ARN polimerasas dependientes de ARN (RdRP), que las escinden al tamaño apropiado. Una vez que están completamente procesados, los siRNAs maduros se asocian con un complejo Argonaute y lo dirigen mediante emparejamiento de bases complementarias al ARN naciente que se transcribe en el *locus* objetivo. A partir de ahí, Argonaute media el silenciamiento génico por asociación con modificadores de cromatina. Los efectores conocidos dirigidos por siRNA incluyen metiltransferasas H3K9 (Clr4 en levadura, SET-25 en *C. elegans*), metiltransferasas H3K27 (MES-2 en *C. elegans*) y metiltransferasas de ADN (DRM2 en plantas) entre otros.

piRNAs

La mayoría de los animales no poseen ARN polimerasas dependientes de ARN y, por lo tanto, deben depender de un medio alternativo para amplificar los ARN pequeños para el iARN. Esto se logra mediante el uso de ARN que interactúan con PIWI (piRNA) para el silenciamiento dirigido por ARN. Los piRNAs son más conocidos tradicionalmente por su papel en el silenciamiento de elementos transponibles en *D. melanogaster*. En este contexto, la biogénesis primaria de piRNA se inicia mediante transcripción bidireccional de un grupo de piRNA. Esta transcripción precursora se escinde a 21-30 nucleótidos por el calabacín (Zuc) y se asocia con uno de los dos complejos de Argonaute: Piwi o Berenjena (Aub). Piwi se transloca al núcleo para el silenciamiento directo de un elemento transponible mediante un proceso similar al silenciamiento de siRNA. Mientras tanto, Aub escinde la transcripción del elemento transponible para generar fragmentos complementarios de ssRNA, que a su vez se asocian con Ago3 para escindir transcripciones precursoras adicionales. Este método de biogénesis secundaria de piRNA se conoce como el 'ciclo de ping-pong' y es una de las características definitorias de la vía piRNA.

miRNAs

Los miRNAs son ssRNAs de alrededor de 22 nucleótidos. Son procesados co-transcripcionalmente por un complejo de microprocesador que incluye la ribonucleasa Droscha, formando una estructura de asa del tallo, y luego en el citoplasma por Dicer para formar miRNA maduro. Los miRNAs son más conocidos por su regulación post-transcripcional de la expresión génica mediante la degradación del ARNm complementario en asociación con un complejo Argonaute.

lncRNAs

Los lncRNAs son moléculas de ARN de más de 200 nucleótidos que no codifican proteínas. A diferencia de las categorías más específicas anteriores, este límite de tamaño algo arbitrario abarca una amplia gama de moléculas de ncRNA con diversas funciones en la célula.

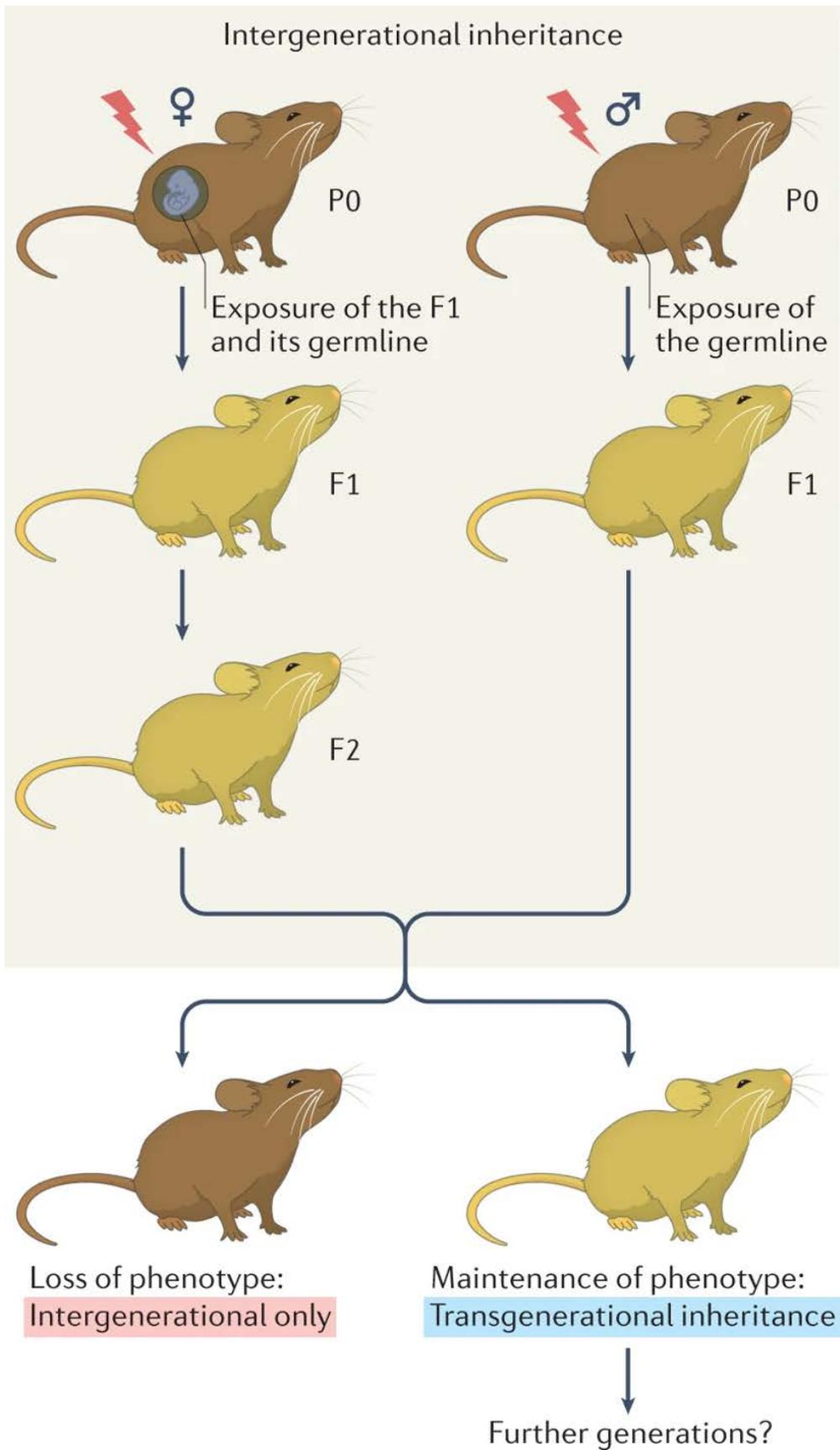
tsRNAs

Los tsRNAs son fragmentos de ARN de 29-34 nucleótidos derivados del extremo 5' de los tARN. El mecanismo de su biogénesis aún no está claro, pero son el pequeño ncRNA dominante en los espermatozoides de mamíferos.

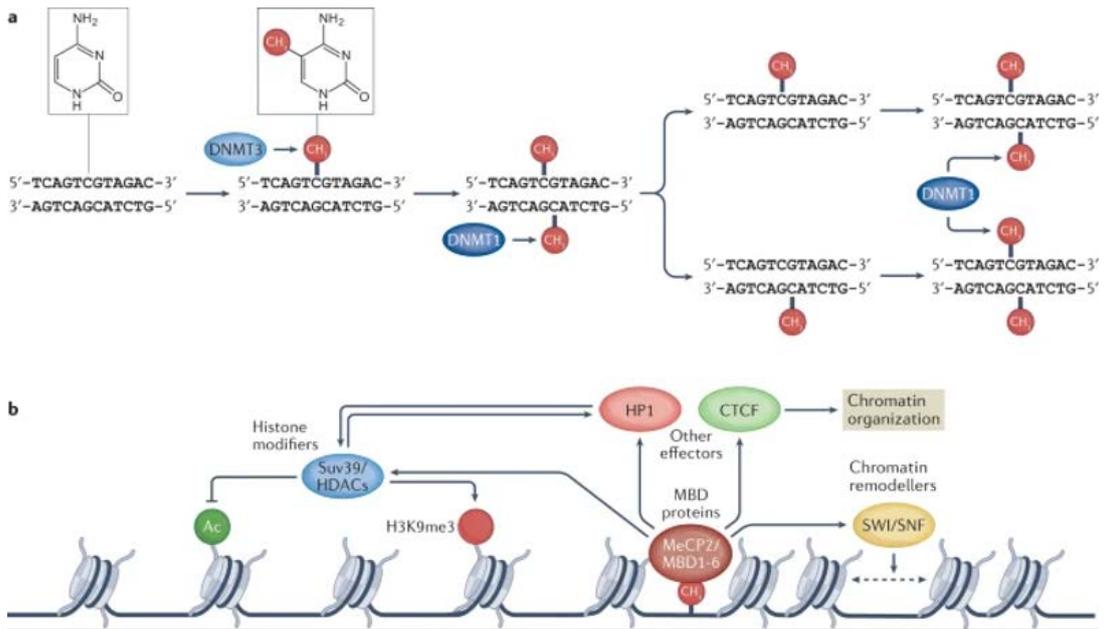
PARAMUTACIÓN

Todos los mecanismos descritos anteriormente implican la transmisión vertical de un estado epigenético entre generaciones, similar a la herencia mendeliana de una mutación genética. Sin embargo, como la información epigenética se puede agregar o eliminar independientemente de los cambios en la secuencia de ADN subyacente, y debido a que estos cambios epigenéticos podrían transmitirse a las generaciones posteriores, la posibilidad de mecanismos de herencia no mendelianos está abierta a marcas epigenéticas. En algunos casos de TEI, dicha transmisión no mendeliana se observa a través de un proceso conocido como paramutación. La paramutación es el proceso de transmisión de información epigenética en trans de un alelo de un gen o *locus* a su par en el cromosoma hermano. La paramutación se describió por primera vez en plantas, donde es relativamente común y más estudiada, pero desde entonces se ha documentado en *C. elegans*, *D. melanogaster* y más controvertidamente en ratones, con la transferencia de estados de metilación del ADN y modificación de histonas entre alelos.

Los mecanismos epigenéticos que regulan la expresión génica y los principios de herencia intergeneracional y transgeneracional abren nuevos horizontes para un mejor entendimiento de la evolución, la salud, la enfermedad y el diálogo del medio ambiente con el genoma, con la peculiaridad de que los fenómenos epigenéticos -en contra de lo que ocurre con las marcas genéticas- son potencialmente reversibles.



- Herencia epigenética intergeneracional y transgeneracional



-
Deposición y herencia de metilación del ADN

Fitz-James, M.H., Cavalli, G. Molecular mechanisms of transgenerational epigenetic inheritance. *Nat Rev Genet* 23, 325-341 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00438-5>.



HERENCIA EPIGENÉTICA TRANSGENERACIONAL EN LA DIABETES: LAS MADRES PUEDEN REPROGRAMAR EL ADN DE LOS PADRES EN FAVOR DE LA SALUD DE SUS HIJOS

Una enzima materna reprograma el ADN paterno para una descendencia sana. Altos niveles de azúcar en la sangre desregulan la enzima TET3 en los óvulos, impidiendo que modifique adecuadamente el ADN derivado de los espermatozoides cuando los óvulos son fertilizados. Esto conduce a defectos metabólicos en la progenie adulta. Así resumen **Yumiko K. Kawamura** y **Antoine H. F. M. Peters**, en un elegante comentario, el excelente trabajo de **Bin Chen** y un grupo de colaboradores que trabajan en varias instituciones chinas, como el *Key Laboratory of Reproductive Genetics* del Ministerio de Educación, el Departamento de Endocrinología Reproductiva del Hospital para Mujeres de la *Zhejiang University School of Medicine* en Hangzhou; la Unidad de Reproducción Asistida del Departamento de Ginecología y Obstetricia del *Sir Run Run Shaw Hospital*, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zhejiang; y en el *State Key Laboratory of Molecular Biology*, *Shanghai Key Laboratory of Molecular Andrology*, *Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology*, *Center for Excellence in Molecular Cell Science*, *Chinese Academy of Sciences*, de Shanghai.

La diabetes mellitus es un problema de salud pública importante y generalizado; sin embargo, los esfuerzos para prevenir y tratar la diabetes mellitus han mostrado un éxito limitado. La hiperglucemia prolongada en la diabetes aumenta el riesgo de complicaciones multisistémicas. La hiperglucemia materna confiere complicaciones a largo plazo a la descendencia y tiene un profundo impacto en la salud pública. Los factores ambientales maternos, incluida la exposición adversa a la línea germinal o *in utero*, los comportamientos de cuidado y la composición

de la leche, reprograman la salud de la descendencia a través de generaciones por herencia epigenética intergeneracional o transgeneracional. Aunque se ha reportado herencia epigenética en mamíferos a través de gametos, el mecanismo de herencia epigenética dependiente de la línea germinal femenina sigue siendo en gran medida incierto. El grupo de Chen buscó la forma de determinar cómo la salud a largo plazo de la descendencia se ve afectada por la hiperglucemia pregestacional.

La diabetes mellitus es prevalente entre las mujeres en edad reproductiva, y muchas mujeres no son diagnosticadas o no tratadas. La diabetes gestacional tiene efectos profundos y duraderos en la salud a largo plazo de la descendencia. Sin embargo, el vínculo entre la diabetes pregestacional y el riesgo de enfermedad en la edad adulta en la próxima generación no se ha investigado lo suficiente. Chen y su grupo demostraron que la hiperglucemia pregestacional hace que la descendencia sea más vulnerable a la intolerancia a la glucosa. La expresión de TET3 dioxigenasa, responsable de la oxidación de la 5-metilcitosina y la desmetilación del ADN en el cigoto, se reduce en ovocitos de un modelo de ratón con hiperglucemia (ratones HG) y humanos con diabetes. La desmetilación insuficiente por ovocito TET3 contribuye a la hipermetilación en los alelos paternos de varios genes de secreción de insulina, incluido el gen de la glucoquinasa (*Gck*), que persiste desde el cigoto hasta el adulto, promoviendo la homeostasis de la glucosa deteriorada en gran parte debido al defecto en la secreción de insulina estimulada por la glucosa. De acuerdo con estos hallazgos, las progenes de ratón derivadas de

los ovocitos de la delección materna heterocigota y homocigota de TET3 muestran intolerancia a la glucosa y anomalías epigenéticas similares a las de los ovocitos de ratones HG. Además, la expresión de ARNm TET3 exógeno en ovocitos de ratones HG mejora el efecto materno en la descendencia. Por lo tanto, estas observaciones sugieren una ventana sensible al medio ambiente en el desarrollo de ovocitos que confiere predisposición a la intolerancia a la glucosa en la próxima generación a través de la insuficiencia de TET3 en lugar de a través de una perturbación directa del epigenoma de los ovocitos. Este hallazgo sugiere un beneficio potencial de las intervenciones previas a la concepción en las madres para proteger la salud de la descendencia.

Chen et al. investigaron cómo el alto nivel de azúcar en la sangre (hiperglucemia) en ratones hembra afecta a los cachorros de los animales. Los autores trataron a ratones hembra con una toxina que daña las células beta productoras de insulina en el páncreas, un enfoque conocido por inducir hiperglucemia crónica. A continuación, fertilizaron los óvulos de estos ratones *in vitro* utilizando esperma de machos sanos y los implantaron en madres sustitutas sanas. Esto permitió a los investigadores centrarse en el efecto de la hiperglucemia en los propios óvulos, excluyendo los efectos más generales causados por la hiperglucemia en el embarazo.

Los ratones producidos a partir de huevos hiperglucémicos tenían un peso corporal normal cuando llegaron a la edad adulta, pero fueron menos capaces de metabolizar la glucosa que la progenie generada a partir de los huevos de control. Esta intolerancia a la glucosa (un signo de prediabetes y diabetes) fue más pronunciada en la progenie masculina que femenina, aumentó con la edad en ambos sexos y empeoró si los animales fueron alimentados con una dieta alta en grasas. Chen et al. demostraron que la intolerancia a la glucosa se debía a la reducción de la secreción de insulina estimulada por la glucosa por las células beta pancreáticas.

Para investigar los mecanismos subyacentes a estas observaciones, los autores compararon los niveles de ARN mensajero en óvulos maduros de ratones hiperglucémicos y controles. La comparación indicó que cientos de genes se expresan diferencialmente. En particular, los niveles de una transcripción, TET3, en óvulos hiperglucémicos fueron la mitad de los de los controles. La expresión de TET3 también fue anormalmente baja en óvulos obtenidos de otro modelo de ratón de hiperglucemia y obesidad, y en óvulos de mujeres que tenían diabetes.

En el ADN, la presencia de grupos metilo en las secuencias promotoras (que normalmente impulsan la expresión génica) se asocia típicamente con la represión génica. La enzima TET3 oxida las bases metiladas en el ADN, lo que lleva a la desmetilación del ADN y, por lo tanto, permite que se produzca la transcripción de genes. En embriones fertilizados, la desmetilación mediada por TET3 actúa principalmente sobre el ADN paterno, impidiendo el mantenimiento de la metilación del ADN transmitido por espermatozoides durante todo el desarrollo y permitiendo la expresión génica más adelante en la vida. Chen y sus colegas encontraron que la oxidación del ADN metilado era marcadamente menor en el genoma paterno de los óvulos fertilizados derivados de los ratones hiperglucémicos que en los derivados de los controles.

Los autores evaluaron los efectos a largo plazo de la reducción de la actividad materna de TET3 en la descendencia mediante la cuantificación de los niveles de metilación del ADN en los islotes pancreáticos embrionarios, que contienen muchas células beta. Se centraron en secuencias promotoras que habían mantenido una metilación adicional en el genoma paterno de la progenie producida a partir de óvulos hiperglucémicos, en comparación con los controles. Encontraron cambios en los promotores de varios genes involucrados en la secreción de insulina, incluso en un promotor que impulsa la expresión pancreática de Gck. Este gen codifica la glucoquinasa, una enzima clave en la secreción de insulina estimulada por la glucosa.

Los investigadores observaron un aumento de la metilación del ADN del promotor pancreático Gck derivado de la línea paterna en varias etapas de desarrollo, así como después del parto. Esta hipermetilación se asoció con una reducción de la expresión de Gck en los islotes pancreáticos. La administración del activador de la glucoquinasa dorzagliatina, un compuesto antidiabético que se está probando en ensayos clínicos de fase III, mejoró la tolerancia a la glucosa y aumentó la secreción de insulina de los islotes pancreáticos. Estos datos identifican el gen Gck derivado paternalmente como un objetivo importante de la actividad materna de TET3. Existe de dos a tres veces más metilación en el promotor GCK en embriones en etapa temprana de mujeres diabéticas que en embriones de mujeres sanas.

GCK es parte de un grupo de genes humanos que, cuando mutan, causan en MODY2 (maturity-onset

diabetes of the young 2)(go.nature.com/3owzrjm). Los datos clínicos indican que la mutación de solo una de las dos copias de GCK es suficiente para causar enfermedad, un fenómeno conocido como haploinsuficiencia. La hipermetilación del ADN derivado del genoma paterno en el promotor GCK podría tener el mismo efecto que las mutaciones GCK, causando haploinsuficiencia pancreática GCK y rasgos MODY2 en la progenie.

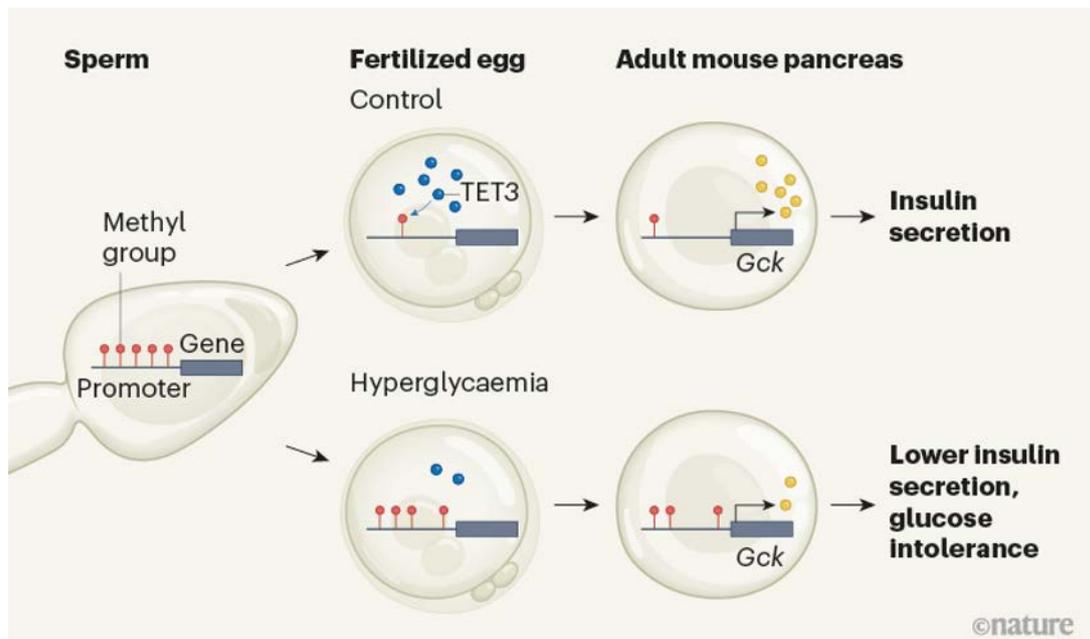
La reducción de la expresión de TET3 es el único contribuyente a la hipermetilación de Gck y la intolerancia a la glucosa en la progenie de los huevos hiperglucémicos. Los óvulos genéticamente modificados en los que la expresión de TET3 era anormalmente baja imitan el efecto de la hiperglucemia materna, y la eliminación de TET3 tiene efectos aún más pronunciados. La inyección de ARNm de TET3 en embriones suprime los efectos de la hiperglucemia, mientras que el suministro de TET3 catalíticamente inactivo los exacerba.

Todos estos datos sugieren que la metilación del ADN transmitida por espermatozoides, incluso de ratones machos que tienen dietas saludables, puede promover la angustia metabólica en la progenie, y que la actividad de TET3 en embriones tempranos niega este riesgo. Tal función para TET3 podría haber evolucionado para adaptarse al hecho de que los niveles de metilación del ADN son en general dos veces más altos en el genoma de los espermatozoides que en el de los óvulos. TET3 también podría estar involucrado en la desmetilación de genes metabólicos ubicados en el genoma materno.

Los óvulos son muy susceptibles a la hiperglucemia cuando están madurando. En línea con esta idea, la exposición a altos niveles de glucosa conduce a una reducción drástica de los niveles de ARNm TET3 en óvulos de ratón y humanos que estaban experimentando maduración *in vitro*. Debido a que no se produce ninguna transcripción de genes a medida que los óvulos están madurando, es probable que esta disminución refleje la desestabilización del ARNm TET3 que se transcribe antes de la maduración. Los genes que controlan la estabilidad del ARNm (como Ybx1, Ybx2 y Zfp36) están regulados a la baja en los óvulos hiperglucémicos en comparación con los controles, posiblemente debido a la mala regulación transcripcional durante el crecimiento del óvulo.

La obesidad en las parejas reproductoras a menudo afecta a ambos miembros de la pareja, y se sabe

que una dieta alta en grasas prepara los óvulos y los espermatozoides para transmitir trastornos metabólicos a la descendencia de manera aditiva. Chen y sus colegas han identificado un mecanismo que puede explicar la transmisión de ratones hembra, y se ha descrito un mecanismo separado que involucra pequeños ARN no codificantes asociados con espermatozoides para la herencia de la enfermedad metabólica paterna.



La enzima TET3 regula la heredabilidad epigenética de la diabetes. La enzima TET3 media la herencia del trastorno metabólico. El ADN de los espermatozoides está marcado con muchos grupos metilo: la metilación en las secuencias promotoras que normalmente impulsan la transcripción conduce a la represión génica. La desmetilación de este ADN paterno, que ocurre después de la fertilización, se altera si los niveles de azúcar en la sangre son altos en las madres (hiperglucemia) a medida que maduran sus óvulos. En óvulos fertilizados de madres sanas (control), la enzima TET3 media la desmetilación de los promotores. Cuando la progenie se convierte en adulta, la transcripción normal de genes metabólicos como Gck en el páncreas conduce a la secreción normal de insulina. Por el contrario, si los óvulos se derivan de madres hiperglucémicas, los niveles de TET3 son más bajos en los óvulos fertilizados y se produce menos desmetilación. En la edad adulta, la expresión de Gck es anormalmente baja (aunque todavía se produce cierta desmetilación durante el desarrollo), lo que lleva a niveles más bajos de secreción de insulina y, por lo tanto, a la intolerancia a la glucosa, un signo de prediabetes.

Kawamura YK, Peters A. Nature 605, 621-622 (2022).
doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01237-6>.

Chen, B., Du, YR., Zhu, H. et al. Maternal inheritance of glucose intolerance via oocyte TET3 insufficiency. Nature 605, 761-766 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04756-4>.

02

**ARTÍCULOS
DIVULGATIVOS**



BIOMARCADORES EPIGENÉTICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

OLAIA MARTÍNEZ IGLESIAS

Departamento de Epigenética Médica
Centro Internacional de Neurociencias y Medicina Genómica
15165 Bergondo, A Coruña

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (PD) es el segundo desorden neurodegenerativo más frecuente, tan solo por detrás de la Enfermedad de Alzheimer, y afecta a un 2% de la población de más de 60 años. Es un desorden multifactorial que implica factores genéticos, ambientales y epigenéticos, entre otros. El síntoma más característico de la PD es la disfunción motora, que es causada por una pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la substantia nigra pars compacta del cerebro, así como por la acumulación de agregados de la proteína α -synucleína, formando en el cerebro lo que se conoce como cuerpos de Lewy.

La epigenética estudia los cambios en la expresión génica que son heredables pero que no son debidos a ningún cambio estructural en la secuencia de ADN, de modo que no modifican dicha secuencia. De este modo la epigenética establece un nexo entre el genoma y el medio ambiente que rodea al individuo, contribuyendo a la variabilidad entre individuos y permitiendo al individuo responder a las condiciones ambientales. La epigenética es responsable, al menos en parte, de las disparidades existentes entre distintos individuos en la morbilidad y mortalidad. De este modo, la salud no depende únicamente de las modificaciones en el código del ADN heredadas o causadas por mutaciones (genética), sino también de una interacción dinámica entre nuestros genes y el ambiente, aunque no se llegue a alterar el código genético (epigenética). El mejor ejemplo de lo que supone la epigenética son los gemelos homocigotos, que comparten los mismos genes. Sin embargo, la exposición a distintos factores ambientales o la adquisición de distintos hábitos de vida, puede provocar que tan sólo uno de los gemelos desarrolle obesidad, cáncer u otra patología.

Una de las características principales de las modificaciones epigenéticas es que son reversibles y así pueden ser alteradas mediante una intervención terapéutica y/o nutricional. De este modo la epigenética proporciona una herramienta idónea tanto para el diagnóstico de enfermedades multifactoriales y complejas, como para la monitorización de los pacientes, permitiendo analizar la respuesta a los distintos tratamientos administrados.

PRINCIPALES MECANISMOS EPIGENÉTICOS

Los mecanismos epigenéticos clásicos incluyen la metilación del DNA, modificaciones de histonas y la regulación de microARNs (miARNs).

Metilación del ADN

La metilación del ADN es el mecanismo epigenético mejor estudiado. Es un proceso mediante el cual las enzimas ADN metiltransferasas (DNMTs) incorporan grupos metilo a las moléculas de citosina del ADN, formando 5-metilcitosinas. La metilación del ADN interfiere con la unión de los factores de transcripción a los sitios diana en los promotores de los genes, inhibiendo así la transcripción y expresión génica (Fig. 1).

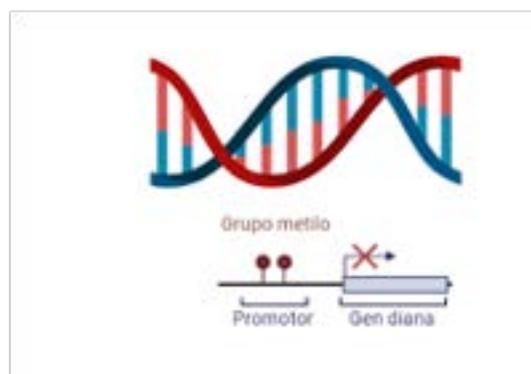


Fig. 1. Esquema de mecanismo de metilación del ADN

Modificaciones de Histonas

Otro mecanismo epigenético es la remodelación de la cromatina y las modificaciones de histonas. El ADN se organiza en nucleosomas, que contienen un octámero de histonas con 2 moléculas de histonas H2A, H2B, H3 y H4. Los extremos amino y carboxi terminal de estas histonas se conocen como colas de histonas y sufren diferentes modificaciones postraduccionales (Fig. 2).

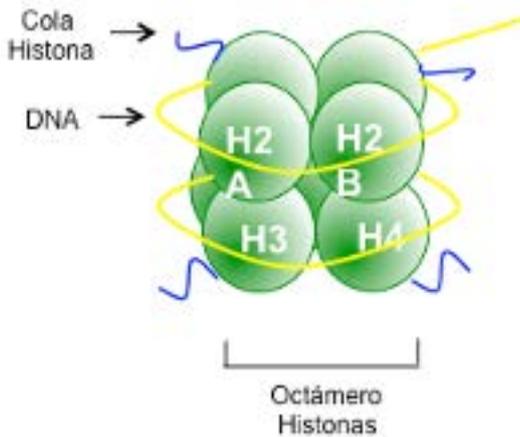


Fig. 2. Esquema de nucleosoma

Estas modificaciones de histonas alteran el nivel de compactación de la cromatina y de ese modo modifican la accesibilidad de la maquinaria de transcripción. De este modo, si las modificaciones provocan una mayor compactación la maquinaria de transcripción no es capaz de acceder y se produce el silenciamiento de la expresión génica. Por el contrario, si las modificaciones provocan la descompactación de la cromatina se permitirá el reclutamiento de la maquinaria necesaria para que la expresión del gen tenga lugar. Las acetiltransferasas de histonas (HATs) son unas enzimas que acetilan las lisinas de las colas de histonas y este proceso se asocia con una estructura abierta de la cromatina (eucromatina), que permite la expresión génica. Por el contrario, las deacetilasas de histonas (HDACs) catalizan la desacetilación de histonas, provocando la compactación de la cromatina, dando lugar a la heterocromatina y provocando la represión de la expresión génica (Fig. 3).

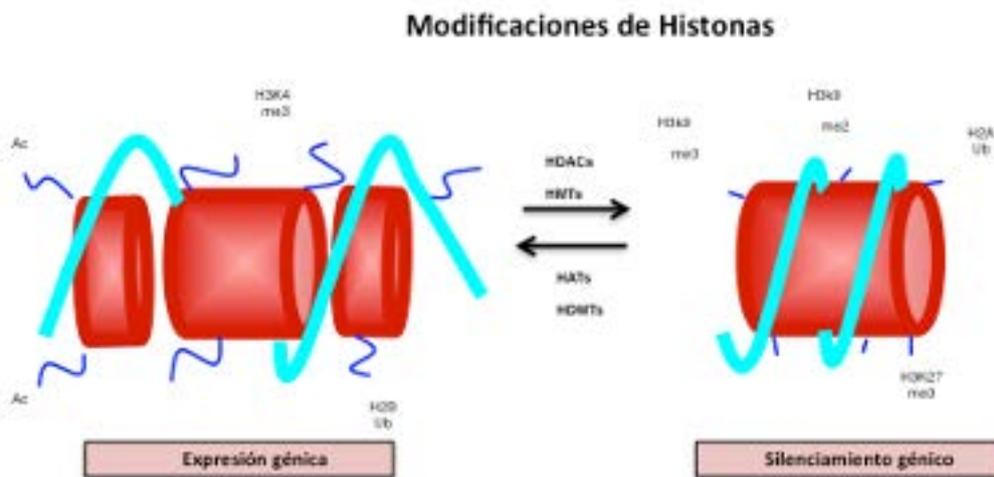


Fig. 3. Esquema del efecto de las modificaciones de histonas sobre la expresión génica

miARNs

Los microARNs (miARNs) son moléculas de ARN de una sola cadena, de aproximadamente 22 nucleótidos, que suelen actuar como silenciadores génicos post-traduccionales. Se unen a secuencias complementarias de las regiones 3'UTR de los ARN mensajeros (ARNm) en el citoplasma de la célula y de este modo inducen la degradación del transcrito y bloquean su traducción en una proteína.

BIOMARCADORES EPIGENÉTICOS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

La búsqueda de biomarcadores fiables para el diagnóstico de PD podría ayudar en el diagnóstico precoz y en la implementación de un programa de medicina personalizada. La mayoría de los biomarcadores que existen en la actualidad se basan en técnicas invasivas y/o caras, tales como técnicas de neuroimagen o análisis del líquido cerebrospinal. En los últimos años se está desarrollando la biopsia líquida, cuyo objetivo es buscar biomarcadores para el diagnóstico en fluidos de fácil acceso tales como la sangre o la orina. De este modo, la biopsia líquida supondría una técnica más económica y confortable. De este modo, se han desarrollado distintas investigaciones con el objetivo de encontrar biomarcadores epigenéticos para su uso mediante biopsia líquida, especialmente en el campo de la oncología, aunque en los últimos años han comenzado a identificarse también biomarcadores epigenéticos fiables para el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas.

La metilación global del ADN se encuentra reducida en pacientes con PD

Recientemente se ha demostrado que los niveles de metilación global del ADN (5mC) están disminuidos en la sangre de pacientes con PD (Fig. 4A) (1,2). Además, se ha observado que existe una correlación positiva entre la edad y los niveles de metilación global en los pacientes con PD (Fig. 4B).

La hidroximetilación del ADN (5hmC) es una marca epigenética menos estudiada pero que se ha visto que también desempeña un papel fundamental en la regulación de la expresión génica. Además, la 5hmC está implicada en el desarrollo del sistema nervioso y en enfermedades neurodegenerativas. Un estudio sobre los niveles de 5hmC mostró una clara disminución en los niveles de 5hmC en los pacientes con PD respecto a los valores obtenidos en individuos sanos (Fig. 4C). Aunque no se observó una correlación estadísticamente significativa entre los valores de 5hmC y la edad en los pacientes con PD, el p valor obtenido fue de 0.079, cercano al nivel de significación estadística. Es posible que ampliando el número de individuos empleados en el estudio la correlación sea significativa.

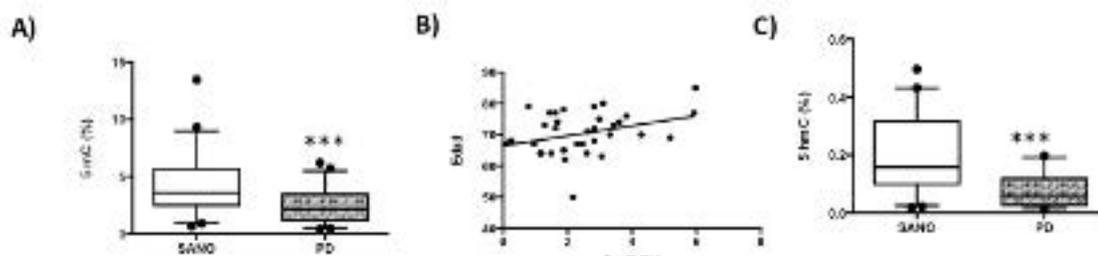


Fig. 4. La metilación global del ADN se encuentra reducida en la sangre de pacientes con PD. A) Análisis de los niveles de metilación global (5mC); B) Correlación entre la edad y los niveles de 5mC; C) Análisis de los niveles de hidroximetilación global (5hmC).

Estos resultados sugieren que la cuantificación de los niveles de 5mC y/o 5hmC en la sangre de los pacientes (biopsia líquida) sería un biomarcador útil para el diagnóstico de pacientes con PD.

El carácter reversible de las modificaciones epigenéticas hace que la epigenética no sólo sea una importante fuente de biomarcadores para el diagnóstico de PD, sino que también suponga una herramienta para el desarrollo de nuevos tratamientos dirigidos contra distintas modificaciones epigenéticas asociadas a PD. E-PodoFavalin-15999 (AtreMoline) es un nutraceutico obtenido mediante procesos biotecnológicos no desnaturalizantes a partir de la planta *Vicia faba*. Esta planta es una fuente rica de 3,4-dihidroxifenil-L-alanina (L-DOPA), el precursor de dopamina que se usa habitualmente en el tratamiento de PD. Se ha demostrado que el tratamiento con AtreMoline aumenta los niveles de catecolaminas en pacientes con PD (3) y presenta un

potente efecto neuroprotector en modelos de PD realizados en roedores (4). Recientemente también se ha demostrado que AtreMoline regula la metilación del ADN, tanto en un modelo murino como en pacientes con PD (Fig. 5) (5). Además, la inducción en los niveles de 5mC provocada por el tratamiento con AtreMoline varía en función a los distintos geno-fenotipos de la maquinaria farmacogenética, lo que sugiere la importancia de conocer el perfil farmacogenético del paciente para poder proporcionar una terapia adecuada (5).

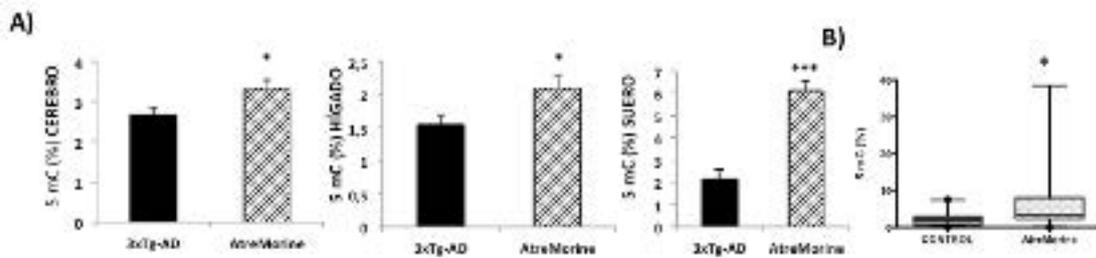


Fig. 5. El tratamiento con AtreMoline aumenta los niveles de metilación del ADN. A) Análisis de los niveles de metilación global (5mC) en el cerebro de ratones transgénicos 3xTgAD; B) Análisis de los niveles de metilación global (5mC) en el hígado de ratones transgénicos 3xTgAD; C) Análisis de los niveles de metilación global (5mC) en el suero de ratones transgénicos 3xTgAD; D) Análisis de los niveles de metilación global (5mC) en el suero de pacientes antes y después del tratamiento con AtreMoline.

La expresión y actividad de Sirtuina se encuentra disminuida en pacientes con PD

Las Sirtuinas son deacetilasas de histonas NAD-dependientes y están implicadas en diferentes vías de señalización relacionadas con el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas. Se ha observado que la expresión de SIRT1 en la sangre de pacientes con PD disminuye en un 80% respecto a los valores observados en individuos sanos, mientras que la expresión de SIRT2 no se modifica significativamente (Fig. 6A). La actividad de las enzimas Sirtuinas también se encuentra fuertemente inhibida en la sangre de pacientes con PD, siendo sus niveles prácticamente indetectables (Fig. 6B). El análisis de la curva ROC muestra una especificidad del 81% y una sensibilidad del 85% para este biomarcador (Fig. 6C), unos valores que sugieren la idoneidad del uso de Sirtuina como un biomarcador diagnóstico para la Enfermedad de Parkinson.

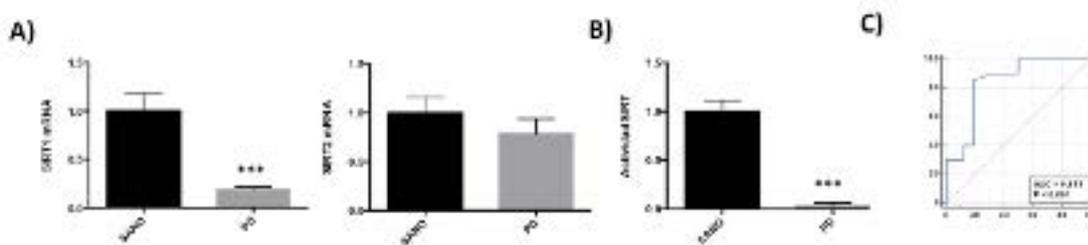


Fig. 6. La expresión y actividad SIRT se encuentra reducida en la sangre de pacientes con PD. A) Análisis de los niveles de expresión de SIRT1; B) Análisis de los niveles de expresión de SIRT2; C) Análisis de los niveles de actividad SIRT; D) Curva ROC de especificidad y sensibilidad para el biomarcador actividad Sirtuina.

La expresión de genes relacionados con procesos neurodegenerativos se encuentra alterada en pacientes con PD

Se ha observado que la expresión de distintos genes relacionados con procesos neurodegenerativos se encuentra alterada en la sangre de pacientes con PD. De este modo, en pacientes con PD la expresión del factor de crecimiento pleiotrófico neuregulina 1 (NRG1) disminuye un 80% en pacientes con PD (Fig. 7A), la expresión de la proteína asociada a microtúbulos tau (MAPT) aumenta unas 5 veces (Fig. 7B) y la expresión de factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) disminuye en 40 veces (Fig. 7C). El estudio de la curva ROC muestra que el uso de la expresión de BDNF como biomarcador de PD muestra un 100% de especificidad y un 60% de sensibilidad (Fig. 7D), unos valores que sugieren la idoneidad del uso de BDNF como un biomarcador diagnóstico para la Enfermedad de Parkinson.

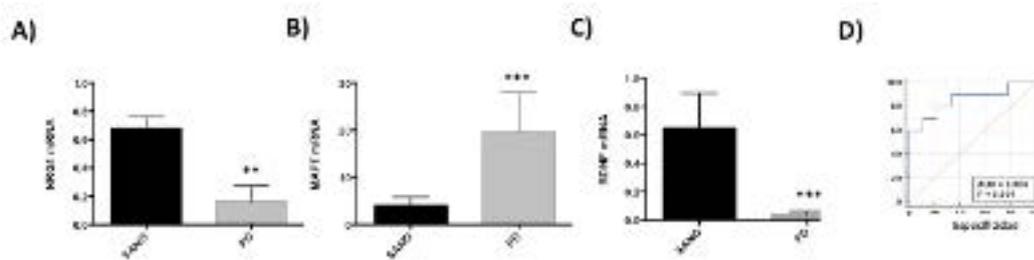


Fig. 7. La expresión de genes relacionados con procesos neurodegenerativos están regulados en la sangre de pacientes con AD. A) Análisis de los niveles de expresión de NRG1; B) Análisis de los niveles de expresión de MAPT; C) Análisis de los niveles de actividad BDNF; D) Curva ROC de especificidad y sensibilidad para el biomarcador expresión de BDNF.

CONCLUSIONES

Los resultados presentados en este artículo muestran cómo los niveles de metilación global del ADN y la expresión/actividad de la deacetilasa de histonas Sirtuina se encuentran disminuidas en la sangre de pacientes con PD. Además, se ha encontrado alterada la expresión de distintos genes implicados en procesos neurodegenerativos, entre los que destaca BDNF, cuya expresión es casi inexistente en la sangre de pacientes con PD. Todos ellos serían nuevos biomarcadores epigenéticos para el diagnóstico de PD que se emplearían mediante un simple análisis de sangre (biopsia líquida) y que ayudarían en la implementación de un mejor protocolo diagnóstico personalizado de esta patología.

Cabe destacar el carácter reversible de las modificaciones epigenéticas y por lo tanto de los biomarcadores epigenéticos. De este modo, estos biomarcadores no sólo son útiles para el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson sino que podrían ayudar al especialista a analizar la evolución del paciente y la respuesta a los tratamientos pautados. La existencia de biomarcadores epigenéticos que puedan emplearse mediante técnicas de biopsia líquida facilita el seguimiento de la evolución del paciente a lo largo de los meses.

BIBLIOGRAFIA

1. Martínez-Iglesias, O.; Carrera i.; Carril, J.C.; Fernández-Novoa, L.; Cacabelo,s N.; Cacabelos, R. DNA Methylation in Neurodegenerative and Cerebrovascular Disorders. *Int J Mol Sci* 2020; 21.
2. Martínez-Iglesias, O.; Naidoo, V.; Cacabelos, N.; Cacabelos, R. Epigenetic Biomarkers as diagnostic tolos for Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci* 2022; 23,13.
3. Cacabelos, R.; Fernández-Novoa, L.; Alejo, R. et al. EPodoFavalin-15999 (Atremorine[®])-induced neurotransmitter and hormonal response in Parkinson's Disease. *J Explor Res Pharmacol* 2016; 1, 1-12.
4. Carrera, I.; Fernández-Novoa, L.; Sampedro, C.; Cacabelos, R. Neuroprotective Effect of Atremorine in an Experimental Model of Parkinson's Disease. *Curr Pharm Des* 2017; 23, 2673-84.
5. Martínez-Iglesias, O.; Naidoo, C.; Carri,l J.C.; Carrera, I.; Corz,o L.; Rodriguez, S.; Alejo, R.; Cacabelos, N.; Cacabelos, R. AtreMorine treatment regulates DNA methylation in Neurodegeenrative Disorders: Epigenetic and pharmacogenetic studies. *Curr Pharm Pers Med* 2020; 17, 159-71.

EFFECTO ANTITUMORAL DEL AGENTE EPINUTRACÉUTICO ANTIGAN EN CULTIVOS CELULARES

OLAIA MARTÍNEZ-IGLESIAS, IVAN CARRERA, VINOGRAN NAIDOO Y RAMÓN CACABELOS

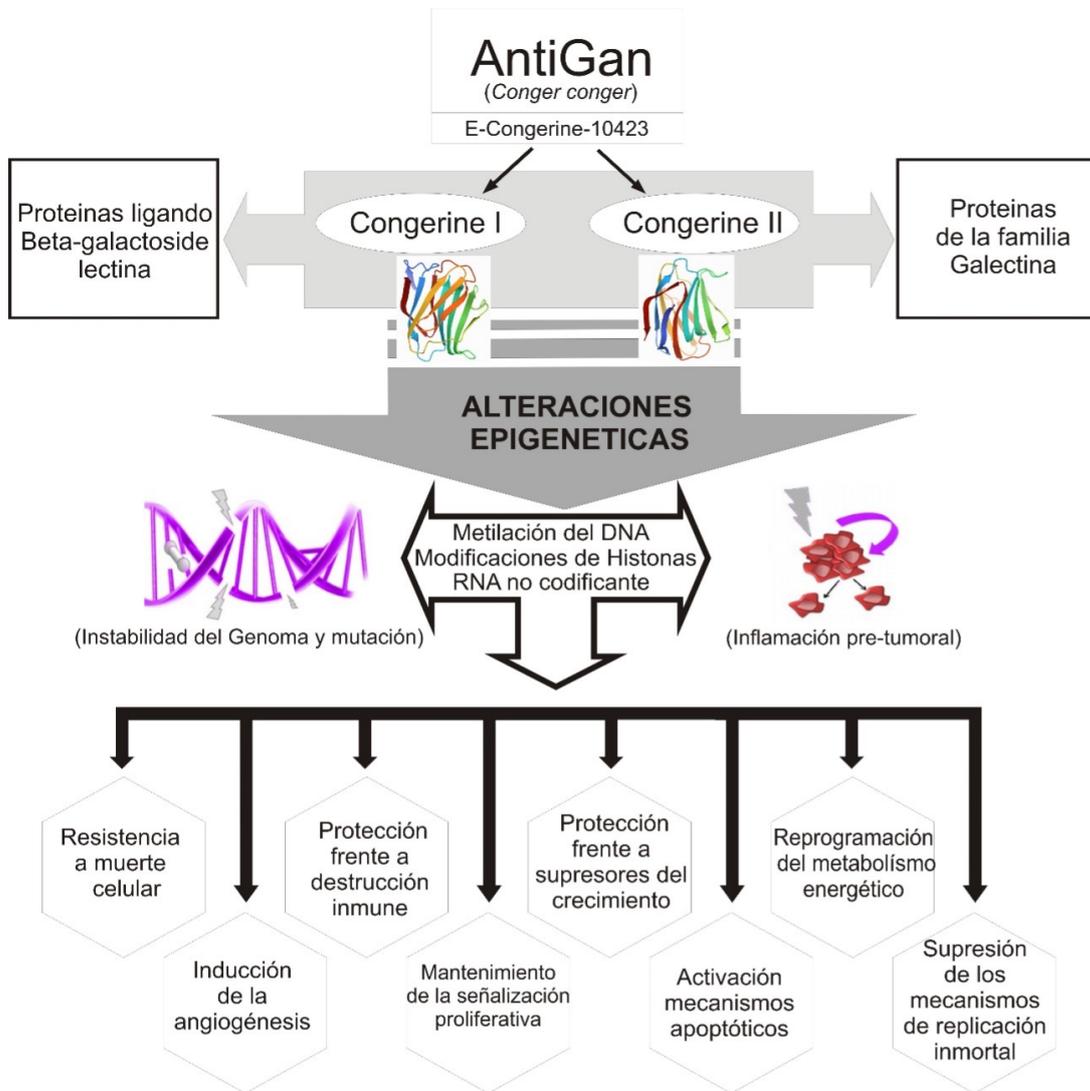
Centro Internacional de Neurociencias y Medicina Genómica
Departamentos de Epigenética Médica, Biotecnología de la Salud,
Neurociencias Básica y Medicina Genómica

ABSTRACT

Actualmente, en la búsqueda de nuevos tratamientos para los varios tipos de cáncer, se prioriza la caracterización de agentes quimioterapéuticos novedosos y efectivos. Los epifármacos parecen responder a esta demanda, por lo que se empiezan a utilizar progresivamente en el tratamiento del cáncer, aunque también presentan efectos adversos. Por ello, el modular al aparato epigenético con bioproductos de extractos naturales, como el AntiGan, puede ayudar tanto a la prevención como al tratamiento del cáncer sin tales efectos secundarios. Para determinar si el extracto marino de lipoproteínas (AntiGan) muestra efectos epigenéticos y antitumorales, se ha testado su efecto en diferentes líneas celulares tumorales humanas como las HepG2 (carcinoma hepatocelular) y HCT116 (carcinoma colorrectal), utilizando concentraciones graduales (10, 50, 100 y hasta 500 µg/mL) durante 24 h, 48 h y 72 h. Se ha observado que AntiGan (10 µg/mL) redujo la viabilidad de células tumorales después de 48 h y aumentó la expresión de marcadores antitumorales (Bax); En mayores concentraciones, AntiGan (10 y 50 µg/mL) aumentó la inmunorreactividad indicada por el marcador de caspasa-3 en ambos tipos de células tumorales (HepG2 y HCT116). Además, AntiGan (10 y 50 µg/mL) también atenuó la expresión de proteínas pro-inflamatorias (COX-2 e IL-17) y pre-cancerígenas. En el campo epigenético, se observó que AntiGan (10 µg/mL) aumentó los niveles de marcadores de metilación de ADN (5 mC) en ambos tipos de células y redujo la expresión de aquellos que inducen la metilación

propia de células pro-cancerígenas (DNMT1, DNMT3a y SIRT1) en estas células tumorales. Por lo tanto, el presente estudio experimental *in vitro* indica que AntiGan es un novedoso bioproducto antitumoral con propiedades epigenéticas (epinutraceuticas) demostradas y válido para el tratamiento del cáncer de hígado y colorrectal.

Gráfico ilustrativo del papel central de los mecanismos epigenéticos inducidos por AntiGan contra el cáncer.



Las modificaciones epigenéticas como la metilación del ADN, las modificaciones de las histonas y los ARN no codificantes pueden ser regulados por las proteínas galectina (congerina I y II) como factores clave para mejorar las características patológicas del cáncer. Estas características están influenciadas por procesos como la inestabilidad genómica, la mutación y la inflamación promotora de tumores, que a su vez conducen a alteraciones en los mecanismos epigenéticos. AntiGan aumentó la apoptosis y redujo la viabilidad celular, así como la expresión de marcadores pre-cancerígenos COX-2 e IL-17 en líneas celulares de carcinoma hepatocelular (HepG2) y carcinoma colorrectal (HCT116). AntiGan también reguló la metilación del ADN y la actividad/expresión de SIRT, lo que indica que AntiGan es un epinutraceutico contra dichas células tumorales.

INTRODUCCIÓN

El cáncer, una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo, se caracteriza por el crecimiento celular desenfrenado y la capacidad adquirida de diseminarse a otros órganos. El cáncer y las neoplasias malignas fueron la principal causa de muerte en el grupo de edad de 45 a 64 años en los Estados Unidos en 2020; alrededor de 1.8 millones de personas fueron diagnosticadas con cáncer y 600 000 personas murieron a causa de la enfermedad. El cáncer colorrectal (CCR) representa el 10 % de la incidencia mundial de cáncer. El CCR, la tercera neoplasia maligna más frecuente y el segundo subtipo de cáncer más letal, produce aproximadamente 1.9 millones de nuevos casos al año. De acuerdo con las proyecciones de envejecimiento, expansión de la población y progreso humano, se espera que el número de nuevos casos de CCR a nivel mundial alcance los 3.2 millones para 2040. Asia oriental y África son regiones con la mayor carga de carcinoma hepatocelular (HCC). Después del cáncer de pulmón, colorrectal y de estómago, el cáncer de hígado es el sexto cáncer diagnosticado con más frecuencia y la cuarta causa más importante de mortalidad relacionada con el cáncer en todo el mundo.

El metabolismo celular desregulado es un sello distintivo del cáncer y ocurre debido a mutaciones genéticas acumuladas, cambios epigenéticos y factores ambientales. La epigenética, el estudio de las alteraciones reversibles y hereditarias en la expresión génica y la función celular causadas por mecanismos basados en la cromatina sin cambios en la secuencia de ADN original, está influenciada por factores ambientales. Las alteraciones aberrantes del aparato epigenético, por lo tanto, promueven la aparición inapropiada de expresiones genéticas y tumorigénesis.

Los mecanismos epigenéticos clásicos incluyen la metilación del ADN, la remodelación de la cromatina/modificaciones de histonas y la regulación de microARN (miARN). Las alteraciones epigenéticas deficientes, como la hipermetilación del promotor de los genes supresores de tumores y las modificaciones anormales de las histonas postraduccionales causadas por la desregulación de la acetilación/metilación y los cambios en la expresión de miARN, se asocian con varios tipos de cáncer.

La metilación del ADN sigue siendo el sello epigenético más investigado. La metilación del ADN es un mecanismo reversible en el que las ADN

metiltransferasas (DNMT) catalizan la transferencia de grupos metilo del cofactor S-adenosil metionina a la posición C5 de las citosinas en los dinucleótidos CpG; estas citosinas se convierten en 5-metilcitosinas (5mC), lo que afecta la estabilidad y accesibilidad del ADN, regulando así la expresión génica. La familia DNMT comprende las enzimas canónicas DNMT1, DNMT3a y DNMT3b. DNMT1 conserva las marcas de metilación en las hebras de ADN recién sintetizadas y mantiene la herencia del patrón de metilación. La hipometilación genómica global ocurre en varios tipos de cáncer, incluido el cáncer hepatocelular y colorrectal. Los elementos repetitivos en la heterocromatina, como las repeticiones satelitales y los retrotransposones, se hipometilan en varios tipos de cáncer, lo que afecta la estructura de la cromatina y la estabilidad genómica.

La acetilación de histonas implica la transferencia de un grupo acetilo a un residuo de lisina en el extremo N de las histonas; esto reduce la carga positiva de las histonas, debilitando su interacción con el ADN cargado negativamente. La acetilación de histonas promueve la transcripción de genes al facilitar la unión de factores de transcripción y complejos enzimáticos relacionados con el ADN. Sin embargo, las histonas desacetilasas producen el efecto contrario e inhiben la expresión génica. Las sirtuinas, son proteínas desacetilasas/ADP ribosiltransferasas dependientes de NAD que desempeñan funciones importantes en la estructura de la cromatina, la regulación del ciclo celular, la diferenciación celular, la respuesta celular al estrés, el metabolismo y los procesos de envejecimiento. SIRT1, la sirtuina de mamíferos más estudiada, regula la diferenciación neuronal, la progresión tumoral, la apoptosis, la estabilidad de la estructura cromosómica y del ADN, la expresión génica y la progresión del ciclo celular.

Los cánceres se asocian con modificaciones epigenéticas aberrantes, como alteraciones en la metilación del ADN o modificaciones anormales de histonas postraduccionales por desregulación de la acetilación y/o metilación. Dado que los modificadores epigenéticos son sensibles a factores extrínsecos y exhiben mecanismos reversibles, están emergiendo como objetivos prometedores en una variedad de patologías, incluido el cáncer. Varios epifármacos, compuestos que se dirigen a enzimas

con actividad epigenética o al epigenoma, se han utilizado en ensayos clínicos para la terapia del cáncer. Sin embargo, se han informado efectos tóxicos significativos con esos agentes. Los nutraceuticos también funcionan como epifármacos (1-4), y varios bioproductos naturales como la quercetina, el resveratrol, la curcumina, la genisteína y las catequinas exhiben potentes efectos antitumorales al revertir las alteraciones epigenéticas asociadas con la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores. Estos compuestos modulan el epigenoma a través de mecanismos de remodelación de la cromatina. Los nutraceuticos pueden, por lo tanto, restaurar las alteraciones epigenéticas inducidas por la carcinogénesis y representar una opción terapéutica alternativa para el tratamiento del cáncer, ayudando a mejorar los efectos etiopatológicos del cáncer.

AntiGan es un nutraceutico perteneciente a la familia de las lipofisinas, que ha sido desarrollado mediante procedimientos biotecnológicos no desnaturalizantes a partir de la epidermis y el esófago de la anguila marina Congrio que muestra propiedades de fortificación inmunoquímica. El extracto de E-Congerine-10423 es la base estructural de AntiGan y contiene todas las propiedades biológicas de la especie original. En la composición nutricional de E-Congerine-10423 destaca el alto contenido en proteínas (80%) y la gran cantidad de ácidos grasos insaturados (65% de la grasa total). El principal ácido graso monoinsaturado en Anti-Gan es el ácido oleico, y los ácidos grasos poliinsaturados están representados principalmente por EPA, DHA y ácido linoleico, y el ácido graso saturado más abundante es el ácido palmítico. E-Congerine-10423 también contiene vitaminas A y D en grandes cantidades, y vitaminas del complejo B, principalmente B1 y B3, y minerales, como fósforo, potasio y magnesio. Las congerinas I y II son dos proteínas aisladas del moco de la piel del congrio (*Conger myrias-ter*), que pertenecen a la familia de proteínas lectinas galectinas. Las galectinas participan en muchos procesos fisiológicos como el desarrollo, diferenciación, morfogénesis, inmunidad, apoptosis y metástasis de células malignas. La existencia de proteínas de congerina en la piel mucosa del congrio puede ser responsable de los efectos inmunomoduladores, citotóxicos y quimiopreventivos de AntiGan. AntiGan es citotóxico para las células de adenocarcinoma colorrectal en cultivo y contra la inflamación relacionada con el cáncer de colon *in vivo*. En humanos, AntiGan reduce los niveles de marcadores tumorales en sujetos sanos; esta respuesta es pronunciada en pacientes

con diferentes tipos de cáncer (5,6,7). Esos estudios, sin embargo, no probaron el potencial de AntiGan como un producto nutraceutico con propiedades epigenéticas (epinutraceutico). Otros nutraceuticos como E-PodoFavalin-15999 (AtreMoline), un novedoso compuesto extraído de *Vicia fabia L.* y rico en 3,4-dihidroxifenil-L-alanina (L-DOPA), también regulan la metilación del ADN, en neuro-trastornos degenerativos (8-10). En el presente estudio, investigamos, *in vitro*, el efecto de AntiGan contra el carcinoma hepatocelular, su acción citotóxica contra el cáncer colorrectal y su potencial como epifármaco. Dado que AntiGan exhibe propiedades antitumorales, el objetivo de este estudio fue determinar si AntiGan actúa como epinutraceutico al regular la maquinaria epigenética que impulsa el desarrollo y la progresión del cáncer.

RESULTADOS

Efecto de AntiGan sobre la viabilidad celular de líneas tumorales humanas

Para determinar el efecto de AntiGan sobre la viabilidad de las células cancerosas, se seleccionaron dos líneas celulares de cáncer humano diferentes. HepG2 es una línea celular de hepatocarcinoma derivada del hígado de un varón caucásico de 15 años con carcinoma hepatocelular bien diferenciado. HCT116, una línea celular de cáncer de colon humano con morfología epitelial, se utiliza habitualmente en investigación terapéutica y detección de nuevos fármacos. Las células HepG2 y HCT116 se trataron con AntiGan (10, 50, 100 y hasta 500 µg/mL) durante 24 h, 48 h y 72 h (Fig. 1). Después de 48 h de tratamiento, en presencia de 10 µg/mL de AntiGan, la viabilidad de células cancerígenas disminuyó aproximadamente un 30 % (Fig. 1B). El efecto de AntiGan sobre la viabilidad de células cancerígenas no fue dependiente de la dosis, por lo que las concentraciones más altas de AntiGan no produjeron ningún efecto aditivo (Figura 1B). Se obtuvieron resultados similares en ambas líneas celulares 72 h después del tratamiento con AntiGan (Fig. 1C).

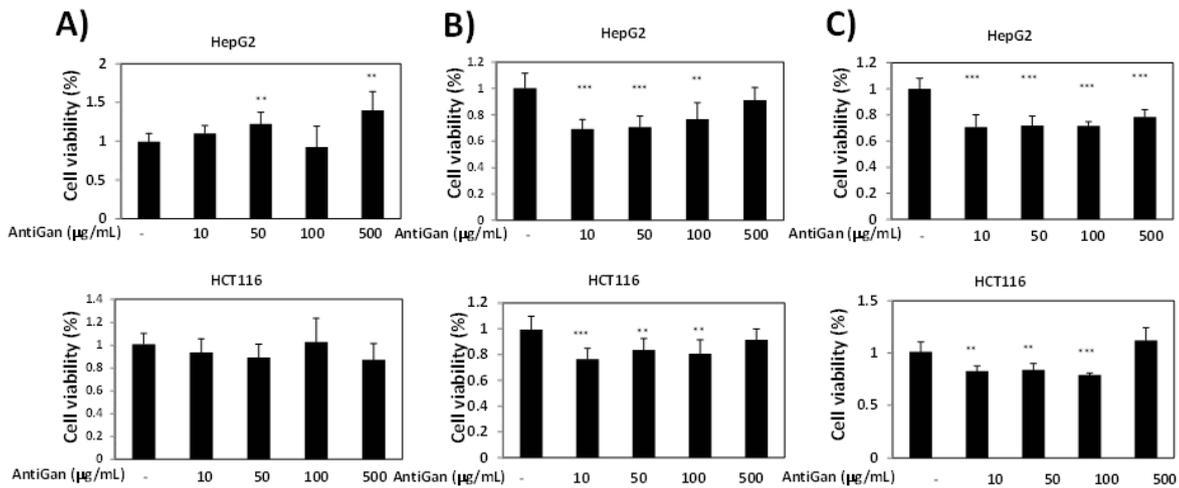
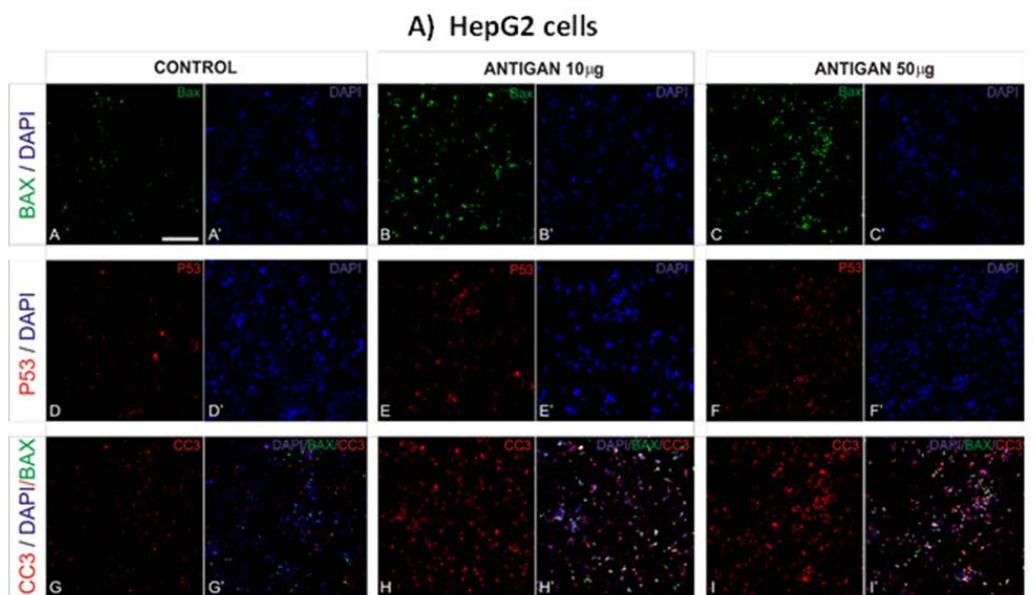


Fig. 1. AntiGan reduce la viabilidad de líneas celulares cancerígenas. Las células cancerígenas HepG2 y HCT116 se trataron con AntiGan (10-500 µg/mL); resultados a las 24 h (A), 48 h (B) y 72 h (C). La viabilidad celular se determinó con el ensayo *PrestoBlue Cell Viability*. Se realizaron ocho réplicas de cada tratamiento y los resultados se representan como cambios de densidad en comparación con las células tratadas con vehículo inócuo. Los datos se expresan como media ± S.E.M. ** p < 0,01; *** p < 0,001.

El tratamiento con AntiGan induce la apoptosis en líneas tumorales de cáncer humano

Bax es miembro de la familia Bcl-2 con propiedades pro-apoptóticas. Dado el papel de Bax en la apoptosis, probamos si AntiGan inducía algún cambio en la expresión de Bax cuando se agrega al medio de cultivo de células HepG2 y HCT116. En células HepG2 y HCT116, AntiGan (10 y 50 µg/mL) provocó un gran aumento en la expresión de Bax (Fig. 2A,B), en un rango del 53-67 % en comparación con las células tratadas con vehículo inócuo. Por otro lado, la proteína supresora de tumores 53 (p53) es un importante regulador de la apoptosis. La inactivación de p53 ocurre en más del 50% de todos los cánceres humanos, y provoca la pérdida de un sensor clave de daño en el ADN, lo que induce una cascada de efectores apoptóticos. La expresión de p53 aumentó considerablemente, aunque no de forma estadísticamente significativa, en las células HepG2 tratadas con AntiGan (50 µg/mL) en comparación con las células tratadas con vehículo control (Fig. 2A). El aumento en la expresión de p53, causado por el tratamiento con AntiGan, fue mayor en las células HCT116 que en las células HepG2 (Fig. 2B).



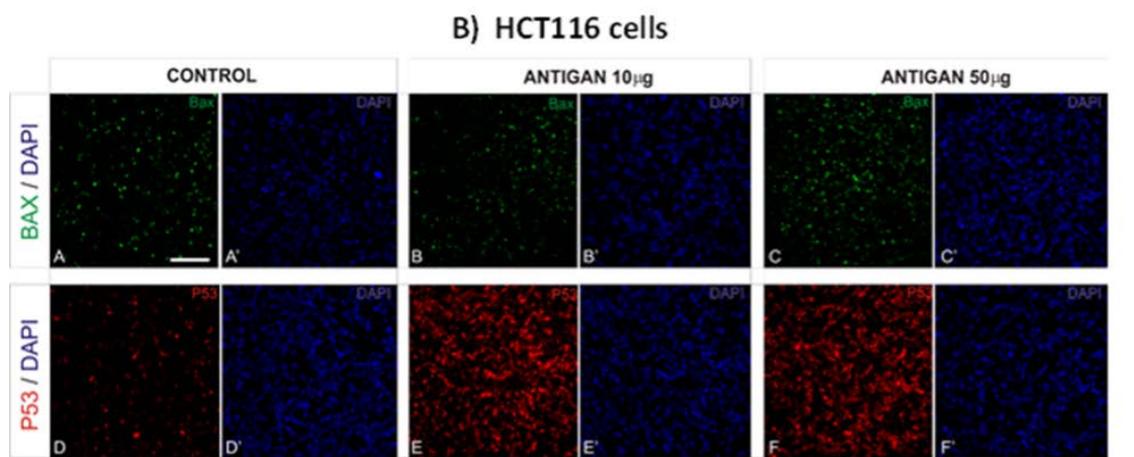
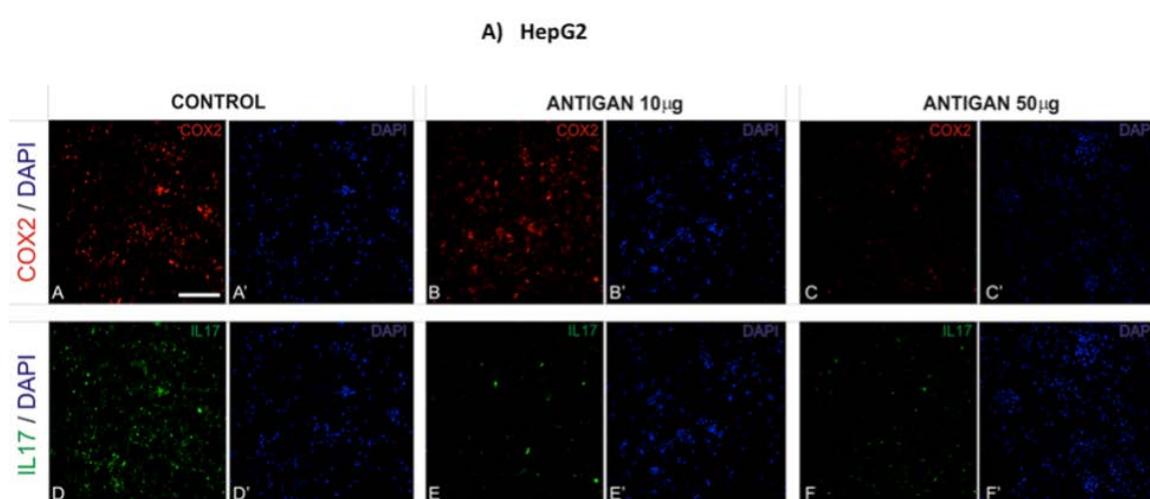


Fig. 2. AntiGan induce la apoptosis en líneas celulares de cáncer. Las células cancerígenas HepG2 (A) y HCT116 (B) se trataron con AntiGan (10 y 50 µg/mL) durante 48 h y luego se inmunotizaron con anticuerpos contra Bax (verde) y p53 (rojo). A, D, G Células de control; B, E, H ANTIGAN 10 µg/mL; C, F, I ANTIGAN 50 µg/ml. Los núcleos se marcaron con diclorhidrato de 4',6-diamidina-2'-fenilindol (DAPI, azul). Barra de escala: 100 µm para todas las imágenes.

AntiGan regula la expresión de marcadores pre-tumorales (COX-2 e IL-17)

COX-2 induce la actividad similar a la observada por las células madre cancerígena y también su resistencia apoptótica, proliferación, angiogénesis, inflamación, invasión y metástasis. AntiGan no afectó la expresión de COX-2 en células HepG2 (Fig. 3A), sin embargo, AntiGan (10 µg/mL) produjo una disminución moderada (42%) en las células HCT116 en comparación con las células no tratadas (Fig. 3B) y AntiGan (50 µg/mL) redujo la expresión de COX-2 en un 61% en células HCT116 (Fig. 3B). Por otro lado, el marcador pretumoral interleucina-17 (IL-17) es una citocina proinflamatoria implicada en la formación, el crecimiento y la metástasis de varios tipos de cáncer. AntiGan (10 y 50 µg/mL) redujo la expresión de IL-17 en células HepG2 (Fig. 3A). El efecto de AntiGan fue más fuerte en las células HCT116, por lo que esta disminución fue un 74% mayor en las células tratadas con 50 µg/mL de AntiGan que en las células tratadas con 10 µg/ml de AntiGan, que mostraron un aumento del 39% en la expresión de IL-17 (Fig. 3B).



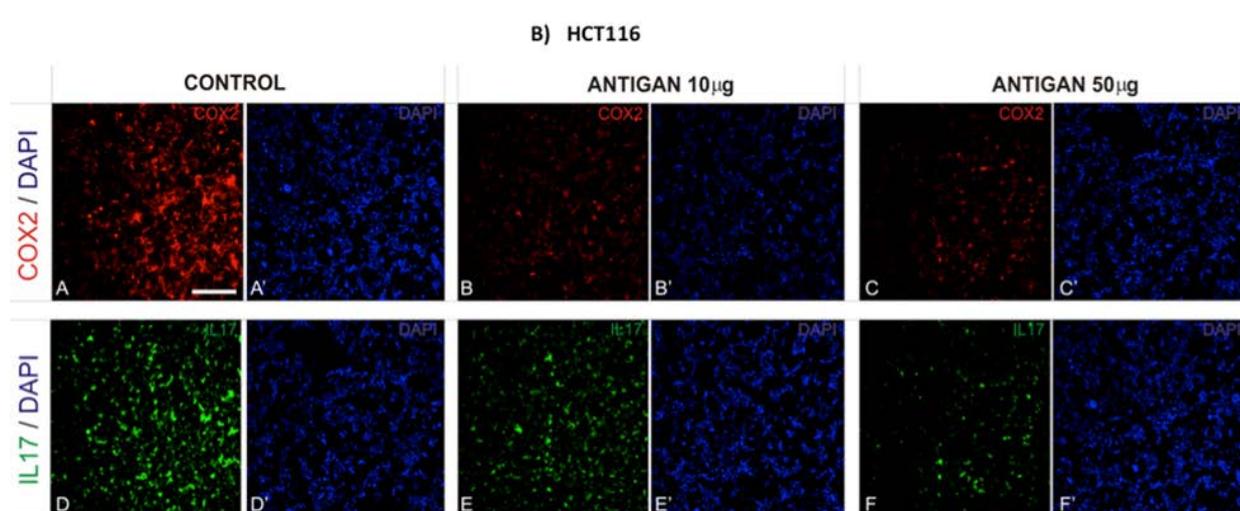


Fig. 3. AntiGan regula la expresión de marcadores pre-tumorales COX-2 e IL-17 en células cancerosas *in vitro*. Las células HepG2 (A) y HCT116 (B) se trataron con AntiGan (10 y 50 µg/mL) durante 48 h. Las células se inmunomarcaron con anticuerpos contra COX-2 (rojo) e IL-17 (verde). A, D Células de control; B, E ANTI-GAN 10 ug/mL; C, F, ANTIGAN 50 ug/ml. Las células se contrastaron con DAPI (azul) para marcar los núcleos. COX-2, ciclooxigenasa-2; IL-17, interleucina 17. Barra de escala: 100 µm para todas las imágenes.

AntiGan regula la metilación del ADN en células HepG2 y HCT116

La hipometilación del ADN es una característica omnipresente en los tumores humanos. En este estudio también testamos el efecto de AntiGan en la metilación global del ADN. En efecto, los niveles de 5mC aumentaron en las células HepG2 y HCT116 expuestas a AntiGan (Fig. 4A,B). En ambas líneas celulares, este aumento fue mayor en presencia de 10 µg/mL que de 50 µg/mL; AntiGan (10 µg/mL) aumentó los niveles de 5mC en un 55% en las células HepG2 (Figura 4A) y en casi un 50% en la línea celular HCT116 (Fig. 4B). AntiGan, por lo tanto, revirtió la inducción de hipometilación en estas células tumorales. Por otro lado, dado el aumento en la metilación global del ADN causado por el tratamiento con AntiGan, usamos el método de la qPCR para analizar la expresión de DNMT en las líneas celulares HepG2 y HCT116. AntiGan (10 µg/mL) redujo fuertemente la expresión de DNMT1 y DNMT3a en células HepG2 y HCT116 en comparación con el vehículo control (Fig. 4C,D). No hubo diferencias en la expresión de DNMT1 y DNMT3a entre 10 y 50 µg/mL de AntiGan. Por lo tanto, AntiGan (10 µg/mL) fue suficiente para regular la maquinaria de metilación del ADN. A continuación, evaluamos la expresión de la proteína DNMT después del tratamiento con AntiGan con microscopía de inmunofluorescencia. Sin embargo, los niveles de proteína DNMT3a fueron más altos en las células HepG2 y HCT116 después del tratamiento con AntiGan que en las células no tratadas (Figura 4G,H). Este aumento se observó en ambas concentraciones de AntiGan (10 y 50 µg/mL).

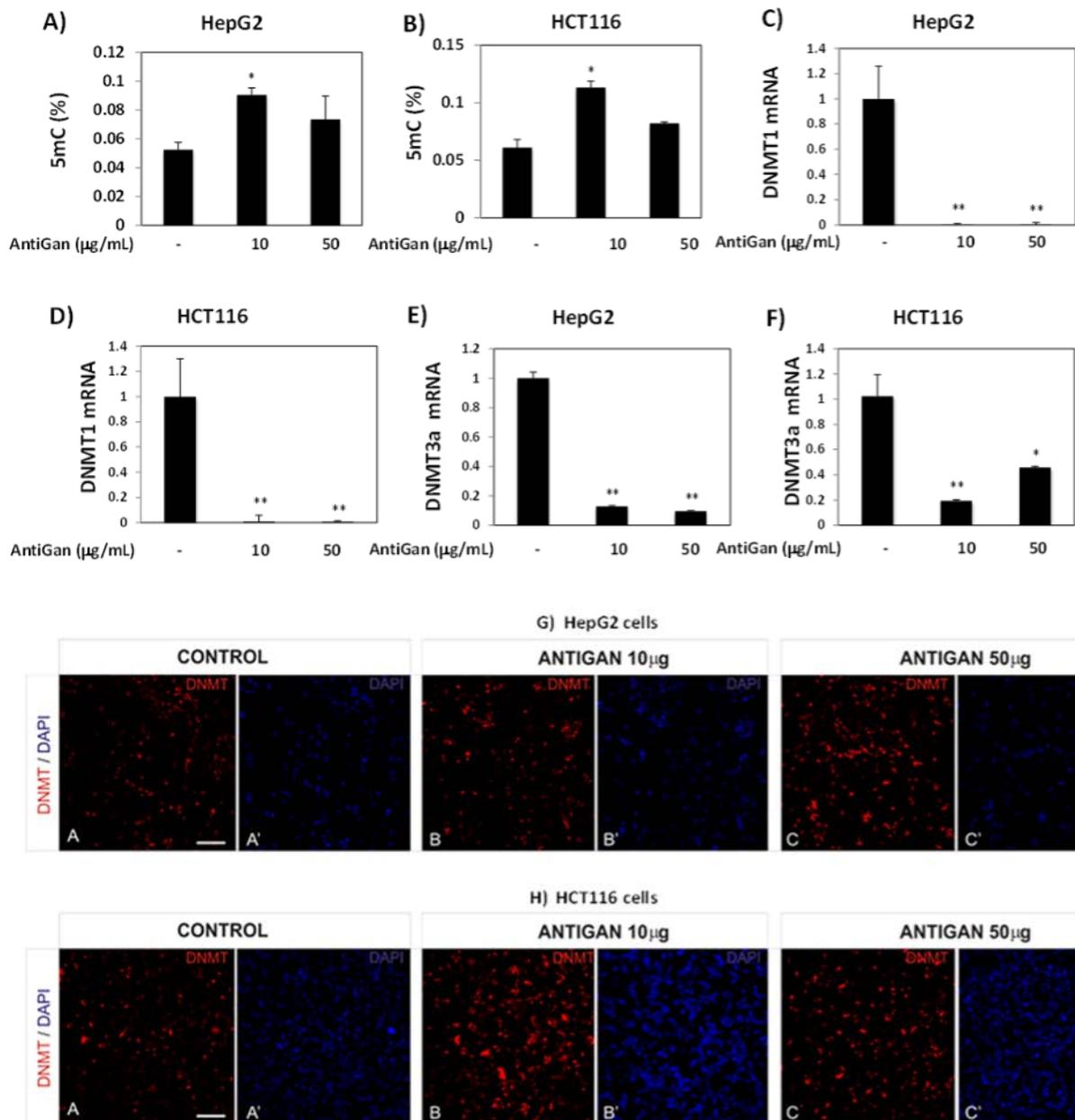


Fig. 4. AntiGan regula la metilación del ADN en líneas celulares de cáncer colorrectal y de hígado. Las células HepG2 y HCT116 se trataron con AntiGan (10 y 50 µg/mL) durante 48 h. Los niveles globales de metilación del ADN (5 mC) se midieron en células HepG2 (A) y HCT116 (B) y se expresaron como porcentajes. Los niveles de ARNm de DNMT1 se midieron mediante qPCR en células HepG2 (C) y HCT116 (D). Los niveles de ARNm de DNMT3a también se midieron mediante qPCR en células HepG2 (E) y HCT116 (F). Los resultados se expresan como cambio de densidad en comparación con las células no tratadas. Las células HepG2 (G) y HCT116 (H) se inmunotñieron con un anticuerpo contra DNMT3a (rojo). Células de control; B ANTIGAN 10 ug/mL; C ANTIGAN 50 ug/ml. Se usó DAPI (en azul) para marcar los núcleos. Los datos se expresan como media ± S.E.M. La significación estadística entre grupos se calculó con ANOVA de una vía con corrección de Bonferroni post hoc para comparaciones múltiples y se muestra como: * p < 0,05. 5 mC, 5-metilcitosina; qPCR, PCR cuantitativa en tiempo real. Barra de escala: 100 µm para todas las imágenes.

Sin embargo, el análisis detallado mostró diferencias en términos de localización de DNMT3a. La inmunorreactividad de DNMT3a se observó principalmente dentro de los núcleos de las células HepG2 y HCT116 tratadas con vehículo control. Sin embargo, AntiGan disminuyó la inmunopositividad DNMT3a nuclear, pero aumentó la citoplasmática, en ambas líneas celulares (Fig. 5A,B). La presencia de tinción citoplasmática de DNMT3a después del tratamiento con AntiGan puede explicar la disparidad en el efecto de AntiGan entre nuestros datos de ARNm y proteínas.

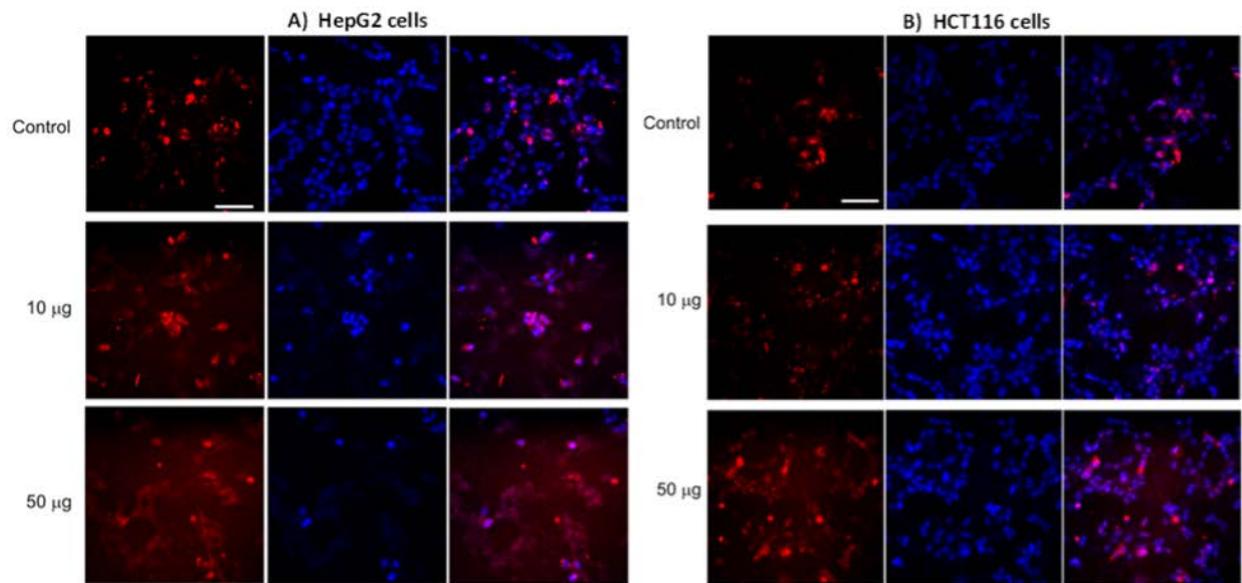


Fig. 5. AntiGan regula la localización celular de DNMT3a en células cancerígenas *in vitro*. Las células cancerígenas HepG2 (A) y HCT116 (B) se trataron con AntiGan (10 y 50 µg/mL) durante 48 h. Las células se inmunotiñeron con un anticuerpo específico contra DNMT3a (rojo) y se contrastaron con DAPI (azul) para marcar los núcleos. Las imágenes combinadas que muestran inmunorreactividad de DNMT3a/tinción de DAPI se encuentran en la columna derecha de los paneles. Barra de escala: 100 µm para todas las imágenes.

AntiGan regula la expresión y actividad de Sirtuina en células HepG2 y HCT116

Las Sirtuinas regulan la supervivencia, la apoptosis, la metástasis y la tumorigénesis de las células cancerígenas. AntiGan redujo la actividad SIRT en las líneas celulares HepG2 y HCT116 (Figura 6). En las células HepG2, AntiGan (50 µg/mL) provocó una ligera disminución de la actividad SIRT ($p = 0.04$) (Fig. 6A); sin embargo, AntiGan, en concentraciones de 10 y 50 µg/ml, redujo significativamente la actividad SIRT solo en células HCT116 ($p = 0.034$ y $p = 0.041$, respectivamente) (Fig. 6B). Si bien SIRT1 estimula el crecimiento y la proliferación celular en una variedad de subtipos de cáncer, también puede actuar como un supresor de tumores. AntiGan (10 y 50 µg/mL) redujo la expresión de ARNm de SIRT1 en células HepG2 y HCT116 en comparación con las células no tratadas, y estas reducciones fueron similares en ambas concentraciones de AntiGan (Fig. 6C,D). AntiGan (10 y 50 µg/mL) redujo los niveles de ARNm de SIRT2 más de 10 veces en células HepG2 (de 1 a 0.053 y 0.057, respectivamente) (Fig. 6E). AntiGan (10 y 50 µg/mL) redujo los niveles de SIRT2 en aproximadamente un 70% (de 1 a 0.35 y 0.38, respectivamente) en células HCT116 (Fig. 6F). Estas reducciones fueron nuevamente similares en ambas concentraciones de AntiGan. Para determinar el efecto de AntiGan en la expresión de la proteína SIRT1, inmunomarcamos células HCT116 con un anticuerpo contra SIRT1; Las células SIRT1 inmunopositivas fueron ligeramente más numerosas en presencia de 10 y 50 µg/mL de AntiGan que en las células no tratadas (Fig. 6G).

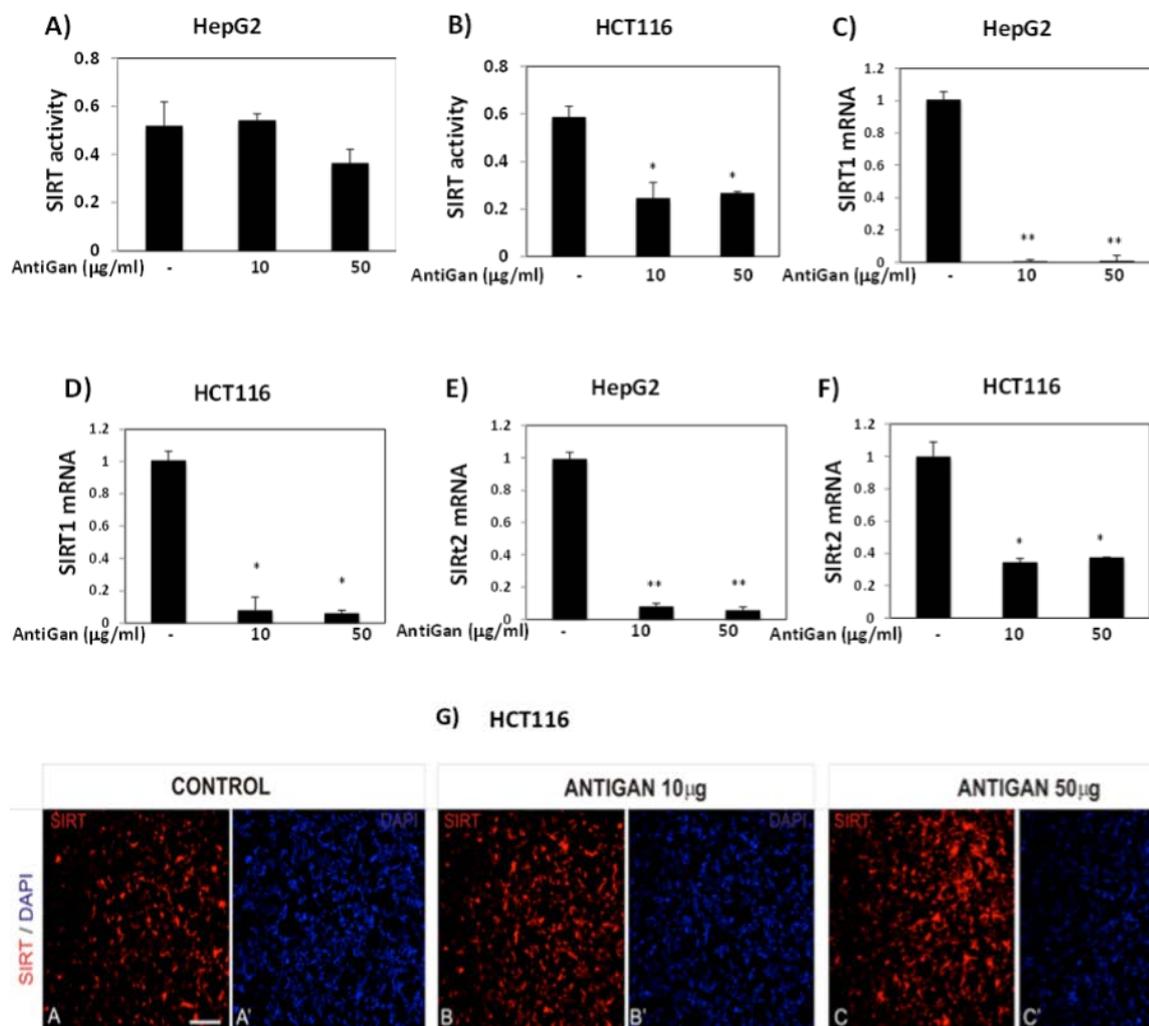


Fig. 6. AntiGan regula la actividad y expresión de SIRT. Las células cancerígenas HepG2 y HCT116 se trataron con AntiGan (10 y 50 µg/mL) durante 48 h. La actividad de sirtuina se midió en células HepG2 (A) y HCT116 (B), los niveles de ARNm de SIRT1 se midieron en células HepG2 (C) y HCT116 (D), y los niveles de ARNm de SIRT2 también se midieron en células HepG2 (E) y HCT116 (F). Los resultados se expresan como cambios en la inducción de actividad celular frente a células no tratadas. (G) Las células HCT116 se inmunomarcaron con un anticuerpo contra SIRT1 (rojo). Células de control; B ANTIGAN 10 µg/mL; C ANTIGAN 50 µg/mL. Las células se contratiñeron con el marcador de ADN nuclear DAPI (azul). La significación estadística entre grupos se calculó con ANOVA de una vía con corrección *post hoc* de Bonferroni para comparaciones múltiples y se muestra como: * $p < 0,05$. qPCR, PCR cuantitativa en tiempo real; SIRT, sirtuina.

La inmunolocalización de SIRT1 se alteró en células tumorales tratadas con AntiGan. En células HCT116 expuestas a AntiGan (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), se detectó inmunorreactividad de SIRT1 en el núcleo y en el citoplasma; en las células tratadas con vehículo control, la tinción positiva para SIRT1 se limitó principalmente al interior de los núcleos. La localización citoplasmática de SIRT1 fue mayor en las células HCT116 tratadas con 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de AntiGan (Fig. 7).

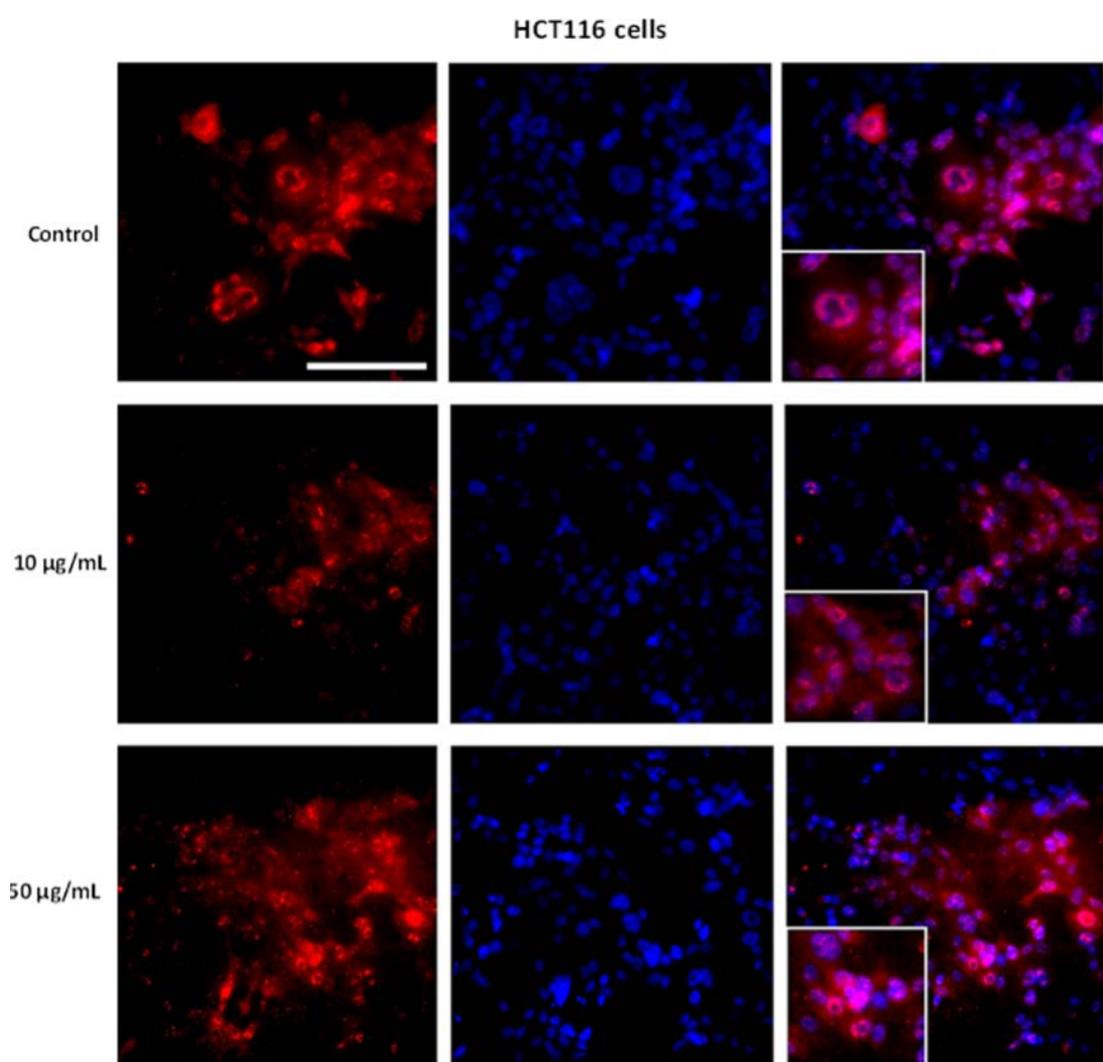


Fig. 7. AntiGan regula la localización celular de SIRT1. Las células cancerígenas HCT116 se trataron con AntiGan (10 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) durante 48 h. Las células se inmunomarcaron con un anticuerpo contra SIRT1. Los núcleos se contrastaron con DAPI (azul). Las imágenes combinadas que muestran inmunorreactividad de SIRT1/tinción DAPI se encuentran en la columna derecha de los paneles. Barra de escala: 150 μm para todas las imágenes.

CONCLUSIONES

En este estudio, hemos evaluado el nutracéutico AntiGan como un potencial agente terapéutico contra el cáncer. Los resultados aquí presentados demuestran que AntiGan aumenta la apoptosis y reduce la viabilidad de células cancerígenas, mediante la expresión de COX-2 e IL-17 en las líneas celulares HepG2 y HCT116. Además, AntiGan regula la metilación del ADN y la actividad y expresión de SIRT, lo que indica que AntiGan es un Epinutracéutico contra las células tumorales descritas. Aunque se han desarrollado y probado varios Epimedamentos en ensayos clínicos para el tratamiento de tumores, estos han mostrado cierto grado de toxicidad sistémica y algunos efectos secundarios adversos. Los nutracéuticos (EpiNutracéuticos), sin embargo, pueden ser un tratamiento eficaz y fiable para evitar tales efectos indeseables en pacientes con cáncer. Nuestros datos muestran que AntiGan es un poderoso compuesto antitumoral y epigenético contra las células cancerígenas de hígado y colon *in vitro* (11); estos resultados pueden ayudar a ampliar las opciones terapéuticas actuales y futuras, al mejorar notablemente el tratamiento de pacientes con cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nakamura, O.; Matsuoka, H.; Ogawa, T.; Muramoto, K.; Kamiya, H.; Watanabe, T. Opsonic effect of congerin, a mucosal galectin of the Japanese conger, *Conger myriaster* (Brevoort). *Fish Shellfish Immunol.* **2006**, *20*, 433-435.
2. Jayasinghe, C.D.; Udalamaththa, A.; Imbulana, I.B.P.S.; Suetake, I. Dietary phytochemicals as Epi-drugs: role in modulating the epigenetic mechanisms of human diseases. *Int. J. Curr. Pharm. Rev. Res.* **2015**, *7*, 50-58.
3. Carrera, I.; Martínez, O.; Cacabelos, R. Neuroprotection with natural antioxidants and nutraceuticals in the context of brain cell degeneration: The epigenetic connection. *Curr. Top. Med. Chem.* **2019**, *19*, 2999-3011.
4. Cacabelos, R. The role of epigenetic biomarkers in disease pathogenesis. *Pharmacoeugenetics* **2019**, *10*, 139-189.
5. Corzo, L.; Fernandez-Novoa, L.; Carrera, I.; Martínez, O.; Rodríguez, S.; Alejo, R.; Cacabelos, R. Nutrition, health and disease: role of selected marine and vegetal nutraceuticals. *Nutrients* **2020**, *12*, 747.
6. Lombardi, V.R.M.; Carrera, I.; Cacabelos, R. In vitro and in vivo cytotoxic effect of AntiGan against tumor cells. *Exp. Therap. Med.* **2018**, *15*, 2547-2556.
7. Lombardi, V.R.M.; Carrera, I.; Corzo, L.; Cacabelos, R. Role of lipofishins in prevention of inflammation and colon cancer. *Semin. Cancer Biol.* **2019**, *56*, 175-184.
8. Martínez-Iglesias, O.; Carrera, I.; Carrila, J.C.; Fernandez-Novoa, L.; Cacabelos, N.; Cacabelos, R. DNA methylation in Neurodegenerative and Cerebrovascular Disorders. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2220.
9. Martínez-Iglesias, O.; Naidoo, V.; Carril, J.C.; Carrera, I.; Corzo, L.; Rodríguez, S.; Alejo, R.; Cacabelos, N.; Cacabelos, R. AtreMoline treatment regulates DNA methylation in neurodegenerative disorders: epigenetic and pharmacogenetic studies. *Curr. Pharm. Pers. Med.* **2020**, *17*, 159-171.
10. Cacabelos, R.; Carrera, I.; Martínez, O.; Alejo, R.; Fernandez-Novoa, L.; Cacabelos, P.; Corzo, L.; Rodríguez, S.; Alcaraz, S.; Nebril, L.; et al. Atremorine in Parkinson's disease: from dopaminergic neuroprotection to pharmacogenomics. *Med. Res. Rev.* **2021**, *41*, 2841-2886.
11. Martínez-Iglesias, O.; Carrera, I.; Naidoo, V.; Cacabelos, R. AntiGan: An Epi-nutraceutical Bioproduct with Antitumor Properties in Cultured Cell Lines. *Life.* **2022**, *12*(1):97.

CEREBRO ALTERADO POR LA MARIHUANA

IVÁN TELLADO

Departamento de Diagnóstico Digital
Centro Internacional de Neurociencias y Medicina Genómica

La marihuana (*Cannabis sativa L.*) es una planta asiática originaria del Himalaya, extendida hoy por el mundo entero y usada ampliamente como psicotrópico. La creencia acerca de su menor poder dañino con respecto a otras drogas, como la cocaína y la heroína, ha hecho que sea, posiblemente, la droga más consumida en los países industrializados. Sin embargo, está bien establecido que es una sustancia que produce alteraciones en la actividad cerebral y efectos perniciosos sobre la memoria, atención, funciones psicomotoras, funciones ejecutivas y toma de decisiones (1,2). El consumo de marihuana genera adicción. La dependencia produce un aumento progresivo del número de dosis y de la duración total de intoxicación. Ambos factores aumentan dramáticamente el daño cerebral. La principal sustancia psicoactiva de la marihuana es el tetrahidrocannabinol (THC) que interacciona en el cerebro con los receptores cannabinoides, causando una inhibición de la transmisión presináptica con una disminución aguda de la función cognitiva (3). Estudios hemodinámicos han descrito una caída de la perfusión cerebral que hace que disminuya significativamente el aporte de oxígeno a las células cerebrales (4).

El electroencefalograma cuantitativo (qEEG) ofrece un método no invasivo y de bajo coste para encontrar biomarcadores de intoxicación y deterioro cognitivo asociados al consumo de cannabis. La intoxicación aguda produce un rápido deterioro de la función cerebral. Se han documentado alteraciones en la banda de frecuencia theta (Fig. 1), con un aumento de la conectividad frontal y un descenso de las interconexiones antero-posteriores (5). También se ha descrito un aumento de descargas de ondas lentas agudas y puntas en regiones frontales y un riesgo aumentado de ataque epiléptico en ciertas personas (6). Los consumidores habituales presentan rasgos específicos en su actividad cerebral, tanto en la actividad cortical como en la conectividad entre diferentes áreas, que dan lugar a pérdida de eficacia

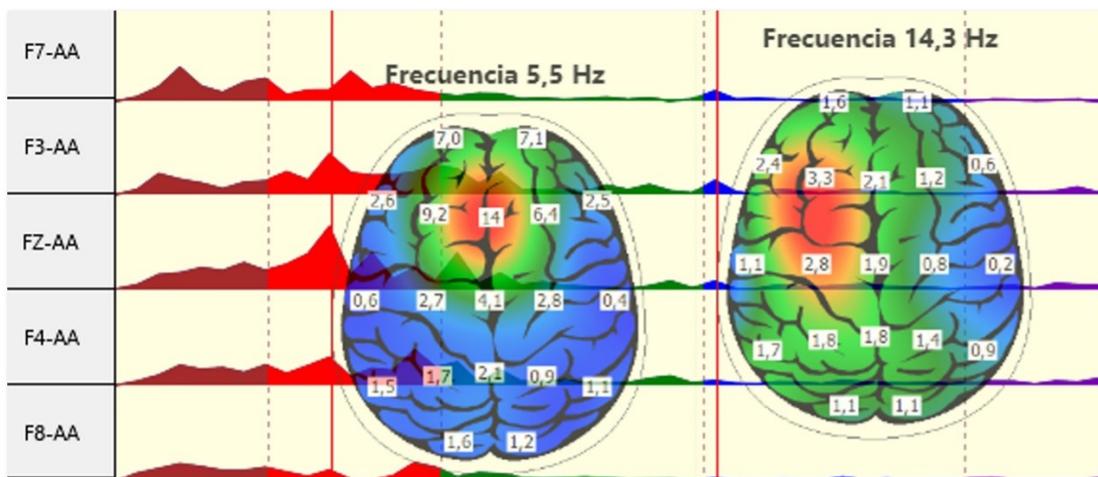
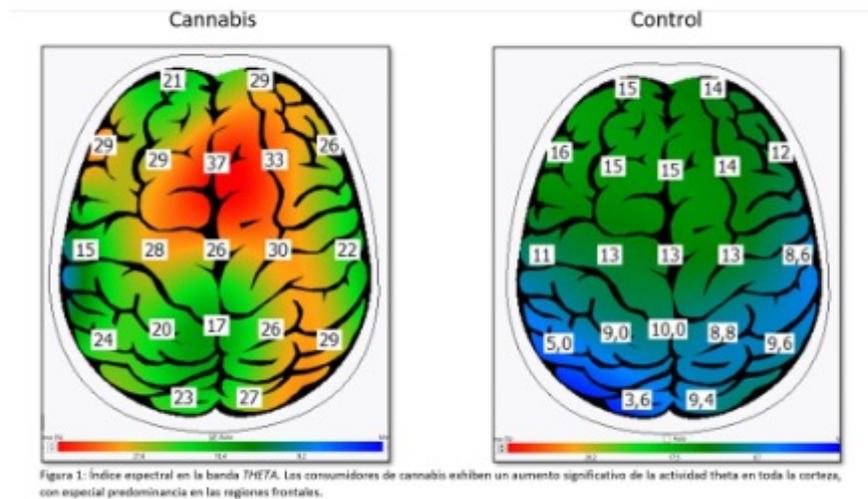
neuronal y a déficit cognitivo. Los consumidores habituales exhiben un cerebro "ruidoso" con una conectividad inter e intrahemisférica alterada y un aumento del poder de las ondas theta, beta y gamma (Fig. 2), que sugiere una mayor activación cortical en reposo y una desinhibición de las funciones inhibitorias, que podrían interrumpir los procesos cognitivos (7). Investigaciones recientes centradas en el estudio de la función cerebral en reposo demuestran que el consumo prolongado de cannabis está asociado a un estado de hiperactivación neural y a una comunicación deficiente entre diferentes regiones cerebrales (8). Patrones anómalos de actividad cerebral similares a estos han sido encontrados en heroinómanos (9), alcohólicos (10) y cocainómanos (11). La región cerebral más afectada es el lóbulo frontal, en el que los cambios en la actividad bioeléctrica cerebral están acompañados por un descenso significativo del flujo sanguíneo (12). La disfunción del lóbulo frontal se correlaciona con problemas emocionales, impulsividad y una pérdida de control acerca del consumo que aumenta los niveles de adicción.

En los últimos años se han acumulado evidencias acerca de la asociación del consumo de cannabis con enfermedades psiquiátricas graves. La alteración de la actividad oscilatoria neuronal causada por el THC parece estar detrás de muchos casos de psicosis y esquizofrenia. El consumo durante la adolescencia, que representa un estado crítico de maduración neuronal, compromete la habilidad cerebral para generar ciertas actividades oscilatorias normales en el futuro adulto. Parece que uno de los mecanismos por el que el consumo de cannabis induce psicosis es a través de la alteración de las actividades theta y gamma, que están significativamente desreguladas en la esquizofrenia y se encuentran involucradas en la función perceptiva y cognitiva. Recientes estudios han mostrado anomalías en la actividad cerebral parecidas a las observadas en esquizofrenia junto con alteraciones en la atención, memoria de trabajo e integración senso-motora, entre otras (13). La

relación causal entre el consumo de cannabis y el riesgo aumentado de sufrir esquizofrenia se ha visto reforzada con nuevas evidencias desde un enfoque genético. En un reciente estudio usando 10 variantes genéticas relacionadas con el consumo de cannabis en 32 300 consumidores y 45 604 controles, el consumo se asoció con un riesgo incrementado de sufrir esquizofrenia (14).

Nuevos hallazgos apuntan a los efectos epigenéticos del cannabis. La exposición en los periodos pregestacional (en madre y padre) y prenatal está asociada a procesos epigenéticos, tales como la metilación del ADN y la modificación de las histonas, que alteran la expresión de genes clave en el desarrollo fetal. La programación epigenética fetal sugiere alteraciones en regiones involucradas en el desarrollo del trastorno del espectro autista (TEA), trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), esquizofrenia, adicción y otras enfermedades psiquiátricas (15). El consumo de cannabis contribuye, por tanto, al desarrollo de enfermedades mentales a través de mecanismos epigenéticos.

En resumen, el uso de la marihuana como sustancia psicotrópica genera estados de actividad cerebral alterados, que involucran especialmente a la actividad theta y a las actividades rápidas beta y gamma, y que constituyen un riesgo creciente de sufrir enfermedad mental grave, sobre todo si su uso tiene lugar en momentos clave del desarrollo neuronal (prenatal y adolescencia), con la participación de mecanismos epigenéticos y en individuos genéticamente vulnerables.



Referencias

1. Broyd SJ, Greenwood LM, Croft RJ, Dalecki A, Todd J, Michie PT, Johnstone SJ, Solowij N. Chronic effects of cannabis on sensory gating. *Int J Psychophysiol.* 2013 Sep;89(3):381-9. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2013.04.015. Epub 2013 Apr 28. PMID: 23628289.
2. Broyd SJ, van Hell HH, Beale C, Yücel M, Solowij N. Acute and Chronic Effects of Cannabinoids on Human Cognition-A Systematic Review. *Biol Psychiatry.* 2016 Apr 1;79(7):557-67. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.12.002. Epub 2015 Dec 8. PMID: 26858214.
3. Arif Y, Wiesman AI, Christopher-Hayes NJ, Wilson TW. Aberrant inhibitory processing in the somatosensory cortices of cannabis-users. *J Psychopharmacol.* 2021 Nov;35(11):1356-1364. doi: 10.1177/02698811211050557. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34694190.
4. Spadone C. Neurophysiologie du cannabis [Neurophysiology of cannabis]. *Encephale.* 1991 Jan-Feb;17(1):17-22. French. PMID: 1688273.
5. Richard CD, Poole JR, McConnell M, Meghdadi AH, Stevanovic-Karic M, Rupp G, Fink A, Schmitt R, Brown TL, Berka C. Alterations in Electroencephalography Theta as Candidate Biomarkers of Acute Cannabis Intoxication. *Front Neurosci.* 2021 Oct 4;15:744762. doi: 10.3389/fnins.2021.744762. PMID: 34671242; PMCID: PMC8520987.
6. Kahan MD, Breithaupt A, Nash K, Numis AL. Seizure and Interictal Electroencephalographic (EEG) Changes with Cannabinoid Concentrate Use. *Am J Case Rep.* 2021 Apr 18;22:e931360. doi: 10.12659/AJCR.931360. PMID: 33866321; PMCID: PMC8063765.
7. Prashad S, Dedrick ES, Filbey FM. Cannabis users exhibit increased cortical activation during resting state compared to non-users. *Neuroimage.* 2018 Oct 1;179:176-186. doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.06.031. Epub 2018 Jun 9. PMID: 29894828; PMCID: PMC6693493.
8. Liu Y, Chen Y, Fraga-González G, et al. Resting-state EEG, Substance use and Abstinence After Chronic use: A Systematic Review. *Clinical EEG and Neuroscience.* February 2022. doi:10.1177/15500594221076347.
9. Franken IH, Stam CJ, Hendriks VM, van den Brink W. Electroencephalographic power and coherence analyses suggest altered brain function in abstinent male heroin-dependent patients. *Neuropsychobiology.* 2004;49(2):105-10. doi: 10.1159/000076419. PMID: 14981343.
10. Bauer LO. Predicting relapse to alcohol and drug abuse via quantitative electroencephalography. *Neuropsychopharmacology.* 2001 Sep;25(3):332-40. doi: 10.1016/S0893-133X(01)00236-6. PMID: 11522462.
11. Costa L, Bauer L. Quantitative electroencephalographic differences associated with alcohol, cocaine, heroin and dual-substance dependence. *Drug Alcohol Depend.* 1997 Jun 6;46(1-2):87-93. doi: 10.1016/S0376-8716(97)00058-6. PMID: 9246556.
12. Lundqvist T, Jönsson S, Warkentin S. Frontal lobe dysfunction in long-term cannabis users. *Neurotoxicol Teratol.* 2001 Sep-Oct;23(5):437-43. doi: 10.1016/S0892-0362(01)00165-9. PMID: 11711246.
13. Skosnik PD, Cortes-Briones JA, Hajós M. It's All in the Rhythm: The Role of Cannabinoids in Neural Oscillations and Psychosis. *Biol Psychiatry.* 2016 Apr 1;79(7):568-77. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.12.011. Epub 2015 Dec 19. PMID: 26850792.
14. Vaucher J, Keating BJ, Lasserre AM, Gan W, Lyall DM, Ward J, Smith DJ, Pell JP, Sattar N, Paré G, Holmes MV. Cannabis use and risk of schizophrenia: a Mendelian randomization study. *Mol Psychiatry.* 2018 May;23(5):1287-1292. doi: 10.1038/mp.2016.252. Epub 2017 Jan 24. PMID: 28115737; PMCID: PMC5984096.
15. Smith A, Kaufman F, Sandy MS, Cardenas A. Cannabis Exposure During Critical Windows of Development: Epigenetic and Molecular Pathways Implicated in Neuropsychiatric Disease. *Curr Environ Health Rep.* 2020 Sep;7(3):325-342. doi: 10.1007/s40572-020-00275-4. PMID: 32441004; PMCID: PMC7458902.

03

ACTUALIDAD COVID-19



LA VARIANTE ÓMICRON POTENCIA LA INMUNIDAD ANTI-COVID

La industria y la política se han apresurado en intentar SARS-CoV-2 Delta y Ómicron son variantes de preocupación (COV) relevantes a nivel mundial. Si bien las personas infectadas con Delta corren el riesgo de desarrollar una enfermedad pulmonar grave, la infección por Ómicron a menudo causa síntomas más leves, especialmente en personas vacunadas. Surge la pregunta de si las infecciones generalizadas por Ómicron podrían conducir a una futura protección de variantes cruzadas, acelerando el final de la pandemia. **Rahul K. Suryawanshi** y colegas de los *Gladstone Institutes* de San Francisco muestran que sin vacunación, la infección con Ómicron induce una respuesta inmune humoral limitada en ratones y humanos. Los sueros de ratones que sobreexpresan el receptor humano ACE2 e infectados con Ómicron neutralizan solo Ómicron, pero no otros COV, mientras que se observó una neutralización más amplia de variantes cruzadas después de las infecciones por WA1 y Delta. A diferencia de WA1 y Delta, Ómicron se replica a niveles bajos en los pulmones y cerebros de animales infectados, lo que lleva a una enfermedad leve con una expresión reducida de citoquinas proinflamatorias y una activación disminuida de las células T residentes en los pulmones. Los sueros de individuos no vacunados e infectados con Ómicron muestran la misma neutralización limitada de solo Ómicron. Por el contrario, las infecciones irruptivas de Ómicron inducen títulos de neutralización generales más altos contra todos los COV. Estos resultados demuestran que la infección por Ómicron mejora la inmunidad preexistente provocada por las vacunas, pero, por sí sola, puede no conferir una amplia protección contra las variantes no Ómicron en individuos no vacunados.

Suryawanshi, R.K., Chen, I.P., Ma, T. et al. Limited cross-variant immunity from SARS-CoV-2 Ómicron without vaccination. *Nature* (2022).

<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04865-0>.

SUSCEPTIBILIDAD ANTIVIRAL DE ÓMICRON

La reciente aparición de variantes de Ómicron del SARS-CoV-2 que poseen numerosas mutaciones ha suscitado preocupación por la disminución de la eficacia de las vacunas actuales, los anticuerpos monoclonales terapéuticos y los medicamentos antivirales para covid-19 contra estas variantes. El linaje original de Ómicron, BA.1, prevaleció en muchos países, pero más recientemente, BA.2 se ha vuelto dominante en al menos 68 países.

Ryuta Uraki y colegas de la Universidad de Tokio, evaluaron la capacidad replicativa y la patogenicidad de los aislados infecciosos auténticos de BA.2 en ratones y hámsteres inmunocompetentes que expresan ACE2 humano (hACE2). En contraste con datos recientes con cepas quiméricas y recombinantes de SARS-CoV-2, que expresan las proteínas espiga de BA.1 y BA.2 en una columna vertebral ancestral WK-5214, observaron una infectividad y patogenicidad similares en ratones y hámsteres entre BA.2 y BA.1, y menos patogenicidad en comparación con las cepas tempranas de SARS-CoV-2. También observaron una reducción marcada y significativa en la actividad neutralizante del plasma de individuos convalecientes de COVID-19 y receptores de vacunas contra BA.2 en comparación con cepas ancestrales y variantes delta. Además, vieron que algunos anticuerpos monoclonales terapéuticos (REGN10987/REGN10933, COV2-2196/COV2-2130 y S309) y fármacos antivirales (molnupiravir, nirmatrelvir y S-217622) pueden restringir la infección viral en los órganos respiratorios de los hámsters infectados con BA.2. Estos hallazgos sugieren que la replicación y patogenicidad de BA.2 es comparable a la de BA.1 en roedores y que varios anticuerpos monoclonales terapéuticos y compuestos antivirales son efectivos contra las variantes de Ómicron/BA.2.

Uraki, R., Kiso, M., Iida, S. et al. Characterization and antiviral susceptibility of SARS-CoV-2 Ómicron/BA.2. *Nature* (2022).

<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04856-1>

LOS DAÑOS DE LA PANDEMIA

¿Cómo se cuenta el coste de una pandemia? El COVID-19 ha matado a unos 15 millones de personas desde que surgió a finales de 2019, pero su impacto en la salud llega mucho más allá. Para cientos de millones de personas en todo el mundo, la infección con el coronavirus SARS-CoV-2 ha traído una serie de problemas, desde los efectos agudos de la enfermedad hasta los síntomas duraderos conocidos como COVID prolongado o persistente. Calcular el tamaño de esa carga de salud es un desafío importante: los gobiernos usan esas cifras para planificar cómo gastar los presupuestos de atención médica. Así que los investigadores están empezando a contar los impactos generales en la salud y tratando de extraer lecciones de cualquier patrón. Esperan, por ejemplo, discernir cómo se ven afectadas las diferentes poblaciones y proporcionar evidencia sobre los efectos de los despliegues de vacunas y las nuevas variantes del virus.

Los grupos de investigación están explorando una serie de formas de calcular la carga de COVID-19, y muchos están comenzando a mostrar sus resultados. Los primeros datos sugieren que el impacto es significativo y varía según el país. Un estudio encontró que la COVID-19 tuvo un alto coste en 16 países europeos, pero que los impactos en las diferentes naciones variaron debido a factores que van desde la estructura de edad de la población hasta las respuestas políticas a la pandemia.

Las estimaciones producidas por los equipos nacionales proporcionan más detalles. En Escocia, la COVID-19 fue la segunda, después de la cardiopatía isquémica, que más impacto tuvo en la salud de la población en 2020. En los Países Bajos, ese año, la carga fue 16 veces mayor que la de una temporada típica de gripe.

Con la pandemia todavía haciendo estragos en muchas partes del mundo, es demasiado pronto calcular el número total de víctimas. Pero algunos investigadores creen que ha ayudado a cambiar la forma en que se calculan los efectos de las enfermedades sobre la salud. Los investigadores ahora están armonizando los procesos que utilizan para estimar la carga de la enfermedad y adaptando los modelos a los datos disponibles en cada ubicación. Esperan que esto haga que los resultados sean más precisos.

El Servicio Nacional de Salud del Reino Unido enumera una docena de síntomas de COVID-19 para adultos, desde la pérdida del olfato hasta una temperatura alta. Incluso las personas que tienen un caso relativamente leve y superan los síntomas

en casa pueden ver efectos duraderos en la salud, como fatiga o dificultad para respirar. Si los síntomas continúan más allá de un par de meses, las personas pueden ser diagnosticadas con una enfermedad ampliamente conocida como COVID largo, prolongado o persistente.

Para cuantificar cómo una enfermedad afecta a toda una población, los científicos combinan datos sobre experiencias individuales. Estos incluyen el número de personas infectadas, el número de personas que tuvieron ciertos síntomas, la duración de las enfermedades, cuántas necesitaron tratamiento hospitalario o murieron, y las edades de los pacientes, entre otras cosas. Luego los usan para calcular cuántos años de vida se han perdido por la enfermedad y cuántos años se viven con síntomas incapacitantes.

Los investigadores pueden utilizar la esperanza de vida promedio en un país para calcular cuántos años de vida se han perdido debido a la muerte prematura. Sin embargo, las pérdidas debidas a la discapacidad son más difíciles de calcular. Para cuantificarlos, los investigadores utilizan datos sobre el número de personas afectadas por una determinada enfermedad, la cantidad de tiempo que la tienen y un valor para la enfermedad conocido como peso de discapacidad. El grupo global de carga de morbilidad del IHME mantiene una lista estandarizada de pesos de discapacidad; la última versión disponible, publicada en 2019, le da a un dolor de oído leve un peso de discapacidad de 0.013 y esclerosis múltiple severa de 0.719 (un peso de 0 es salud perfecta; un peso de 1 es la muerte).

Actualmente, no existe un peso de discapacidad estandarizado para COVID-19. En cambio, los investigadores utilizan los pesos de discapacidad asociados con otras enfermedades infecciosas y condiciones de salud similares. El total de los años de vida perdidos debido a una enfermedad, discapacidad o muerte prematura da una estimación de la carga en una unidad conocida como años de vida ajustados por discapacidad, o AVAD. Es la piedra angular de la investigación sobre la carga de la enfermedad. Los datos que entran en los AVAD provienen de una variedad de fuentes. Muchos son recogidos rutinariamente por las autoridades sanitarias nacionales. Para COVID-19, algunos datos se han recopilado a través de esfuerzos de vigilancia dirigidos, como el estudio *REACT* (Evaluación en tiempo real de la transmisión comunitaria), un ejercicio de muestreo masivo que comenzó en 2020 y ha narrado cómo el SARS-CoV-2 se está moviendo a través de Inglaterra y qué síntomas están experimentando las personas.

Los datos del estudio *REACT* sugieren que los efectos de COVID-19 en la salud pueden persistir. Una preimpresión publicada en el servidor medRxiv en julio pasado sugirió que el 19% de la población inglesa había tenido COVID-19, y que alrededor de un tercio de ellos, más de 2 millones de adultos, habían experimentado uno o más síntomas durante al menos 12 semanas. Eso es el 6% de la población.

Los primeros resultados sobre la salud perdida por COVID-19 se están filtrando. En general, el impacto de COVID-19 ha sido dramáticamente alto en todo el mundo. La investigación europea sugiere que Eslovaquia probablemente tuvo una carga menor que otros países porque el gobierno actuó rápidamente para bloquear y la gente cumplió. Por el contrario, la carga fue mayor en Suecia, donde el gobierno adoptó un enfoque de "inmunidad colectiva" y permitió que el virus se propagara en gran medida sin control. Los análisis individuales de los países también revelan grandes diferencias en la carga sanitaria de la COVID-19. Una investigación de Malta revela que entre marzo de 2020 y marzo de 2021, el COVID-19 se convirtió en la cuarta causa principal de discapacidad, después de la cardiopatía isquémica, el dolor lumbar y la diabetes. En India, se ubicó mucho más abajo en la lista: utilizando los datos de 2019 como guía, habría representado el 3% de la carga total de salud, colocándola fuera del top 10 y calificándola como una carga menor que la cardiopatía isquémica, las deficiencias nutricionales y las enfermedades respiratorias crónicas. Los autores reconocen, sin embargo, que los casos de COVID-19 podrían estar subnotificados en la India, lo que afectaría la tasa de AVAD.

Cada proyecto obtiene sus datos de manera ligeramente diferente, lo que puede aumentar la variación en las estimaciones de DALY. El grupo de investigación que estimó los AVAD para 16 países europeos, por ejemplo, utilizó datos agregados del Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades (ECDC), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Grupo del Banco Mundial; muchos de los estudios nacionales utilizaron datos más detallados específicos de cada país. Como consecuencia, las estimaciones de AVAD para el mismo país varían en diferentes manos. Utilizando datos del ECDC, la OMS y el Banco Mundial para Dinamarca, por ejemplo, se obtiene una cifra de 116 AVAD por cada 100 000 personas, mientras que el grupo de Monteiro Pires utilizó datos de los sistemas de salud de Dinamarca para llegar a una cifra más cercana a 520 (go.nature.com/3m6nsrj).

Varios de los estudios de países europeos individuales han sido apoyados por la Red Europea de Carga de Enfermedad, un proyecto lanzado en 2019 para mejorar la forma en que se calcula y comprende la

carga de enfermedad. La red de epidemiólogos e investigadores de salud pública de 53 países de todo el mundo se dio cuenta rápidamente de que debería documentar la carga de salud pública del virus pandémico naciente, y comenzó a desarrollar un protocolo de consenso, que incluye un modelo específico para la progresión de la enfermedad de COVID-19 desde la infección hasta la recuperación o la muerte. Los investigadores de la red ahora han completado las estimaciones de carga para Malta, Dinamarca, los Países Bajos, Escocia, Irlanda y Alemania, y se espera que aparezcan más en los próximos meses.

Las pandemias incapacitan a las personas: la lección de historia que los responsables de la formulación de políticas ignoran. Todavía no hay una estimación del costo de salud mundial de COVID-19, pero el IHME ha estado produciendo cifras para un catálogo de otras enfermedades desde la década de 1990. A principios de 2020, cuando quedó claro que una pandemia estaba en marcha, el instituto ya tenía la maquinaria para comprender los efectos más amplios del SARS-CoV-2 en la salud y se puso a trabajar para agregar COVID-19 al catálogo. Alrededor de 100 miembros del personal fueron desviados al esfuerzo. Sus datos se están considerando actualmente para su publicación.

A diferencia de muchos otros cálculos, los datos incluyen estimaciones de la carga de COVID largo. Los hallazgos sugieren que en 2020 y 2021, se estima que 4.6 millones de personas en los Estados Unidos tuvieron síntomas que persistieron durante al menos tres meses. La definición del grupo de COVID largo gira en torno a tres grupos de síntomas, centrándose en la fatiga, los problemas cognitivos y los problemas respiratorios en curso. Más del 85% de estos casos se produjeron como resultado de un ataque de COVID-19 que no requirió tratamiento hospitalario. Alrededor del 5% de las mujeres y el 2% de los hombres que tuvieron un caso leve de COVID-19 todavía tenían síntomas 6 meses después de que terminó la fase aguda de la enfermedad. Para los tratados en el hospital, fue del 26% de las mujeres y el 15% de los hombres, aumentando al 42% y al 27%, respectivamente, si el paciente pasó tiempo en la unidad de cuidados intensivos. Las personas con COVID largo tienen un peso promedio de discapacidad de 0.21, equivalente a una pérdida auditiva completa o una lesión cerebral traumática grave.

Un gran problema para los investigadores que intentan estimar la carga de COVID-19 es la cobertura de los datos. Algunos países, como los de las islas del Pacífico, registran tan pocos casos que los datos no son estadísticamente sólidos. Y muchos países del África subsahariana, entre otras regiones, carecen

de la capacidad de rastrear el exceso de muertes debido a COVID debido a sistemas de registro inadecuados. El grupo IHME evita esto utilizando datos de países vecinos para generar estimaciones específicas de cada país. Pero en última instancia, los cálculos precisos requerirán la recopilación de datos más detallados. El segundo punto ciego de los datos es el COVID largo. Hasta ahora, solo unos pocos grupos de investigación fuera del IHME han incluido estos datos en sus estimaciones. Otros piensan que sin una buena información sobre COVID largo, calcular la carga de la enfermedad es prematuro.

Algunas estimaciones nacionales, como las de Escocia, Malta e Irlanda, incluyen datos limitados de COVID a largo plazo en sus análisis, pero reconocen las incertidumbres.

A pesar del gran esfuerzo epidemiológico realizado por muchos países e importantes grupos de investigación, la información disponible sobre los daños por COVID es deficiente en todo el mundo. Puede que al sector político no le interese saber más para esquivar responsabilidades.

A HEAVY BURDEN

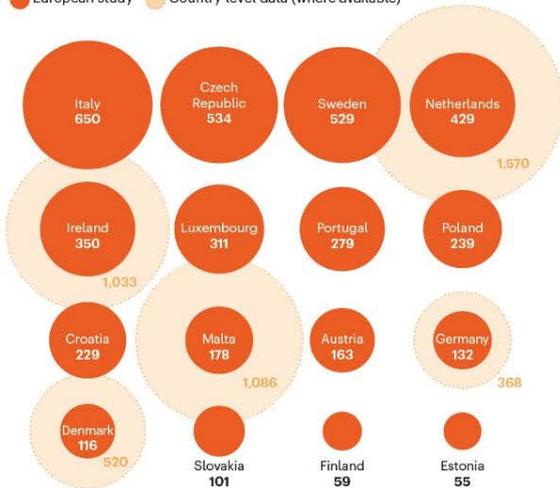
Researchers are starting to analyse how many years of life have been lost to death and ill health from COVID-19, measured in units called disability-adjusted life years (DALYs).

The toll of COVID-19 in Europe

An analysis of 16 European countries using data from sources such as the World Health Organization suggests that the toll can vary widely depending on a population's age structure or, perhaps, a government's response to the pandemic. National estimates, using more detailed data, tend to yield larger burden estimates.

COVID-19 DALYs per 100,000 people (data for 2020):

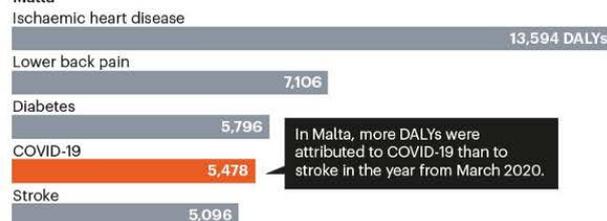
● European study ● Country-level data (where available)



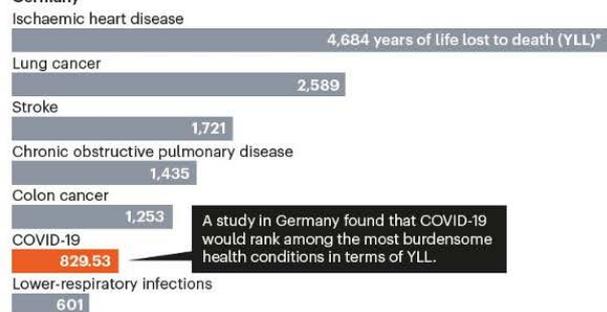
How COVID-19 stacks up

In countries for which data are available, COVID-19 tends to be one of the most burdensome diseases.

Malta



Germany



*Data are for 2020 for COVID-19 and for 2017 for other conditions.

©nature

Infografía que muestra el número de años de vida perdidos por muerte y mala salud por COVID-19 en 16 países europeos. Fuente: European study: Ref. 1; country data: Ref. 5/S. Monteiro Pires/A. Rommel et al. Dtsch Arztebl Int. 118, 145-151 (2021).

Nature 605, 410-413 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01341-7>.

EL PROGRAMA SAVE DE VIGILANCIA ANTI-COVID

La aparición global de muchas variantes del coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) pone en peligro la inmunidad antiviral protectora inducida después de la infección o la vacunación. Para abordar la amenaza para la salud pública causada por la creciente diversidad genómica del SARS-CoV-2, el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas de los Institutos Nacionales de Salud de EEUU estableció el programa de Evaluación de la Evolución Viral (SAVE) del SARS-CoV-2. Este esfuerzo fue diseñado para proporcionar una evaluación del riesgo en tiempo real de las variantes del SARS-CoV-2 que podrían afectar potencialmente la transmisión, la virulencia y la resistencia a la inmunidad inducida por infecciones y vacunas. El programa SAVE es un componente crítico de generación de datos del Grupo Interinstitucional SARS-CoV-2 del Gobierno de los Estados Unidos para evaluar las implicaciones de las variantes del SARS-CoV-2 en el diagnóstico, las vacunas y la terapéutica, y para comunicar el riesgo para la salud pública.

El SARS-CoV-2, el agente etiológico de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), ha causado una pandemia devastadora que ha provocado más de 6 millones de muertes en todo el mundo (<https://covid19.who.int>). Con ciclos de transmisión continuos que ocurren en todo el mundo, han surgido variantes del SARS-CoV-2 con mutaciones en todo su genoma, incluso en el gen de la proteína espiga, el principal objetivo antigénico de todas las vacunas contra el SARS-CoV-2 actualmente en uso. La rápida aparición de variantes, la última de las cuales fue Ómicron en noviembre de 2021, ha generado preocupaciones sobre cómo las nuevas mutaciones afectan la replicación del virus, la infectividad, la transmisión y la infección, y la inmunidad inducida por la vacuna. Esta rápida evolución genética del SARS-CoV-2 creó una necesidad inmediata de monitorizar y caracterizar variantes de resistencia potencial a contramedidas médicas.

El Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos estableció el Grupo Interinstitucional (SIG) SARS-CoV-2 para maximizar la coordinación entre los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, los Institutos Nacionales de Salud (NIH), la Administración de Alimentos y Medicamentos, la Autoridad de Investigación y

Desarrollo Biomédico Avanzado y el Departamento de Defensa para la respuesta de salud pública de los Estados Unidos a la pandemia de COVID-19. El Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas (NIAID) formó el consorcio SAVE en enero de 2021 como un componente crítico de generación de datos para el SIG y para facilitar el intercambio rápido de datos con socios globales y la comunidad científica. El programa SAVE proporciona una evaluación exhaustiva del riesgo en tiempo real de las mutaciones emergentes en las cepas del SARS-CoV-2 que podrían afectar la transmisibilidad, la virulencia y la inmunidad inducida por la infección o la vacuna. SAVE se construyó como una línea de evaluación de riesgos racional, estructurada e iterativa con el objetivo de proporcionar datos críticos para respaldar las acciones de SIG y garantizar la efectividad de las contramedidas contra las variantes emergentes.

El programa SAVE se divide en tres grupos de trabajo para proporcionar evaluaciones de riesgo en tiempo real de las variantes del SARS-CoV-2 sobre la infección y la inmunidad inducida por la vacuna. El grupo de detección y análisis tempranos cura y prioriza las variantes emergentes del SARS-CoV-2. El grupo *in vitro* evalúa el efecto de las variantes del SARS-CoV-2 sobre las respuestas inmunes humorales y mediadas por células. El grupo *in vivo* utiliza modelos animales para probar la eficacia de la vacuna, la transmisión y definir los mecanismos inmunes y los correlatos de protección. Estos datos se introducen en el SIG, que coordina entre diferentes agencias gubernamentales de los Estados Unidos para evaluar el impacto de las variantes en las contramedidas críticas del SARS-CoV-2, incluidas las vacunas, las terapias y los diagnósticos. Este enfoque iterativo permite el flujo de información entre el programa SAVE y el SIG para continuar priorizando y probando las variantes del SARS-CoV-2.

El programa SAVE está compuesto por un equipo internacional de científicos con experiencia en virología, inmunología, vacunología, biología estructural, bioinformática, genética viral y evolución. Cada miembro del equipo es responsable de las contribuciones clave que van desde la curación de mutaciones virales, el análisis bioinformático, el desarrollo de nuevos reactivos, el desarrollo y las pruebas de ensayos, la caracterización *in vitro* y el desarrollo de modelos *in vivo* y las pruebas de contramedidas. El programa SAVE se divide en tres grupos de trabajo: 1) el grupo de detección y análisis tempranos; 2) el grupo *in vitro*; y (3) el grupo *in vivo*. El grupo de detección temprana utiliza bases de datos

públicas y herramientas de análisis para seleccionar y priorizar las variantes emergentes del SARS-CoV-2. El grupo *in vitro* evalúa el impacto de las variantes del SARS-CoV-2 en las respuestas inmunes humorales y mediadas por células mediante ensayos *in vitro*. El grupo *in vivo* utiliza modelos animales pequeños y grandes para probar la eficacia de la vacuna, la transmisión y definir los mecanismos inmunes y los correlatos de protección. Un tema común en estos subgrupos es la integración de enfoques experimentales y computacionales ortogonales para validar los hallazgos y fortalecer la evidencia de las recomendaciones. Los esfuerzos de colaboración entre los genetistas de detección temprana y los biólogos evolutivos, y los virologos/inmunólogos del grupo *in vitro* permiten la rápida determinación de las relaciones entre la evolución viral y la sensibilidad a la neutralización. A su vez, estos resultados permiten al equipo *in vivo* evaluar y evaluar la protección de la vacuna en estudios con animales. El grupo SAVE invita rutinariamente a científicos de sitios internacionales a presentar una evaluación en tiempo real de las variantes e infecciones por SARS-CoV-2 dentro de su región. El grupo SAVE se coordina con el Repositorio de Recursos de Investigación de Biodefensa e Infecciones Emergentes (BEI), el Centro de Referencia Mundial para Virus y Arbovirus Emergentes (WRCEVA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) para distribuir aislados, proteínas y plásmidos de SARS-CoV-2. El grupo SAVE también tiene una política de intercambio abierto en la que los hallazgos se difunden rápidamente a través de servidores de preimpresión mientras que los manuscritos se someten a una revisión formal por pares.

DeGrace, M.M., Ghedin, E., Frieman, M.B. et al.
Defining the risk of SARS-CoV-2 variants on immune
protection. *Nature* 605, 640–652 (2022).

<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04690-5>.

REPARAR EL DAÑO CAUSADO POR LA COVID-19 EN LA ESCUELA

Uno de los impactos más negativos de la pandemia de COVID-19 no tiene nada que ver con las infecciones o la salud sino con el cierre de las escuelas y el daño causado a la educación de unos 1600 millones de niños en todo el mundo.

Dos años después de la pandemia, las escuelas habían estado completamente cerradas durante un promedio de más de 4.5 meses en todos los países. Uno de cada diez países ha cerrado escuelas durante más de nueve meses, según la organización cultural de las Naciones Unidas UNESCO, y millones de niños en todo el mundo no han regresado en absoluto. Los datos siguen llegando, pero están empezando a confirmar lo que todos temían: que los niños que enfrentan los mayores contratiempos en el aprendizaje son aquellos que son pobres o desfavorecidos. Y se sabe que las pérdidas de aprendizaje dejan cicatrices de por vida, por lo que es probable que esto conduzca a la pérdida de oportunidades y menores ingresos en las próximas décadas.

Muchas naciones quieren minimizar estas pérdidas, pero reducir las escuelas a un simple esquema de negocio, como de costumbre, sería un error. En cambio, debería aprovecharse este momento para mejorar los sistemas de enseñanza y educación, apoyados en el análisis riguroso de las consecuencias del daño mediante proyectos de investigación. Los estudios científicos apuntan a métodos rentables para mejorar la asistencia a la escuela y el aprendizaje en países de ingresos bajos y altos. Estas estrategias van desde proporcionar información a los padres y los niños sobre los beneficios a largo plazo de la educación, hasta ayudar a los niños a comprender lo que leen, involucrar a los padres en la educación de los niños, dar a los niños comentarios significativos sobre su trabajo y ayudar a los estudiantes a planificar y evaluar su propio aprendizaje. Con demasiada frecuencia, estas investigaciones son pasadas por alto por los educadores e ignoradas por los responsables políticos que piensan erróneamente que saben lo que funciona mejor. Pero poner a trabajar los conocimientos basados en la evidencia en las aulas de todo el mundo ayudaría a los niños a recuperarse del daño educativo infligido por la pandemia. También fortalecería sistemas educativos enteros, muchos de los cuales estaban fallando a los niños mucho antes de que llegara la COVID-19. A muchos niños se les niega la educación por el conflicto, la

pobreza o la política, incluidas crisis como la guerra en Ucrania y la decisión de los talibanes de excluir a muchas niñas de la escuela en Afganistán.

Los defensores de la educación basada en la evidencia tienen que ser realistas sobre las limitaciones de la investigación. Un gran desafío es la enorme variación en las aulas y escuelas dentro de los países y en todo el mundo. Un programa de tutoría que ha demostrado ser efectivo en una escuela podría no funcionar en otra si las edades, los estilos de aprendizaje o los entornos del hogar de los niños difieren, o si se implementa de una manera diferente. La investigación educativa tiende a servir como guía, pero no es una garantía de que algo funcione para un aula o niño en particular, o cuando se amplíe en toda una nación. Por lo tanto, es fundamental que los maestros se involucren en la investigación y en la aplicación de resultados.

Un problema mayor es que la investigación educativa está en gran medida desacoplada de la práctica: la mayoría de los investigadores educativos no enseñan; la mayoría de los maestros no aprenden ni participan en mucha investigación. Sin embargo, esto no es lo mismo en todas partes. Investigar la efectividad de las lecciones es una parte integral del desarrollo profesional de los maestros en países como China y Japón. Otras naciones deberían aprender de este enfoque.

Algunos han sugerido que los niños podrían recuperarse rápidamente de los cierres de escuelas relacionados con COVID al poner en marcha un impulso de aprendizaje. Una visión más realista es que los niños más acomodados se recuperarán más rápido, y la pandemia amplificará las profundas desigualdades existentes en la educación. Es por eso que cualquier esfuerzo para ayudar a los niños de hoy, y construir los sistemas educativos del mañana, debe centrarse primero en los niños más marginados y desfavorecidos.

Nature 605, 588 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01429-0>.

EL EJEMPLO DE JAPÓN

A través de seis oleadas de COVID-19 en Japón, el número de casos y muertes per cápita ha sido significativamente menor que en otros países del G7, a pesar de tener la población más envejecida del mundo y estar densamente poblada. Aunque Japón tiene altas tasas de vacunación, especialmente para las personas mayores, y el uso de mascarilla es común, nada de esto explica la baja mortalidad por COVID en el archipiélago nipón. Las muertes eran pocas incluso antes de que las vacunas estuvieran disponibles, y las máscaras son comunes en toda Asia.

Japón ha tratado de comprender la propagación y los riesgos de la enfermedad y aplicarlo para minimizar las muertes y hospitalizaciones mientras se mantienen las actividades sociales y económicas. Las compensaciones entre estos factores pueden ser incómodas. La fuerte presión social probablemente ayudó a aumentar las medidas de protección, como el uso de máscaras, y minimizó los comportamientos de riesgo. En general, el gobierno equipó rápidamente a su gente con información para tomar medidas de protección y evitó recetas rígidas.

La constitución de Japón prohíbe los confinamientos estrictos, por lo que se necesitaba otra estrategia para suprimir la transmisión. De cara a la pandemia, Japón tenía más de 8000 enfermeras de salud pública en 400 centros de salud pública que realizaban un rastreo de contactos "retrospectivo" de enfermedades, como la tuberculosis, para identificar cómo se infectaban las personas, y ese sistema se adaptó rápidamente a COVID-19.

A finales de febrero de 2020, los científicos habían identificado muchos grupos de transmisión y se dieron cuenta de que la mayoría de las personas infectadas no infectaban a nadie más, pero unos pocos infectaban a muchos.

El equipo del **Prof. Hitoshi Oshitani**, de la *Tohoku University Graduate School of Medicine*, y consejero del gobierno japonés para el control de la pandemia advirtió contra las '3C' (sanmitsu): entornos cerrados, condiciones de hacinamiento y entornos de contacto cercano. A pesar de que otros países se centraron en la desinfección, Japón promovió este concepto ampliamente, pidiendo a las personas que evitaran las actividades de alto riesgo, como bares de karaoke, clubes nocturnos y restaurantes en interiores. La gente cumplió en gran medida. Un panel de artistas,

académicos y periodistas nombró "sanmitsu" la palabra de moda del año en Japón en 2020.

Las respuestas de salud mental a la COVID-19 descuidan las realidades sociales. Desde el comienzo de la pandemia, los japoneses rastrearon cómo difieren los eventos de superpropagación. Otras partes del mundo han seguido coqueteando con "volver a la normalidad" levantando totalmente las restricciones, a menudo al servicio de la economía, solo para ver que los casos se disparaban nuevamente, con un número significativo de muertes. Las soluciones simples que ayudan solo a los individuos privilegiados e inmunocompetentes no pueden aceptarse como una "nueva normalidad", mientras que las personas vulnerables son las más afectadas por tales políticas. Los datos actuales sugieren que los ciudadanos japoneses se están adaptando. A finales de abril y principios de mayo, Japón celebró sus vacaciones de la Semana Dorada. Este año, casi no hubo restricciones especiales sobre cuándo los restaurantes tenían que cerrar o si podían servir alcohol. Las multitudes aumentaron, pero más pequeñas que en los años anteriores a la pandemia, y se enfatizaron las precauciones, como encontrar espacios ventilados. En las olas anteriores, las personas se relajaban a medida que los casos disminuían, lo que provocaba una ola posterior. Pero el comportamiento después del aumento a principios de este año parece diferente, incluso sin medidas restrictivas en vigor.

La situación es cada vez más complicada. La gente es reacia a aceptar medidas estrictas, incluso con el aumento de casos, porque la cobertura de la vacuna es alta y las tasas de mortalidad de Ómicron son más bajas. Hay más intervenciones disponibles, especialmente en un país de altos ingresos como Japón: vacunas de refuerzo, antivirales, mejor atención clínica y medidas de salud pública, como monitores de CO₂ para rastrear la ventilación en edificios públicos. Pero no hay una bala de plata que pueda eliminar el virus. Ciertamente, la respuesta de Japón no ha sido perfecta y ha recibido críticas. Es cierto que la capacidad de prueba inicial del país era limitada, pero las pruebas exhaustivas no son suficientes para suprimir la transmisión.

Los científicos y los asesores gubernamentales tienen que lidiar con el hecho de que aún no se conoce el equilibrio adecuado a largo plazo. Hay que comprender que el comportamiento tanto del virus como de las personas está sujeto a cambios, y las recomendaciones deben ajustarse a medida que

se desarrollan dichos cambios.

A menudo, frases como 'estrategia de salida' o 'volver a la normalidad' son utilizadas por personas que añoran los días en que vivíamos sin la amenaza de este virus. Pero no estamos cerca de volver a la normalidad. Las naciones deben seguir buscando el mejor equilibrio entre la supresión de la transmisión y el mantenimiento de las actividades sociales y económicas, utilizando todas las herramientas disponibles a medida que se aplican a las culturas, tradiciones, marcos legales y prácticas existentes, para minimizar el sufrimiento en todo el mundo.

Quizá el mejor ejemplo de Japón haya sido la utilización del sentido común, el respeto a la libertad de las personas, el permitir a la ciencia asesorar a las administraciones involucradas en salud pública y evitar todo triunfalismo político.

Nature 605, 589 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01385-9>

VARIANTES ÓMICRON

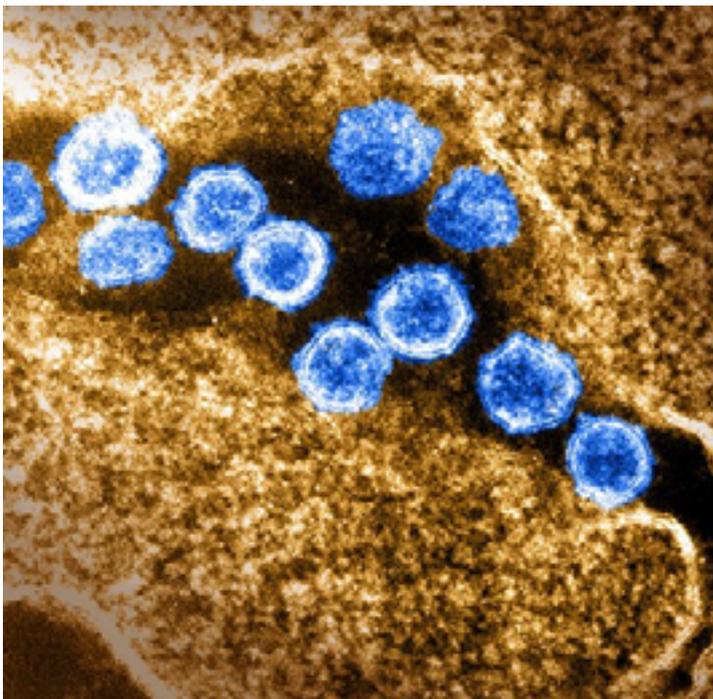
La familia Ómicron ahora incluye BA.2.12.1, que está ganando terreno en América del Norte, así como BA.4 y BA.5, que se están extendiendo rápidamente en Sudáfrica.

En un futuro previsible, el coronavirus SARS-CoV-2 continuará evolucionando hacia nuevas variantes que conducen a oleadas de infecciones. En 2020 y 2021, la Organización Mundial de la Salud (OMS) anunció la aparición de variantes preocupantes al darles nombres del alfabeto griego. Pero este año, Ómicron se ha mantenido en el centro de atención, con miembros de su familia, subvariantes, alimentando aumentos repentinos a medida que evaden los anticuerpos que las personas han generado a partir de infecciones y vacunas anteriores. Por ejemplo, la subvariante Ómicron BA.2.12.1 está ganando terreno en América del Norte, ya que ahora representa aproximadamente el 26% de los genomas del SARS-CoV-2 presentados a la iniciativa de datos GISAID, y BA.4 y BA.5 se están propagando rápidamente en Sudáfrica, comprendiendo más del 90% de los genomas secuenciados.

El SARS-CoV-2 adquiere mutaciones a medida que se replica en las células. Técnicamente, esto significa que millones de variantes probablemente surgen todos los días. Pero la mayoría de las mutaciones no mejoran la capacidad del virus para sobrevivir y

reproducirse, por lo que estas variantes se pierden en el tiempo, superadas por las versiones más adecuadas.

Sin embargo, una pequeña parte de las variantes ganan efecto. Cuando esto sucede, los investigadores que realizan vigilancia genómica señalan muestras que tienen el mismo conjunto de mutaciones distintas. Para saber si estas muestras constituyen una nueva rama en el árbol genealógico del SARS-CoV-2, se ponen en contacto con bioinformáticos que han establecido sistemas de nomenclatura para el virus. Un grupo popular, llamado *Pango*, consiste en aproximadamente dos docenas de biólogos evolutivos y bioinformáticos que comparan las secuencias de las muestras con cientos de otras utilizando software filogenético. El nombre del grupo deriva de un programa de software llamado *Pangolin*, creado originalmente por el bioinformático **Áine O'Toole** en la Universidad de Edimburgo, Reino Unido. Si el análisis sugiere que las nuevas muestras derivaron del mismo ancestro común reciente, significa que son un linaje distinto en el árbol del coronavirus. Al determinar si nombrar el linaje, *Pango* considera si las variantes han aparecido con más frecuencia a lo largo del tiempo y si sus mutaciones se encuentran en regiones del virus que podrían darle una ventaja competitiva. En este punto, una etiqueta de linaje no indica riesgo. Más bien, permite a los científicos vigilar una variante y aprender más.

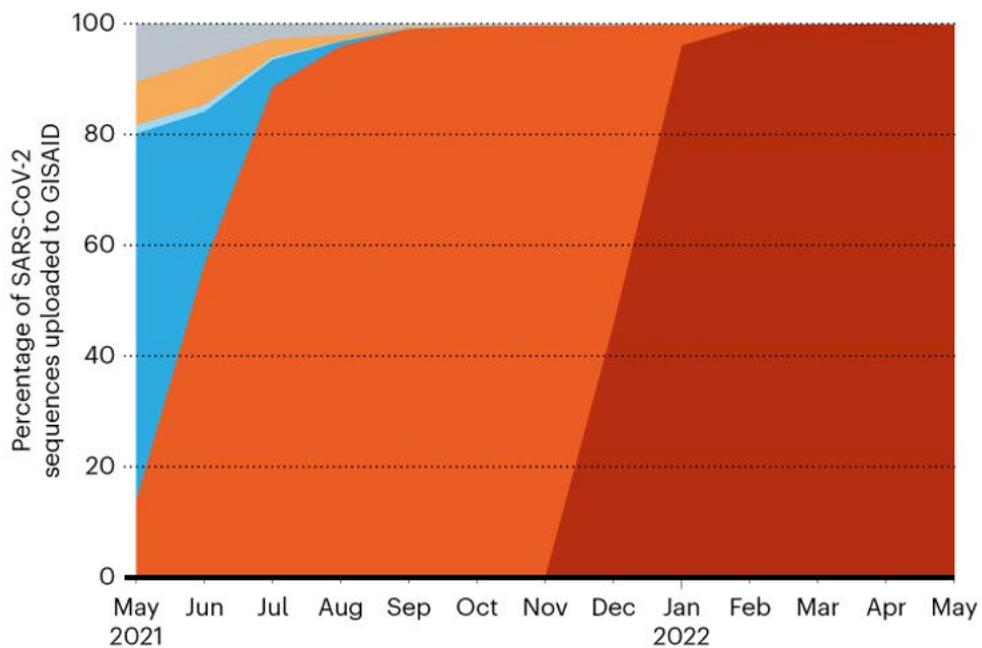


—
Fotomicrografía: National Institutes of Health/
Science Photo Library.

EVOLUTION OF A VIRUS

Variants of the SARS-CoV-2 coronavirus arise constantly as it evolves. But so far, only five have met the World Health Organization's criteria to be called variants of concern. By definition, these variants are much more transmissible, virulent or able to escape an immune response than the versions that came before them. Researchers can watch the evolution of SARS-CoV-2 by tracking genomic sequences submitted to data platforms such as GISAID.

■ Alpha ■ Beta ■ Gamma ■ Delta ■ Omicron ■ Other



©nature

Nature, 27 May, 2022. doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01466-9>.

LA VACUNA DE LA GRIPE PODRÍA PROTEGER FRENTE A COVID-19

Las vacunas contra la influenza tienen un beneficio sorprendente para la salud; también podrían prevenir el COVID-19, particularmente en sus formas más graves, según un estudio de **Elias Tayar**. El estudio de más de 30 000 trabajadores de la salud en Qatar encontró que aquellos que recibieron una vacuna contra la gripe tenían casi un 90% menos de probabilidades de desarrollar COVID-19 grave en los próximos meses, en comparación con aquellos que no habían sido vacunados recientemente contra la gripe. El estudio, que se realizó a fines de 2020, antes del lanzamiento de las vacunas COVID-19, está en línea con trabajos anteriores que sugieren que aumentar el sistema inmunológico utilizando vacunas contra la influenza y otros pinchazos podría ayudar al cuerpo a defenderse del coronavirus SARS-CoV-2.

En los primeros meses de la pandemia, mientras las vacunas contra la COVID-19 aún estaban en desarrollo, los investigadores estaban intensamente interesados en la posibilidad de que las vacunas existentes pudieran proporcionar cierta protección contra el SARS-CoV-2. Pero recopilar pruebas sólidas de tal efecto es difícil, porque las personas que buscan la vacunación contra enfermedades distintas de COVID-19 también podrían tomar otras decisiones que reduzcan su riesgo de infectarse con SARS-CoV-2.

Para minimizar el impacto de este "efecto de usuario saludable", un equipo dirigido por **Laith Jamal Abu-Raddad**, epidemiólogo de enfermedades infecciosas de *Weill Cornell Medicine-Qatar* en Doha, analizó los registros de salud de 30 774 trabajadores médicos en el país. Probablemente haya menos variación en el comportamiento relacionado con la salud entre estos trabajadores que en la población general, reduciendo, pero probablemente no eliminando, el sesgo. Los investigadores rastrearon a 518 trabajadores que dieron positivo por SARS-CoV-2 y los compararon con más de 2000 participantes del estudio que habían dado negativo para el virus. Aquellos que habían recibido una vacuna contra la influenza esa temporada tenían un 30% menos de probabilidades de dar positivo para SARS-CoV-2, y un 89% menos de probabilidades de desarrollar COVID-19 grave, en comparación con los trabajadores que no lo habían hecho (aunque el número de casos graves fue pequeño en ambos grupos).

Günther Fink, epidemiólogo de la Universidad de Basilea en Suiza, descubrieron el mismo vínculo; su equipo informó que las vacunas contra la gripe se asociaron con un menor riesgo de muerte en personas hospitalizadas con COVID-19 en Brasil.

No está claro cuánto tiempo dura esta protección. Entre aquellos en el estudio de Qatar que se vacunaron contra la gripe y luego contrajeron COVID-19, el equipo de Abu-Raddad registró infecciones por SARS-CoV-2 que ocurrieron, en promedio, aproximadamente seis semanas después de la vacunación. Tampoco se sabe por qué las vacunas contra la influenza, que se componen de virus de influenza muertos, protegerían contra COVID-19. Las vacunas entrenan al sistema inmunitario para reconocer patógenos específicos, pero también aceleran las defensas antivirales de acción amplia.

Saber que las vacunas contra la gripe y otras enfermedades pueden ofrecer protección contra el COVID-19, aunque solo sea parcial y por un período limitado, podría limitar el daño causado por una futura pandemia antes de que se desarrolle una vacuna para la enfermedad.

Nature 605, 602 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01315-9>.

Tayar, E. et al. medRxiv <https://doi.org/10.1101/2022.05.09.22274802> (2022).

LAS VACUNAS OFRECEN POCA PROTECCIÓN FRENTE A COVID-19 PERSISTENTE

Las vacunas contra la influenza tienen un beneficio **Sara Reardon** informa en *Nature* (22 de mayo), que los resultados sugieren que las vacunas ofrecen menos protección contra los síntomas persistentes de lo esperado. La vacunación contra el SARS-CoV-2 reduce el riesgo de COVID prolongado después de la infección en solo un 15%, según un estudio de más de 13 millones de personas realizado por el grupo de **Ziyad Al-Aly**, en el *Veterans Research and Education Foundation of Saint Louis* y otros departamentos de la *Washington University School of Medicine* de St. Louis y Missouri. Esa es la cohorte más grande que se ha utilizado hasta ahora para examinar cuánto protegen las vacunas contra la afección, pero es poco probable que termine con la incertidumbre.

El COVID prolongado, enfermedad que persiste durante semanas o meses después de la infección por SARS-CoV-2, ha demostrado ser difícil de estudiar, entre otras cosas porque la variedad de síntomas hace que sea difícil de definir. Incluso descubrir lo común que es ha sido un desafío. Algunos estudios han sugerido que ocurre en hasta el 30% de las personas infectadas con el virus. Pero un estudio de aproximadamente 4.5 millones de personas tratadas en hospitales del Departamento de Asuntos de Veteranos (VA) de los Estados Unidos sugiere que el número es del 7% en general y más bajo que el de aquellos que no fueron hospitalizados.

Otro misterio a descubrir es si es menos probable que ocurra COVID durante mucho tiempo después de una infección irruptiva, en una persona vacunada. El nefrólogo Ziyad Al-Aly del VA Saint Louis Health Care System en St Louis, Missouri, y sus colegas, analizaron los registros de salud de VA de enero a diciembre de 2021, incluidos los de aproximadamente 34 000 personas vacunadas que tenían infecciones irruptivas por SARS-CoV-2, 113 000 personas que habían sido infectadas pero no vacunadas y más de 13 millones de personas que no habían sido infectadas.

Los investigadores encontraron que la vacunación parecía reducir la probabilidad de COVID persistente en personas que habían sido infectadas solo en un 15%. Eso contrasta con estudios anteriores más pequeños, que han encontrado tasas de protección mucho más altas. También es una desviación de otro gran estudio, que analizó datos autoinformados de 1.2 millones de usuarios de teléfonos inteligentes del Reino Unido y descubrió que dos dosis de una

vacuna COVID-19 redujeron a la mitad el riesgo de COVID persistente.

Los autores del último estudio también compararon síntomas como la niebla cerebral y la fatiga en personas vacunadas y no vacunadas hasta seis meses después de que dieron positivo por SARS-CoV-2. El equipo no encontró diferencias en el tipo o la gravedad de los síntomas entre los que habían sido vacunados y los que no.

Ha habido más de 83 millones de infecciones por COVID-19 solo en los Estados Unidos. Si incluso un pequeño porcentaje de ellos se convierte en COVID persistente, ese es un número asombrosamente alto de personas afectadas por una enfermedad que sigue siendo misteriosa. La protección limitada proporcionada por las vacunas significa que retirar medidas como los mandatos de mascarillas y las restricciones de distanciamiento social podría estar poniendo en riesgo a más personas, particularmente aquellas con sistemas inmunológicos comprometidos. Según Al-Aly, la vacuna solo protegería a un 15% de las personas. Estos resultados apuntan a la necesidad de más investigación sobre COVID a largo plazo y un desarrollo acelerado de medidas profilácticas y estrategias terapéuticas más allá de los recursos empleados hasta ahora.

Reardon S. *Nature*, 22 May, 2022. doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01453-0>.

Al-Aly, Z., Bowe, B. & Xie, Y. Long COVID after breakthrough SARS-CoV-2 infection. *Nat Med* (2022). <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01840-0>

04

BREVIALIA



TÍMIDO RENACIMIENTO DE LA TERAPIA GÉNICA

Las cefalalgias autonómicas del trigémino se asocian con cefalea unilateral y La investigación en terapia génica ha experimentado un cierto renacimiento, con una serie de resultados prometedores en ensayos clínicos contra enfermedades genéticas devastadoras, incluida la anemia de células falciformes. Pero las respuestas inmunes pueden hacer que las terapias sean menos efectivas y generar efectos secundarios peligrosos. Nuevos enfoques en Terapia Génica y Celular podrían reducir el riesgo de una respuesta inflamatoria deletérea.

Los investigadores han sido cautelosos durante mucho tiempo al explicar cómo las respuestas inmunes podrían hacer que las terapias génicas fuesen menos efectivas. Los tratamientos a menudo dependen de un virus para transportar un gen a las células, pero si el receptor ya tiene anticuerpos contra ese virus, una respuesta inmune podría dificultar el tratamiento. Como resultado, la participación en ensayos clínicos de terapia génica a menudo se limita a personas que aún no tienen dichos anticuerpos.

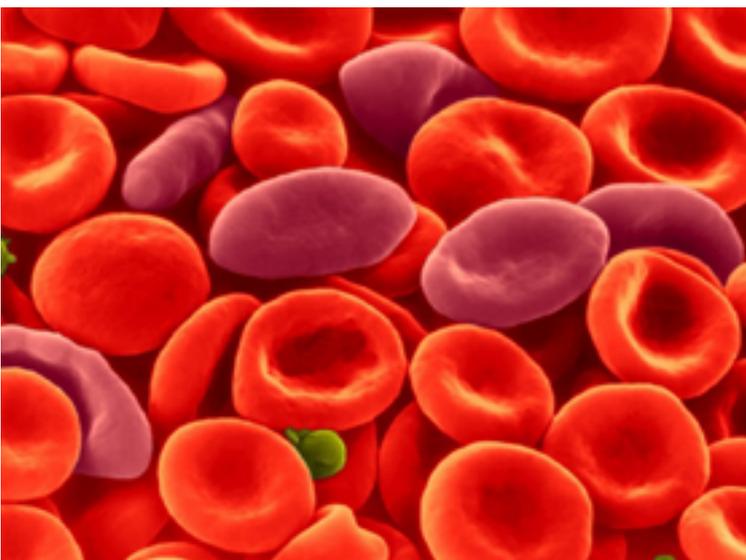
En la mayoría de los estudios de terapia génica, el gen es transportado por uno de varios adenovirus (AAV) disponibles, un grupo de virus pequeños que se han estudiado durante casi cuatro décadas. Miles de personas han recibido una terapia génica basada en AAV, como *Zolgensma* (onasemnogene abeparvovec), un tratamiento para la atrofia muscular espinal, o *Luxturna* (voretigene neparvovec), que trata una forma de distrofia retiniana que puede causar ceguera.

Los vectores AAV también se están utilizando en ensayos clínicos de terapias de edición de genes, incluidas las basadas en el popular sistema CRISPR-Cas9. Y los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (NIH) han lanzado un programa para estudiar los vectores AAV, con la esperanza de fomentar una línea de terapia génica en la que los desarrolladores puedan simplemente intercambiar un nuevo gen terapéutico en el genoma viral para tratar una enfermedad en particular, sin tener que realizar grandes ensayos clínicos para establecer la seguridad. Los ensayos clínicos grandes son particularmente difíciles cuando se trata de tratamientos para trastornos genéticos raros.

La principal preocupación solía ser que los anticuerpos contra un AAV o su carga evitarían que la terapia génica funcionara o excluirían la posibilidad de administrar múltiples dosis. Pero más recientemente, los investigadores se han dado cuenta de que los anticuerpos podrían estimular la producción de moléculas inflamatorias, activar las vías de muerte celular y desencadenar el desarrollo de células T asesinas que podrían dirigirse a las células que contienen AAV para su destrucción.

Algunos investigadores están tratando de diseñar vectores AAV más seguros. Los riesgos aumentan cuando se usan cantidades altas de AAV. Otros están tratando de "humanizar" el genoma AAV, para que sea menos probable que active las vías inmunes. Por ejemplo, en los seres humanos, cuando la base C del ADN es seguida directamente en la secuencia del genoma por la base G, a menudo lleva un grupo químico llamado metilo. AAV tiene un mayor porcentaje de grupos CG sin un metilo, una posible señal de alerta para el sistema inmunológico. El aumento de la metilación de las regiones ricas en CG disminuye la activación de moléculas promotoras de la inflamación llamadas citoquinas. La misma metilación, si se usa demasiado, también podría suprimir la expresión génica, incluida la del gen terapéutico transportado por el AAV. Otros autores están trabajando en formas de suprimir las respuestas inmunes dañinas. Las terapias génicas a menudo se administran con inmunosupresores como los esteroides, pero existe la preocupación de que tales tratamientos a veces sean ineficaces y puedan hacer que los receptores sean vulnerables a la infección. En algunos centros de investigación se están desarrollando nanopartículas diseñadas para ser absorbidas por las células inmunes, acopladas a un medicamento llamado rapamicina que, a veces, se usa para suprimir el sistema inmunológico después del trasplante de órganos.

A medida que el alcance de las terapias génicas continúa expandiéndose, habrá que desarrollar herramientas para monitorizar la inflamación potencialmente peligrosa en partes del cuerpo de difícil acceso, como el cerebro.



—
Fotomicrografía de Dennis Kunkel. *Nature*, 31 May, 2022. doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01518-0>.

EL MARAVILLOSO MUNDO DE LA INMUNOLOGÍA CEREBRAL

Antiguamente se pensaba que el cerebro estaba aislado del resto del sistema inmunológico corporal, pero en los últimos años está surgiendo una imagen emocionante del cerebro como un ecosistema inmunológico único.

El cerebro es el soberano del cuerpo y recibe protección de acuerdo con su alto estatus. Sus células son longevas y se refugian dentro de una temible fortificación llamada barrera hematoencefálica. Durante mucho tiempo, los científicos pensaron que el cerebro estaba completamente aislado del caos del resto del cuerpo, especialmente su ansioso sistema de defensa, una masa de células inmunes que luchan contra las infecciones. En la última década, sin embargo, se ha descubierto que el trabajo de proteger el cerebro no es tan sencillo como se pensaba. Su fortificación tiene puertas de entrada y brechas, y sus fronteras están llenas de células inmunes activas.

El cerebro y el sistema inmunológico están estrechamente entrelazados. El cerebro tenía sus propias células inmunes residentes, llamadas microglia. Otros guerreros inmunes están alojados en las regiones alrededor del cerebro. Algunas de estas células provienen de otras partes del cuerpo; otros se producen localmente, en la médula ósea del cráneo. Al estudiar estas células inmunes y mapear cómo interactúan con el cerebro, se ha descubierto que juegan un papel importante tanto en los cerebros sanos como en los enfermos o dañados.

Hace más de dos décadas, cuando el neuroinmunólogo **Michal Schwartz** acababa de establecer su laboratorio en el Instituto Weizmann de Ciencias en Rehovot, Israel, no podía dejar de hacerse una pregunta impopular: ¿podría ser realmente cierto que el cerebro está completamente aislado de la protección inmune? La idea de que el cerebro estaba fuera de los límites del sistema inmunológico echó raíces décadas antes. En la década de 1920, el científico japonés **Y. Shirai** informó que cuando las células tumorales se implantaban en el cuerpo de una rata, la respuesta inmune las destruía, pero cuando se colocaban en el cerebro, sobrevivían, lo que indicaba una respuesta inmune débil o ausente. Hallazgos similares siguieron en

la década de 1940. También se pensaba que el cerebro carecía de un sistema para transportar moléculas inmunes dentro y fuera, como el sistema de drenaje linfático que existe en otras partes del cuerpo, a pesar de que dicho sistema se describió por primera vez en el cerebro hace más de dos siglos. La opinión predominante, entonces, era que el cerebro y el sistema inmunológico vivían vidas en gran medida separadas. Se pensaba que los dos chocaban solo en circunstancias hostiles: cuando las células inmunes se volvían rebeldes, atacando a las propias células del cuerpo en enfermedades como la esclerosis múltiple. Entonces, cuando, a fines de la década de 1990, Schwartz y su equipo informaron que después de una lesión aguda en el sistema nervioso central, dos tipos de células inmunes, macrófagos y células T, protegían a las neuronas del daño y apoyaban su recuperación, muchos científicos se mostraron escépticos.

Desde esos primeros experimentos, el equipo de Schwartz y otros han acumulado un gran cuerpo de evidencias que muestran que las células inmunes, de hecho, tienen un papel importante en el cerebro, incluso en ausencia de enfermedades autoinmunes. En ratones transgénicos diseñados para carecer de un sistema inmunológico, las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de neurona motora (esclerosis lateral amiotrófica) y la enfermedad de Alzheimer parecían progresar más rápidamente, mientras que la restauración del sistema inmune ralentizaba su progresión. Las células inmunes en los bordes del cerebro son activas en las enfermedades neurodegenerativas. Los márgenes del cerebro son inmunológicamente diversos: casi cualquier tipo de célula inmune en el cuerpo también se puede encontrar en el área que rodea el cerebro.

A medida que aumentan las evidencias de la participación de las células inmunes durante la lesión cerebral y la enfermedad, los investigadores han estado explorando su función en cerebros sanos. Muchos grupos han encontrado que la microglía es importante para el desarrollo del cerebro. Estas células están involucradas en la poda de las conexiones neuronales, y los estudios sugieren que los problemas en el proceso de poda podrían contribuir a las condiciones del desarrollo neurológico. Las células inmunes fronterizas también han demostrado ser esenciales en cerebros sanos. Los ratones que carecen de algunas de estas células muestran problemas de aprendizaje y comportamiento social. Otros sugieren que los ratones que se desarrollan sin una población específica de células T, tanto en el cerebro como en el resto del cuerpo, presentan una microglia defectuosa.

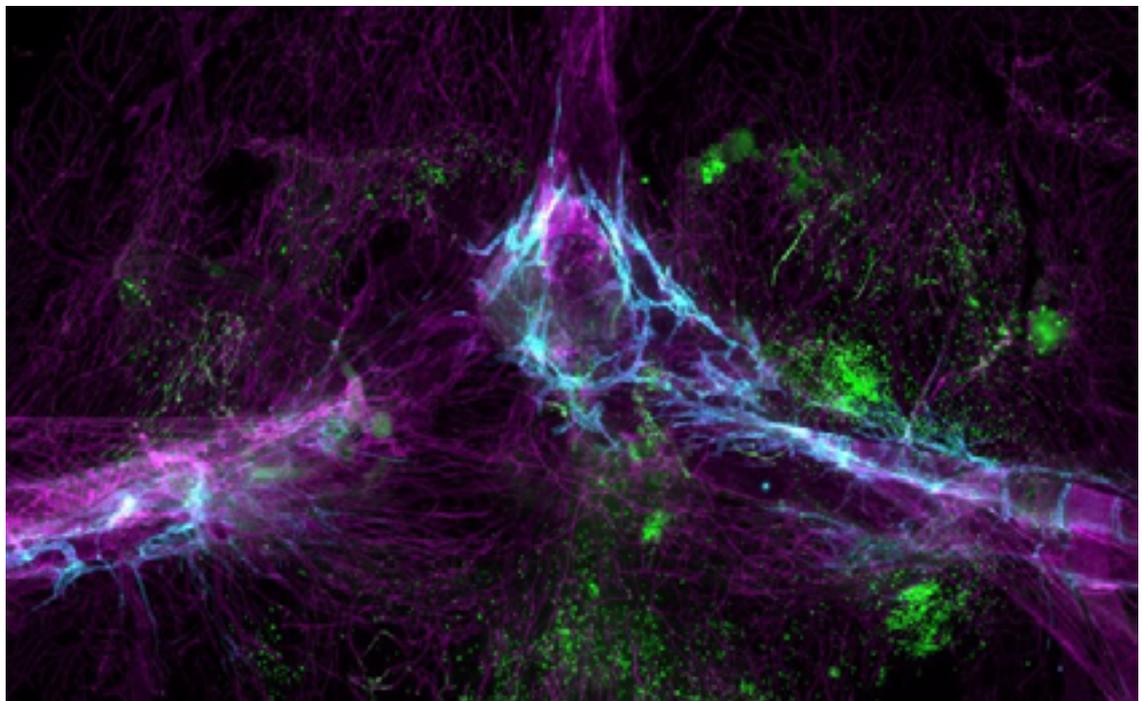
Un gran misterio es cómo exactamente las células inmunes, particularmente las que están alrededor de las fronteras, hablan con el cerebro. Aunque hay alguna evidencia de que ocasionalmente podrían cruzar al órgano, la mayoría de los estudios hasta ahora sugieren que estas células se comunican mediante el envío de mensajeros moleculares conocidos como citoquinas. Estos, a su vez, influyen en el comportamiento.

Los investigadores han estado estudiando cómo las citoquinas afectan el comportamiento durante décadas, encontrando, por ejemplo, que las citoquinas enviadas por las células inmunes durante la infección pueden iniciar "comportamientos de enfermedad" como el aumento del sueño. En modelos animales las alteraciones en las citoquinas pueden conducir a alteraciones en la memoria, el aprendizaje y los comportamientos sociales. Las citoquinas también

podrían ser un vínculo entre el sistema inmunológico y las afecciones del desarrollo neurológico como el autismo.

La comunicación entre el sistema inmunológico y el cerebro también parece ir en la otra dirección: el cerebro puede dirigir el sistema inmunológico. Algunas de estas ideas tienen décadas de antigüedad. En la década de 1970, los científicos condicionaron a las ratas a inmunodeprimirse cuando probaban la sacarina, un edulcorante artificial, combinándola con un medicamento inmunosupresor durante varios días. Un trabajo reciente explora el vínculo entre la emoción, la inmunidad y el cáncer en ratones. La activación de neuronas en el área tegmental ventral, una región del cerebro involucrada en las emociones positivas y la motivación, aumenta la respuesta inmune y, a su vez, ralentiza el crecimiento tumoral. Al activar estas neuronas artificialmente, los científicos pueden despertar la respuesta inmune intestinal. Se están rastreando las neuronas y circuitos específicos que modulan la respuesta inmune.

Uno de los mayores desafíos ahora es separar qué poblaciones de células están involucradas en estas innumerables funciones. Para abordarlo, algunos investigadores han estado investigando cómo estas células difieren a nivel molecular, mediante la secuenciación de genes en células individuales. Esto ha revelado un subconjunto de microglia asociada con enfermedades neurodegenerativas, por ejemplo. Comprender cómo funcionan estas microglías de manera diferente a sus hermanas sanas será útil en el desarrollo de tratamientos. También podrían usarse como marcadores para rastrear la progresión de una enfermedad o la eficacia de las terapias.



—
Fotomicrografía de Siling Du, Kipnis lab, Washington University in St. Louis. Nature 606, 22-24 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01502-8>.

THE BRAIN'S IMMUNE DEFENCES

Long thought to be cut off from the body's immune system, the brain is now known to host its own immune cells while allowing others to circulate through its fluid-filled borders, the meninges. Cell types include microglia inside the brain and T cells and macrophages at the edges. Together, these help the healthy brain to function and defend it from disease.

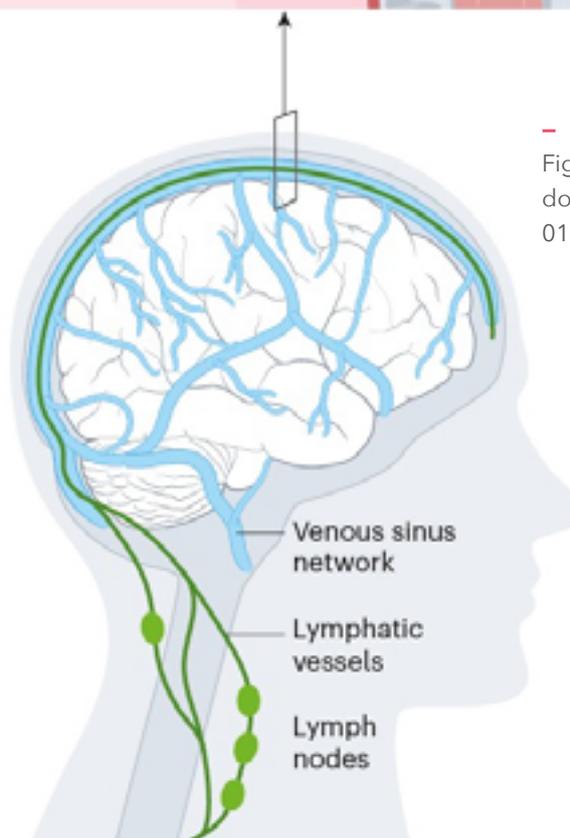
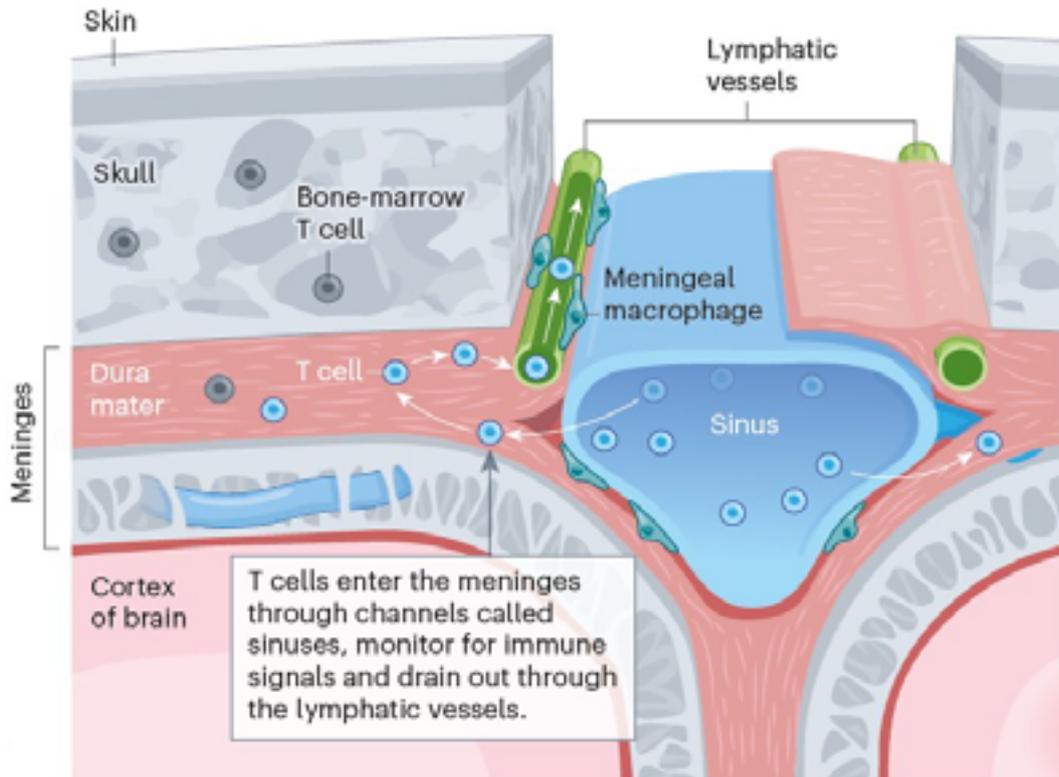


Figura: Nik Spencer. Nature 606, 22-24 (2022).
doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01502-8>.

DIÁLOGO DE TAU Y B-AMILOIDE EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La proteína beta-amiloide y la proteína tau son moléculas clave en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (EA). Al combinar imágenes moleculares transversales y longitudinales y análisis de conectividad de red en humanos vivos, el equipo de **Wha Jin Lee**, de la *School of Biomedical Engineering*, de la Universidad de Corea en Seúl, identificó dos interacciones amiloide-beta/tau asociadas con el inicio y la propagación de la propagación de tau. La corteza entorrinal lateral, un sitio temprano de formación de enredos neurofibrilares tau, está sujeta a interacciones remotas mediadas por la conectividad amiloide-beta/tau vinculadas a la propagación inicial de tau. El giro temporal inferior es la región que presenta las mayores interacciones locales amiloide-beta/tau y un perfil de conectividad muy adecuado para acelerar la propagación de tau.

Lee, W. J. et al. Regional A β -tau interactions promote onset and acceleration of Alzheimer's disease tau spreading. *Neuron* <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.03.034> (2022).

SERIAS CRÍTICAS A LA FDA Y MARCHA ATRÁS EN LA APROBACIÓN ACELERADA DE FÁRMACOS BAJO PRESIÓN POLÍTICA

Casi un año después de que la FDA (*US Food and Drug Administration*) diera luz verde a un controvertido medicamento para tratar la enfermedad de Alzheimer, los legisladores están tratando de enmendar el proceso que llevó a su aprobación. El Comité de Energía y Comercio de la Cámara de Representantes, que supervisa la seguridad de los medicamentos y la investigación biomédica, anunció la semana pasada que espera otorgar a la FDA una mayor autoridad para rescindir las aprobaciones aceleradas si una compañía no completa los estudios de seguimiento sobre el tratamiento en un período de tiempo razonable.

La disposición, que se introdujo como parte de un proyecto de ley de reautorización de fondos de la FDA, que probablemente se aprobará antes de septiembre, se produce inmediatamente después de la aprobación de la agencia en 2021 de aducanumab, un medicamento de anticuerpos que se ha demostrado que reduce la acumulación de placas en el cerebro asociadas con la progresión de la enfermedad de Alzheimer. A pesar de un voto casi unánime en contra de la aprobación de un panel independiente de expertos, la agencia aceleró el medicamento, que fue desarrollado por Biogen, una compañía de biotecnología con sede en Cambridge, Massachusetts. Tres miembros del panel asesor renunciaron en protesta por la decisión, y la aprobación es objeto de múltiples investigaciones por parte de los reguladores federales.

Aducanumab no es la única razón por la que esta vía de aprobación de medicamentos está siendo criticada: desde su inicio, el programa ha llevado a que 279 tratamientos lleguen al mercado, con casi dos tercios solo en la última década. La creciente popularidad del programa indica un alejamiento de su intención original. La aprobación acelerada comenzó como un programa especial para un pequeño número de medicamentos, y ahora la mayoría de los medicamentos contra el cáncer se están colando a través de programa de aprobación acelerada.

La FDA creó la vía de aprobación acelerada en 1992, en gran parte en respuesta a la crisis del VIH-SIDA, para llevar al mercado sin demora los medicamentos que se necesitan con urgencia. En lugar de demostrar la eficacia a través de criterios de valoración clínicamente significativos, como la supervivencia del paciente o la reducción de los síntomas, los candidatos a fármacos revisados bajo esta vía a menudo se basan en lo que se conoce como criterios de valoración sustitutos, que pueden ser más rápidos o más fáciles de rastrear que los criterios de valoración convencionales de los ensayos clínicos. Por ejemplo, la contracción tumoral es un sustituto común utilizado en ensayos clínicos de medicamentos contra el cáncer, pero esta métrica no está necesariamente relacionada con un beneficio directo para los pacientes. Esta vía ha turboalimentado el número de inmunoterapias y tratamientos contra el cáncer en el mercado. Pero algunos de estos medicamentos cuestan cientos de miles de dólares por año, a pesar de, en muchos casos, datos limitados que muestran su utilidad clínica. El programa ha sido cooptado por la industria farmacéutica para acelerar las aprobaciones. Los tratamientos contra el cáncer aprobados a través de la vía han llegado al mercado en promedio unos tres años antes de lo que lo harían a través de las rutas estándar. Y un solo estudio que utilice criterios de valoración sustitutos podría ser suficiente para obtener un tratamiento en el mercado.

Parte del problema es que las compañías farmacéuticas no están cumpliendo con su parte del trato con estudios oportunos posteriores a la comercialización que confirman los beneficios del medicamento. Algunos investigadores cuestionan si a las empresas se les da demasiado tiempo para producir tales datos. Un análisis de 2021 encontró que el 13% de los medicamentos a los que se les otorgó la aprobación acelerada entre 1992 y 2016 no se habían convertido en aprobación completa dentro de los cinco años, y permanecieron en el mercado durante una mediana de 9.5 años sin los datos necesarios para la conversión.

Los ensayos posteriores a la comercialización pueden llevar mucho tiempo, especialmente para afecciones de progreso lento, como las enfermedades neurodegenerativas. También es difícil para las empresas reclutar participantes, porque las personas preferirían que se les garantizara un medicamento aprobado que arriesgarse a recibir un placebo. En lugar de exigir que una compañía deje de vender un medicamento que no se ha convertido en aprobación completa, la agencia a menudo solicita que la compañía lo retire voluntariamente del mercado. Por ejemplo, en 2011, la FDA revocó su aprobación acelerada del medicamento de anticuerpos bevacizumab para tratar el cáncer de mama, citando una falta de beneficio clínico. Esto resultó en una reacción pública cuando las personas con cáncer de mama dieron testimonios emocionales en un intento de mantener la aprobación en su lugar. Para muchas personas, la aprobación acelerada ofrece una "valiosa fuente de esperanza". Sin embargo, no es el trabajo de la FDA dar esperanza. La esperanza no es lo que mantiene vivos a los pacientes sino los medicamentos que garantizan seguridad y eficacia.

El programa de aprobación acelerada ha servido de modelo para otros países. Pero los adoptantes, incluidos la Unión Europea y Japón, han dado a los reguladores de medicamentos más autoridad. Los reguladores pueden exigir a las empresas que presenten datos de ensayos confirmatorios en un período de tiempo determinado; si no lo hacen, sus aprobaciones pueden ser retiradas.

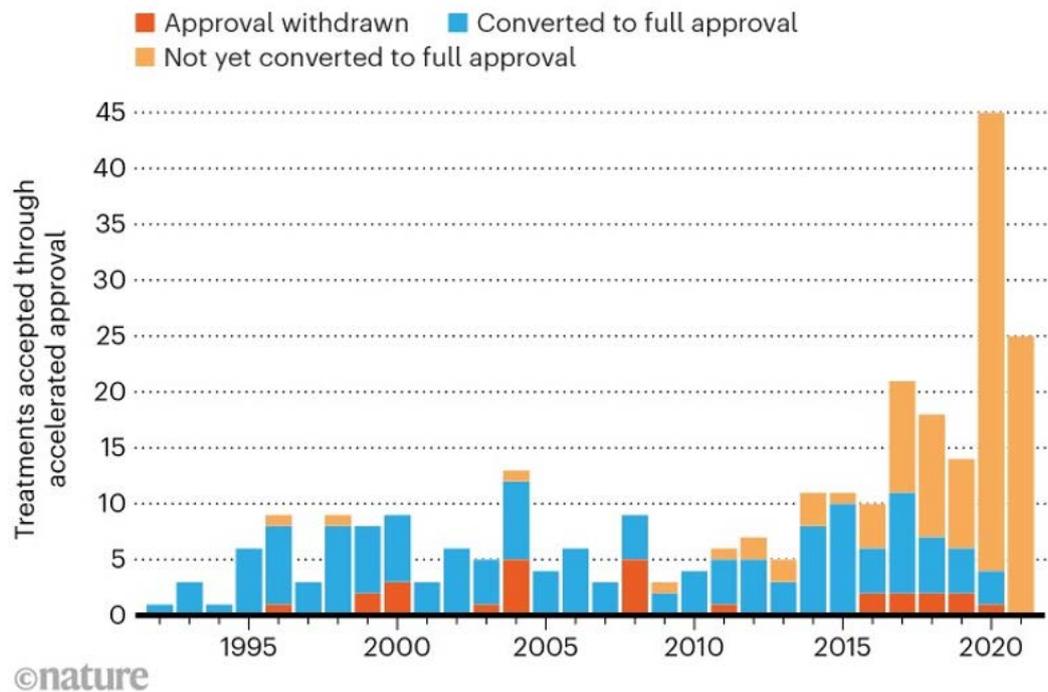
Los Centros de Servicios de Medicare y Medicaid (CMS) de los Estados Unidos en Baltimore deciden qué tratamientos se financiarán para decenas de millones de residentes de los Estados Unidos. A principios de este año, preocupado por

la eficacia de aducanumab, el CMS declaró que cubriría el coste anual de US \$ 28,800 del medicamento solo para las personas inscritas en ensayos clínicos. Aunque esa decisión no tiene precedentes, el CMS debería considerar una tasa de reembolso más baja para otros tratamientos de aprobación acelerada que aún no han obtenido la aprobación completa.

La debacle del aducanumab es un "punto débil" en el gran esquema de aprobaciones aceleradas, y reclama atención sobre la necesidad de ensayos confirmatorios para algunos medicamentos. La reforma no será sencilla. Una vez que un medicamento ingresa al mercado, las compañías farmacéuticas no tienen prisa por demostrar su inutilidad.

GROWING MOMENTUM FOR ACCELERATED APPROVAL

Nearly 300 treatments have been approved through the US Food and Drug Administration's accelerated-approval programme. With additional data, these can go on to receive full approval. Some approvals have been withdrawn because of a lack of follow-up data, but full approval is still pending for many.



Nature 605, 600-601 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01316-8>.

PRIMEROS TRASPLANTES DE RIÑÓN DE CERDO EN HUMANOS

La proteína beta-amiloide y la proteína tau son moléculas clave en la patogénesis de Los riñones de cerdos, modificados genéticamente para tener sistemas inmunes similares a los humanos, funcionaron con éxito cuando se trasplantaron a dos pacientes que habían muerto recientemente. Aunque los órganos parecían funcionar, algunos investigadores cuestionan el valor de los experimentos y argumentan que los ensayos clínicos en personas vivas son la única forma de averiguar si los trasplantes de cerdos pueden ayudar a aliviar la escasez de órganos humanos disponibles para las personas que los necesitan.

Los investigadores han trasplantado órganos de cerdo a primates no humanos con gran éxito: un babuino vivió durante más de dos años con un corazón de cerdo modificado genéticamente. Pero los sistemas inmunológico y metabólico de los babuinos son diferentes de los humanos, y ciertos medicamentos inmunosupresores utilizados rutinariamente en trasplantes de órganos humanos no funcionan en primates no humanos.

En pruebas de trasplantes, realizadas por **Robert Montgomery** y su equipo de la *New York University* (NYU) en septiembre y noviembre de 2021, se utilizaron cerdos que habían sido modificados genéticamente para eliminar una proteína llamada alfa-1,3-galactosiltransferasa (α Gal). La versión porcina de α Gal activa el sistema inmunológico humano para rechazar los xenotrasplantes (órganos transferidos de una especie diferente). Con cada riñón que los investigadores trasplantaron, también trasplantaron un timo de cerdo, un órgano que produce células inmunes y ayuda al cuerpo a aceptar los órganos extraños. Probaron estas "timoquinas" en dos personas que habían sido declaradas legalmente muertas uno o dos días antes porque no tenían función cerebral. Los investigadores no extirparon los riñones de los pacientes, sino que injertaron los riñones de cerdo en las venas y arterias que transportaban sangre hacia y desde las piernas de los receptores. Luego monitorizaron la función de los riñones y las respuestas inmunes de los pacientes durante 54 horas, un límite impuesto por la junta de ética de la NYU, basado en la cantidad de tiempo que generalmente se requiere para extraer los órganos de una persona para el trasplante.

En un artículo publicado el 19 de mayo en *The New England Journal of Medicine*, los investigadores dijeron que los pacientes no mostraron una reacción inmune inmediata a los órganos. El xenoinjerto en ambos receptores comenzó a producir orina momentos después de la reperfusión. Durante el estudio de 54 horas, la TFGe cinética aumentó de 23 ml por minuto por 1.73 m² de superficie corporal antes del trasplante a 62 mL por minuto por 1.73 m² después del trasplante en el receptor 1 y de 55 a 109 mL por minuto por 1.73 m² en el receptor 2. En ambos receptores, el nivel de creatinina, que había estado en estado estacionario, disminuyó después de la implantación del xenoinjerto, de 1.97 a 0.82 mg por decilitro en el receptor 1 y de 1.10 a 0.57 mg por decilitro en el receptor 2. Los riñones trasplantados permanecieron rosados y bien perfundidos, y continuaron produciendo orina durante todo el estudio. Las biopsias que se realizaron a las 6, 24, 48 y 54 horas no revelaron signos de rechazo hiperagudo o mediado por anticuerpos. La producción de orina por hora con el xenoinjerto fue más del doble de la producción con los riñones nativos.

Otros investigadores, sin embargo, son escépticos ante los resultados. Por un lado, a los cerdos utilizados en el estudio les faltaba solo un gen, a pesar de que la investigación muestra que la modificación de tres o más genes ayuda al sistema inmunológico humano a aceptar el órgano. Además, es difícil saber si los riñones de cerdo estaban funcionando o si la orina y la creatinina provenían realmente de los propios riñones de los pacientes.

Algunos también plantean cuestiones éticas. La investigación en babuinos y suero humano ya había demostrado que los sistemas inmunes de los primates no rechazarían inmediatamente un órgano de cerdo que carece de α Gal. La pregunta sin respuesta es si el sistema inmunológico humano atacará el órgano meses después y si el órgano continuará funcionando. Para testar esto habría que mantener a los pacientes trasplantados en condiciones de muerte cerebral durante meses. Según un código de bioética implantado en 2005, los investigadores deben mantener a las personas que tienen una pérdida irreversible de la función cerebral en soporte vital durante solo un día, a menos que haya razones científicas válidas para extender el período.

Algunos investigadores argumentan que es hora de comenzar a trasplantar órganos animales a personas vivas, algo que solo ha tenido un éxito parcial. En enero, investigadores de la Universidad de Maryland obtuvieron un permiso especial de la FDA para realizar el primer trasplante de emergencia de un corazón de cerdo genéticamente modificado a un hombre que seguramente moriría de lo contrario y que de hecho murió dos meses después a causa de un citomegalovirus porcino, un virus animal que es inofensivo para los humanos pero que causó que su sistema inmunológico rechazara el órgano.

La manipulación genética para optimizar el trasplante de órganos abre un nuevo horizonte de esperanza a muchas personas condenadas a morir por fallo orgánico y la investigación preliminar para hacer estos trasplantes efectivos abre la caja de Pandora a cuestiones bioéticas que requieren adaptarse a los tiempos y al progreso científico.



—
Nature 605, 597-598 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01418-3>

Montgomery RA, Stern JM, Lonze BE, Tatapudi VS, Mangiola M, Wu M, Weldon E, Lawson N, Deterville C, Dieter RA, Sullivan B, Boulton G, Parent B, Piper G, Sommer P, Cawthon S, Duggan E, Ayares D, Dandro A, Fazio-Kroll A, Kokkinaki M, Burdorf L, Lorber M, Boeke JD, Pass H, Keating B, Griesemer A, Ali NM, Mehta SA, Stewart ZA. Results of Two Cases of Pig-to-Human Kidney Xenotransplantation. *N Engl J Med.* 2022 May 19;386(20):1889-1898. doi: 10.1056/NEJMoa2120238. PMID: 35584156.

MECANISMOS PARA ENTENDER MEJOR EL DOLOR NEUROPÁTICO

En los últimos años hemos sido testigos de grandes avances en la comprensión de los mecanismos del dolor neuropático basados en el sistema nervioso central, con contribuciones clave atribuidas a la activación glial espinal y los circuitos celulares y la señalización que median la desinhibición de la nocicepción por el tacto ligero. No está claro si las alteraciones de los nervios periféricos están causalmente relacionadas con el mantenimiento del dolor neuropático crónico o solo se requieren como desencadenante inicial de los procesos de plasticidad central. El dolor crónico rara vez se ha estudiado en asociación con la regeneración nerviosa después de una lesión. Después de un trauma físico, las fibras nerviosas periféricas dañadas tienen una capacidad limitada para regenerarse gradualmente en ambientes permisivos. Si la regeneración se ve obstaculizada por elementos físicos o un entorno local no propicio, las fibras nerviosas vecinas no dañadas pueden invadir regiones denervadas a través de brotes colaterales. Sin embargo, si esto conduce a la recuperación de la sensación normal y la desaparición del dolor, o a la exacerbación del dolor neuropático a través de la hiperinervación o el cableado erróneo de las colaterales, es un asunto controvertido. La desambiguación inequívoca del papel de la regeneración de los nervios periféricos en el dolor neuropático se ha visto obstaculizada hasta ahora por la naturaleza correlativa y poblacional de los análisis de tejidos post mortem en estudios preclínicos y clínicos, que no tienen en cuenta la naturaleza dinámica de los cambios, la variabilidad interindividual de los patrones de inervación y la conectividad con los órganos terminales finales; estos estudios también carecen de análisis causales, por lo que no logran establecer si la reorganización periférica es una causa o una consecuencia del dolor neuropático.

La lesión nerviosa provoca dolor crónico y sensibilidad exagerada al tacto suave (alodinia), así como una pérdida de sensibilidad en las áreas en las que se unen los nervios lesionados y no lesionados. Se desconocen los mecanismos que expliquen estos síntomas mixtos y paradójicos.

El grupo de **Vijayan Gangadharan**, del Instituto de Farmacología de la Universidad de Heidelberg y del *Max Planck Institute for Brain Research*, en *Frankfurt am Main*, Alemania, obtuvieron imágenes longitudinales y no invasivas de poblaciones de fibras marcadas genéticamente que detectan estímulos nocivos (nociceptores) y tacto suave (aferentes de bajo umbral) periféricamente en la piel durante más de 10 meses después de la lesión nerviosa, mientras que simultáneamente rastreaban el comportamiento relacionado con el dolor en los mismos ratones. Las áreas de la piel completamente denervadas inicialmente perdieron la sensibilidad, recuperaron gradualmente la sensibilidad normal y desarrollaron una marcada alodinia y aversión al tacto suave varios meses después de la lesión. Este dolor neuropático inducido por reinervación involucró nociceptores que brotaron en territorios denervados reproduciendo con precisión el patrón inicial de inervación, fueron guiados por vasos sanguíneos y mostraron conectividad terminal irregular en la piel y redujeron los umbrales de activación imitando aferentes de umbral bajo. Por el contrario, las aferencias de umbral bajo, que normalmente median la sensación táctil y la alodinia en territorios nerviosos intactos después de una lesión, no se reinervaron, lo que llevó a una inervación aberrante de los órganos finales táctiles, como los corpúsculos de Meissner con nociceptores solos. La ablación genética de nociceptores abrogó completamente la alodinia de reinervación. Estos resultados revelan la aparición de una forma de dolor neuropático crónico que es impulsado por la plasticidad estructural, la conectividad terminal anormal y el mal funcionamiento de los nociceptores durante la reinervación, y proporcionan un marco mecanicista para las manifestaciones sensoriales paradójicas que se observan clínicamente y pueden imponer una pesada carga a los pacientes.

Gangadharan, V., Zheng, H., Taberner, F.J. et al.
Neuropathic pain caused by miswiring and abnormal
end organ targeting. *Nature* 606, 137-145 (2022).
<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04777-z>.

LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL AMENAZA LA LEY DE PATENTES

Un interesante artículo de **Alexandra George**, profesor de Leyes, y **Toby Walsh**, profesor de Inteligencia Artificial en la Universidad de Nuevo Gales del Sur en Sydney, Australia, alerta sobre el impacto que puede tener la inteligencia artificial sobre la ley de patentes en el desarrollo de fármacos u otros productos sanitarios.

En 2020, un algoritmo de aprendizaje automático ayudó a los científicos a desarrollar un potente antibiótico que funciona contra muchos patógenos (Nature <https://doi.org/ggm2p4>; 2020). La inteligencia artificial (IA) también se está utilizando para ayudar al desarrollo de vacunas, el diseño de fármacos, el descubrimiento de materiales, la tecnología espacial y el diseño de naves. En pocos años, numerosos inventos podrían involucrar a la IA. Esto está creando una de las mayores amenazas a las que se han enfrentado los sistemas de patentes.

El derecho de patentes se basa en el supuesto de que los inventores son humanos; actualmente tiene dificultades para tratar con un inventor que es una máquina. Los tribunales de todo el mundo están luchando con este problema ahora que las solicitudes de patente que nombran un sistema de IA como inventor se han presentado en más de 100 países. Varios grupos están llevando a cabo consultas públicas sobre la legislación en materia de IA y propiedad intelectual (P.I.), en particular en los Estados Unidos, el Reino Unido y Europa.

Si los tribunales y los gobiernos deciden que las invenciones hechas por IA no pueden patentarse, las implicaciones podrían ser enormes. Los financiadores y las empresas estarían menos incentivados a realizar investigaciones útiles utilizando inventores de IA cuando el retorno de su inversión podría ser limitado. La sociedad podría perderse el desarrollo de inventos que valgan la pena y salven vidas.

En lugar de obligar a las antiguas leyes de patentes a dar cabida a las nuevas tecnologías, los autores australianos proponen que los gobiernos nacionales diseñen leyes de PI a medida (IA-PI) que protejan las invenciones generadas por IA. Las naciones también deben crear un tratado internacional para garantizar

que estas leyes sigan principios estandarizados y que cualquier disputa pueda resolverse de manera eficiente.

Las máquinas que son capaces de inventar no fueron una consideración para los redactores de la primera legislación de patentes del mundo, el Estatuto de Patentes de Venecia de 1474. Tampoco estaban contemplados en el Convenio de París para la Protección de la Propiedad Industrial de 1883, que sentó las bases del sistema internacional de patentes. Incluso en 1994, las invenciones generadas por IA seguían siendo casi desconocidas cuando la Organización Mundial del Comercio finalizó su Acuerdo sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC). Los tratados de 1883 y 1994 exigen hoy normas internacionales sobre patentes.

El Acuerdo sobre los ADPIC protege "toda invención, ya sean productos o procesos, en todos los campos de la tecnología, siempre que sea nueva, implique una actividad inventiva y pueda aplicarse industrialmente" (go.nature.com/3n4khc2). En su redacción, «invenciones», «nuevas», «actividades inventivas» y «capaces de aplicación industrial» son términos de arte, cada uno con una definición jurídica. En esencia, un objeto no es patentable si no se cumple alguno de estos requisitos.

¿Qué es patentable? Generalmente, una invención debe cumplir con cada uno de los siguientes requisitos antes de que pueda ser patentada:

- Una invención hecha por uno o más inventores. Esto incluye productos, procesos o métodos en casi todos los campos de la tecnología.
- Novedad. La invención aún no existe.
- Actividad inventiva o no obvia. La invención no sería obvia para una "persona experta en el arte" que tiene un "conocimiento general común" en ese campo.
- Capaz de aplicación industrial o utilidad. La invención puede ser hecha o utilizada en la industria, hace lo que se afirma y/o tiene importancia económica.

Los 164 miembros de la Organización Mundial del Comercio deben cumplir con estos principios, estandarizados por el Acuerdo sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC) de 1994.

Las nuevas tecnologías ya han desafiado antes al sistema. Casos de alto perfil han probado si las secuencias genéticas, los organismos vivos hechos por el hombre y otros objetos podrían patentarse. La cuestión jurídica central en estos casos era si se trataba de invenciones. Por ejemplo, después de una batalla judicial de años entre la Asociación de Patología Molecular de los Estados Unidos y la firma de diagnóstico molecular *Myriad Genetics* en Salt Lake City, Utah, la Corte Suprema de los Estados Unidos concluyó en 2013 que las secuencias de genes humanos aisladas no eran patentables porque la información genética es un producto de la naturaleza en lugar de una invención humana.

Las invenciones generadas por la IA desafían el sistema de patentes de una manera nueva porque la cuestión es sobre "quién" hizo la invención, en lugar de "qué" se inventó. La primera y más apremiante pregunta a la que se han enfrentado las oficinas de registro de patentes con tales invenciones ha sido si el inventor tiene que ser humano. De lo contrario, uno de los temores es que las IA pronto sean

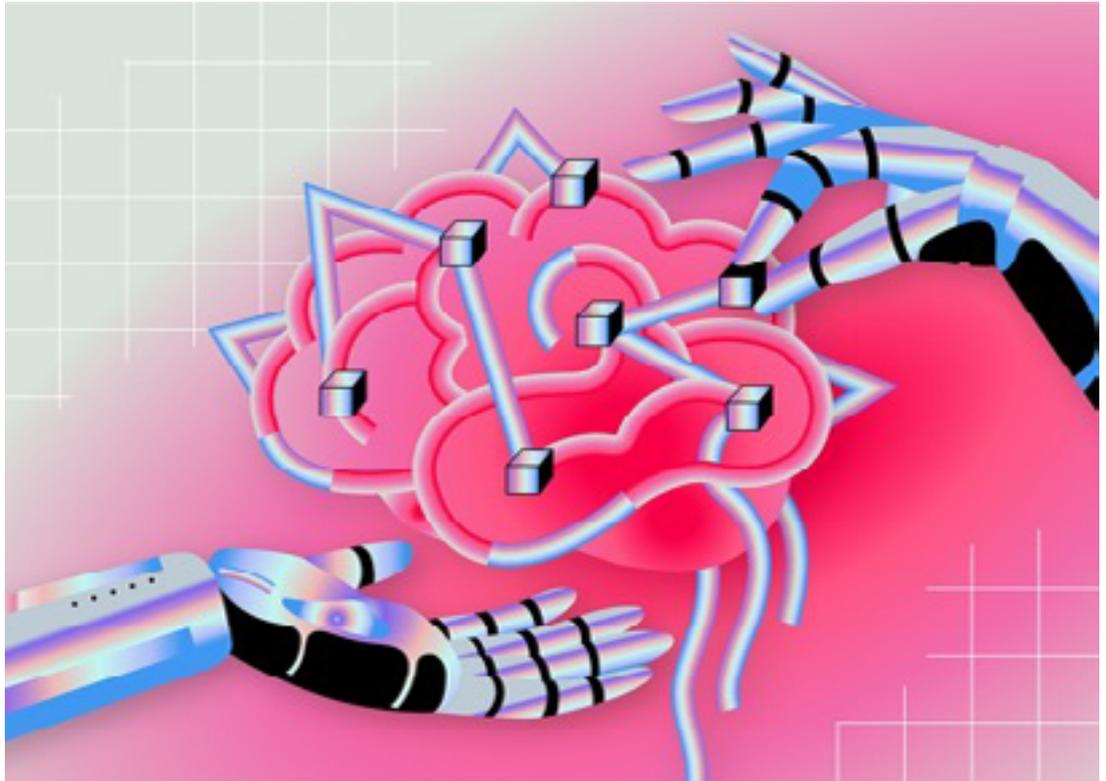
tan prolíficas que sus invenciones puedan abrumar el sistema de patentes con solicitudes. Otro desafío es aún más fundamental. Una "actividad inventiva" ocurre cuando una invención se considera "no obvia" para una "persona experta en la materia". Esta persona teórica tiene el nivel promedio de habilidad y conocimiento general de un experto ordinario en el campo técnico relevante. Si un examinador de patentes concluye que la invención no habría sido obvia para esta persona hipotética, la invención está un paso más cerca de ser patentada. Pero si las IA se vuelven más conocedoras y capacitadas que todas las personas en un campo, no está claro cómo un examinador de patentes humano podría evaluar si la invención de una IA era obvia. Un sistema de IA construido para revisar toda la información publicada sobre un área de la tecnología antes de que se invente poseería un cuerpo de conocimiento mucho más grande que cualquier ser humano. Evaluado contra todo conocimiento, casi todo parecería obvio. Si todo el mundo tiene acceso a tales herramientas de IA en el futuro, entonces el criterio de patentabilidad de la "actividad inventiva" sería casi imposible de lograr, y casi nada sería patentable. Se requeriría un replanteamiento completo.

Estos problemas han sido puestos de relieve por un sistema de IA llamado DABUS (*Device for the Autonomous Bootstrapping of Unified Sentience*), creado por Stephen Thaler, presidente y director ejecutivo de la firma de IA con sede en Estados Unidos Imagination Engines. Thaler afirma que DABUS inventó un nuevo tipo de recipiente de alimentos y una luz intermitente para atraer la atención en emergencias.

Los inventos no son notables. Las consecuencias de ellos sí lo son. En 2018, el equipo legal internacional de Thaler, dirigido por el académico **Ryan Abbott** de la Universidad de Surrey en Guildford, Reino Unido, comenzó a presentar solicitudes a las oficinas de patentes de todo el mundo, nombrando a DABUS como inventor. Se cree que estos casos son los primeros en probar si un sistema de IA puede ser reconocido como inventor bajo las leyes existentes. Las oficinas de patentes y los tribunales han tenido que pronunciarse sobre esta cuestión y han comenzado a señalar lagunas en la legislación.

Hasta la fecha, las oficinas de registro de patentes han rechazado las solicitudes en el Reino Unido, los Estados Unidos, Europa (tanto en la Oficina Europea de Patentes como en Alemania), Corea del Sur, Taiwán, Nueva Zelanda y Australia. Las impugnaciones de estas decisiones han fracasado en su mayor parte, y los tribunales concluyen que se presume que los inventores son humanos. En Alemania, un tribunal aceptó que las invenciones podrían patentarse si Thaler fuera nombrado como el inventor que impulsó a DABUS a crear las invenciones, un compromiso que reconoció la entrada del sistema de IA. Pero en este punto, la marea de la opinión judicial está corriendo casi en su totalidad en contra de reconocer los sistemas de IA como inventores para fines de patentes.

En ausencia de leyes claras que establezcan cómo evaluar las invenciones generadas por IA, los registros de patentes y los jueces actualmente tienen que interpretar y aplicar la legislación existente lo mejor que puedan. Esto está lejos de ser ideal. Sería mejor para los gobiernos crear una legislación explícitamente adaptada a la inventiva de la IA.



Nature 605, 616-618 (2022). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01391-x>.

UNA VACUNA CONTRA TUMORES RESISTENTES

La mayoría de las vacunas contra el cáncer se dirigen a los antígenos peptídicos, lo que requiere personalización debido a la gran diversidad interindividual en las principales moléculas del complejo de histocompatibilidad (MHC) que presentan péptidos a las células T. Además, los tumores escapan con frecuencia de la inmunidad mediada por células T a través de mecanismos que interfieren con la presentación peptídica. **Soumya Badrinath** y colaboradores, del Departamento de Inmunología del Cáncer y Virología del *Dana-Farber Cancer Institute* y del Departamento de Inmunología de la *Harvard Medical School* de Boston desarrollaron una vacuna contra el cáncer que induce un ataque coordinado por diversas poblaciones de células T y células asesinas naturales (NK). La vacuna se dirige a las proteínas de estrés MICA y MICB (MICA/B) expresadas por muchos cánceres humanos como resultado del daño al ADN. MICA/B sirven como ligandos para la activación del receptor NKG2D en células T y células NK, pero los tumores evaden el reconocimiento inmune mediante la escisión proteolítica MICA/B. Los anticuerpos inducidos por vacunas aumentan la densidad de las proteínas MICA/B en la superficie de las células tumorales al inhibir el desprendimiento proteolítico, mejorar la presentación de antígenos tumorales por las células dendríticas a las células T y aumentar la función citotóxica de las células NK. En particular, esta vacuna mantiene la eficacia contra tumores deficientes en MHC clase I resistentes a células T citotóxicas a través de la acción coordinada de células NK y células T CD4 +. La vacuna también es eficaz en un entorno clínicamente importante. La inmunización después de la extirpación quirúrgica de tumores primarios altamente metastásicos inhibe el crecimiento posterior de metástasis.

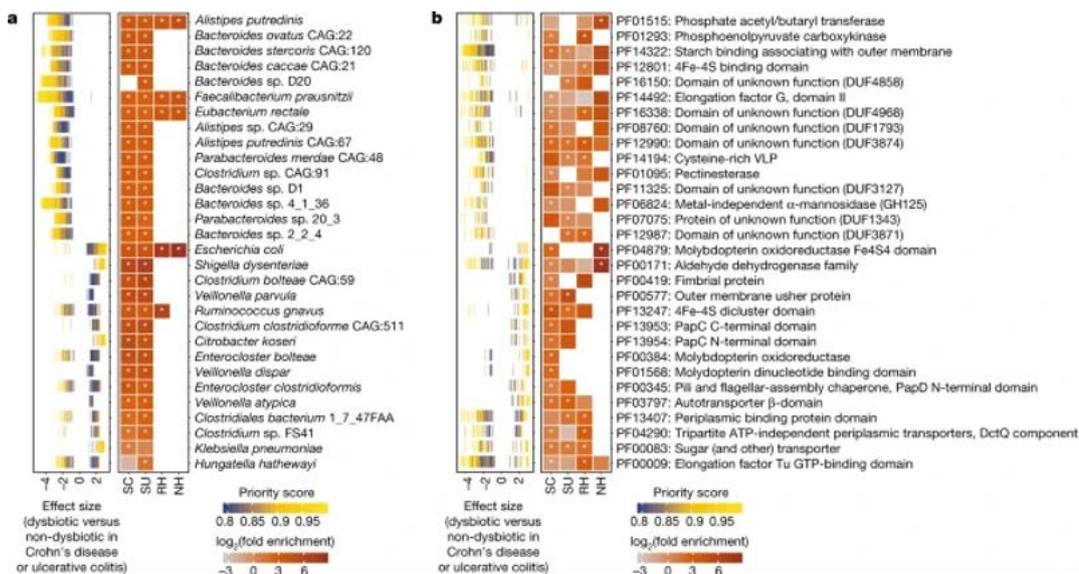
Badrinath, S., Dellacherie, M.O., Li, A. et al. A vaccine targeting resistant tumours by dual T cell plus NK cell attack. *Nature* (2022). <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04772-4>.

PRODUCTOS MICROBIANOS EN LA INFLAMACIÓN INTESTINAL CRÓNICA

Los microorganismos asociados al ser humano son una rica fuente de productos moleculares potencialmente bioactivos, tanto proteínas como metabolitos. Estos productos microbianos bioactivos impulsan procesos que incluyen interacciones huésped-microbio mediados por moléculas pequeñas e interacción microbio-microbio. Aunque dicha bioactividad subyace a cualquier ecología microbiana, es particularmente importante en el microbioma humano, en el que las interrupciones de la función entre especies contribuyen a afecciones como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Aunque es solo una de las muchas condiciones de salud en las que está implicado el microbioma humano, la EII se encuentra entre las mejor estudiadas con respecto a la bioactividad microbiana, y sin embargo, muchos productos microbianos no caracterizados probablemente contribuyen a su disbiosis.

Para abordar estas brechas, **Yancong Zhang** y colegas, del *Infectious Disease and Microbiome Program*, en el *Broad Institute of MIT en Harvard, Cambridge*, y de la *Harvard T.H. Chan School of Public Health* de Boston, investigaron la capacidad bioactiva de las proteínas microbianas del intestino humano durante la EII a través de un esfuerzo sistemático para identificar y priorizar las proteínas no caracterizadas con bioactividad potencial a escala de toda la comunidad. Priorizaron más de 340 000 familias de proteínas como potencialmente bioactivas con respecto a la inflamación durante la EII, y más del 50% de ellas no estaban caracterizadas previamente. Estas proteínas también fueron validadas por perfiles independientes de metatranscriptómica y metaproteómica. Los autores encontraron que diferentes combinaciones de componentes proinflamatorios de *Enterobacteriaceae* pilus provocaban respuestas inmunes distintas *in vitro*, apoyando su inmunogenicidad diferencial. Eliminar los homólogos del factor de von Willebrand (VWF) no caracterizados deterioró la actividad de formación de biopelículas en *Bacteroides* y esta actividad fue restaurada por la complementación de plásmidos. El método de análisis y su implementación de código abierto, a la que se refieren como MetaWIBELE (flujo de trabajo para identificar nuevos elementos bioactivos en el microbioma), se puede generalizar a otras comunidades microbianas asociadas al huésped y no asociadas al huésped y fenotipos de enfermedades humanas. Los resultados priorizados proporcionan miles de genes microbianos que probablemente interactúen con la inmunidad del huésped en la EII y la inflamación intestinal.

Las comunidades microbianas y sus compuestos bioactivos asociados a menudo se alteran en afecciones como las enfermedades inflamatorias intestinales (EII). Sin embargo, incluso en ambientes bien caracterizados (por ejemplo, el tracto gastrointestinal humano), más de un tercio de las proteínas microbianas no están caracterizadas y a menudo se espera que sean bioactivas. Más de 340 000 familias de proteínas potencialmente bioactivas influyen en la inflamación intestinal durante la EII, la mitad de las cuales son desconocidas. Para caracterizar estas proteínas, los autores norteamericanos utilizaron una combinación de metagenómica, metatranscriptómica y metaproteómica para proporcionar evidencia de bioactividad para un subconjunto de proteínas que están involucradas en el huésped y la comunicación microbiana célula-célula en el microbioma; por ejemplo, proteínas asociadas con procesos de adherencia o invasión, y factores extracelulares similares a los de von Willebrand. Las predicciones a partir de datos de alto rendimiento se validaron utilizando experimentos dirigidos que revelaron la inmunogenicidad diferencial de las pilinas de Enterobacteriaceae y la contribución de los homólogos de los factores de von Willebrand a la formación de biopelículas de Bacteroides de una manera dependiente de los niveles de mucina. Esta metodología, denominada MetaWIBELE (workflow to identify novel bioactive elements in the microbiome), es generalizable a otras comunidades ambientales y fenotipos humanos. Los resultados proporcionan miles de proteínas microbianas candidatas que probablemente interactúen con el sistema inmune del huésped en la EII.



Priorización de proteínas no caracterizadas implicadas en la bioactividad potencial y asociadas con la gravedad de la enfermedad inflamatoria intestinal.

Zhang, Y., Bhosle, A., Bae, S. et al. Discovery of bioactive microbial gene products in inflammatory bowel disease. *Nature* (2022). <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04648-7>.

VIROTERAPIA ONCOLÍTICA: USO DE VIRUS CONTRA EL CÁNCER

En los últimos años se han observado rápidos avances en el desarrollo preclínico y la evaluación clínica de las terapias basadas en virus oncolíticos (que destruyen células cancerosas), que están surgiendo como modalidad de tratamiento para algunos tipos de cáncer.

Stephen J. Russell, de la *Mayo Clinic* y *Vyriad* en Rochester; **John C. Bell**, del *Ottawa Hospital Research Institute*, en la Universidad de Ottawa; **Christine E. Engeland**, de la *Clinical Cooperation Unit Virotherapy del German Cancer Research Center (DKFZ)* y del *National Center for Tumor Diseases (NCT)* en Heidelberg; y **Grant McFadden**, del *Center for Immunotherapy, Vaccines, and Virotherapy (CIVV)* en el *Biodesign Institute* de la *Arizona State University* en Tempe, y *OncoMyx Therapeutics*, en Phoenix, Arizona, son expertos en el campo de la viroterapia oncolítica que describen algunos de los avances importantes en esta área, destacan los desafíos clave que aún deben abordarse para trasladar estas terapias a la clínica y citan las áreas de investigación a observar, desde la ingeniería genética y la fabricación de virus terapéuticos seguros y eficaces, hasta las pruebas en modelos animales y, en última instancia, en pacientes. Los temas clave que surgen son la necesidad de optimizar estas terapias para modular el microambiente inmune tumoral y el potencial de combinar la viroterapia con otras inmunoterapias para obtener el máximo beneficio clínico.

Los virus oncolíticos (OM) se convertirán en la tercera pata de la inmunoterapia contra el cáncer, funcionando como vacunas agnósticas de antígeno para aumentar la actividad del bloqueo de puntos de control y las terapias celulares adoptivas. Matan las células tumorales in situ, inflaman el tumor, reclutan células presentadoras de antígenos que fagocitan antígenos tumorales e impulsan la amplificación de las células T antitumorales, a pesar de que se desconoce la identidad de los antígenos tumorales.

Preclínicamente, la variedad de nuevas plataformas OV, cargas útiles de transgenes y terapias combinadas bajo investigación está floreciendo. Los temas emergentes son que las cargas útiles genéticas como la interleucina-12 y el anti-CTLA4 pueden

aumentar poderosamente la actividad inmunoestimulante de varios OV. En el frente de la orientación, las especificidades de entrada de ciertas plataformas OV ahora se pueden controlar con precisión mediante la ingeniería de sus proteínas de unión de superficie para mostrar ligandos dirigidos a tumores, como los anticuerpos de cadena única. Los ovismos no deseados que son potencialmente dañinos para los tejidos normales también se pueden eliminar de manera eficiente mediante la ingeniería de secuencias diana de microARN en genomas OV (orientación de microARN). En cuanto a las terapias combinadas, la potencia ov se ha incrementado mediante la asociación racional con medicamentos que aumentan la propagación del virus intratumoral al suprimir las defensas inmunes. También es prometedor en combinaciones con medicamentos que aumentan el control inmunológico del tumor mediante la inhibición de los puntos de control inmunitarios, o con células T CAR que pueden transportar OV a tumores donde, a su vez, el OV entregado puede convertir el tumor en un objetivo CAR T más susceptible. Estas observaciones proporcionan un caso convincente de que para que los OV sean lo más efectivos en la clínica, tendrán que incorporarse a regímenes de combinación racionales.

Clínicamente, ha habido un progreso constante en el campo después de la aprobación original de la FDA de la terapia de talimogene laherparepvec (T-VEC) intratumoral basada en el virus del herpes simple (VHS) de Amgen para el melanoma avanzado en 2015. Un desarrollo reciente alentador es que tesseraturev, un HSV desarrollado por **Daiichi Sankyo**, que recibió la aprobación regulatoria provisional en Japón para la terapia intratumoral estereotáctica de pacientes con glioma inoperable. La aprobación se basó en un pequeño estudio no aleatorizado en el que 12 de 13 pacientes tratados con el virus oncolítico todavía estaban vivos en el hito de un año, un resultado sobresaliente teniendo en cuenta la supervivencia esperada de 7 meses para este grupo de pacientes con glioblastoma recurrente. Las nuevas construcciones de HSV de Replimune que codifican poderosos transgenes inmunoactivadores (IL-12 y un anticuerpo anti-CTLA4) están mostrando una promesa temprana incluso fuera del ámbito de los cánceres de piel, que siguen siendo los únicos cánceres aprobados para la terapia OV en los Estados Unidos. Sin embargo, en un revés reciente, el ensayo aleatorizado de melanoma de fase 3 de Amgen que comparó la monoterapia con pembrolizumab anti-PD1 versus T-VEC más pembrolizumab se detuvo temprano después de un análisis provisional de futilidad. Esto fue sorprendente, particularmente a la luz del gran estudio aleatorizado de fase 2 realizado previamente por Amgen que mostró una fuerte superioridad de TVEC más ipilimumab (anti-CTLA4) versus ipilimumab solo.

En comparación con el enfoque intratumoral, los ensayos clínicos de la terapia OV intravenosa se han retrasado, en parte debido a la necesidad de usar virus que los pacientes con cáncer no han encontrado previamente y se han vuelto inmunes, y que pueden fabricarse de manera eficiente para facilitar la terapia de dosis altas. Afortunadamente, el progreso ahora se está acelerando y los resultados de varios ensayos de terapia sistémica OV en curso se esperan con impaciencia. Un éxito reciente notable, informado en la reunión anual de la Sociedad Americana de Oncología Clínica en mayo de 2021, fue la demostración de respuestas duraderas claras en pacientes con neoplasias malignas hematológicas muy pretratadas en un ensayo clínico de fase 1 de una dosis intravenosa única de Voyager-V1 de Vyriad, un virus de estomatitis vesicular recombinante.

Se ha hecho evidente en las últimas décadas de investigación y pruebas clínicas que los OV tienen el potencial de ser mucho más que simplemente agentes

citólíticos y pueden afectar terapéuticamente muchas de las características del cáncer descritas por Hanahan y Weinberg. Más allá de su efecto directo sobre las células tumorales, puede ser que el verdadero poder de la OV sea su capacidad para involucrar el propio sistema inmunológico del paciente, lo que hace que reconozca y destruya las células cancerosas. Los grandes virus de ADN como los herpesvirus y los poxvirus ahora se están programando para expresar múltiples genes inmunomoduladores complementarios con el objetivo de remodelar el microambiente tumoral y revertir los entornos promalignos e inmunosupresores. A medida que estos OV se replican y se propagan dentro y entre los tumores, en el camino pueden, de manera específica, diseminar información genética en forma de proteínas, ARNm o microARN. Hay una dicotomía aquí en que los virus por sí solos codifican múltiples genes inmunosupresores innatos y adaptativos que son críticos para su capacidad de evitar al menos temporalmente el aclaramiento inmunológico. Se requiere un equilibrio de inmunosupresión codificada viralmente para facilitar la infección y propagación de OV y, al mismo tiempo, reclutar células inmunes terapéuticas para atacar y destruir las células cancerosas. Tal vez el uso de sistemas de expresión génica regulables dentro de los OV para desplegar tácticamente cargas útiles cuando y donde serán más efectivos será crítico para el uso óptimo de esta plataforma. Algunos sistemas promotores inducibles para el control de la expresión génica celular han entrado en ensayos clínicos y parece razonable esperar que puedan adaptarse para algunas plataformas OV.

Desde un punto de vista teórico, la viroterapia oncolítica es un enfoque convincente: el agente terapéutico se amplifica selectivamente dentro de las células malignas, conduce a la lisis de células tumorales y, al mismo tiempo, inicia la inmunidad antitumoral. Ahora hay que demostrar que este concepto se traduce en la práctica clínica en un beneficio tangible para los pacientes.

Russell, S.J., Bell, J.C., Engeland, C.E. et al. *Advances in oncolytic virotherapy*. *Commun Med* 2, 33 (2022).
<https://doi.org/10.1038/s43856-022-00098-4>.

05

VOCES



NUEVO ANÁLISIS E IDEAS PACIFICADORAS ENTRE RUSIA Y UCRANIA

SALVADOR HARGUINDEY

El confrontador y dualista nivel de concienciación actual ha llevado a una situación dolorosísima y caótica en Ucrania que tiene a toda la humanidad anonadada y amedrentada. Esta situación evidencia la necesidad de evolucionar ascendentemente a un tipo de conciencia capaz de acoger la totalidad del conflicto así como sus condicionantes (adualismo). En primer lugar, hay que concebir propuestas inéditas para la paz y el entendimiento entre las diferentes sensibilidades e identidades enfrentadas. Por esta razón, **Beck** y **Cowan** han dicho que toda lucha política se ha transformado, incluso desde su misma raíz, "en una confrontación entre estructuras, estados o estadios evolutivos de la conciencia humana". Asimismo, hace décadas que **Abraham Maslow** anunció que "desde la perspectiva de la conciencia transpersonal se puede proponer un programa de política integral en media hora". Lo que concuerda plenamente con el conocido dicho de **Einstein** de que "ningún problema se resuelve al mismo nivel de conciencia que lo originó". Últimamente, **Ken Wilber**, al considerar los fundamentalismos e integristas más en boga, concluye afirmando que "nadie a un nivel de concienciación elevado (espiritual y centrado en la humanidad, o mundocéntrico) lanzaría alegremente la bomba atómica, pero alguien a un nivel colectivista, egocéntrico y preconventional bombardearía con felicidad hasta mandar al infierno a cualquiera que se interpusiera en su camino".

El primer intento de mediación pacificadora a un elevado nivel de concienciación llevaría a pensar en la iglesia ortodoxa, la cual, desde un punto de vista (idealmente) suprapolítico y supraconflictivo, y desde una perspectiva teórica de unidad cristiana, podría y debería mediar entre Ucrania y Rusia. Pero esto no parece ser posible en este caso, ya que la iglesia ortodoxa rusa, liderada por el patriarca Kirill, se halla enfrentada a la iglesia ortodoxa ucraniana desde que esta se separó de la primera. Hasta el punto de que el "supuestamente cristiano" **Kirill** haya dicho que la invasión de Ucrania está justificada, que **Putin** es un "regalo de Dios" y que a la invasión de Ucrania se oponen "las fuerzas del mal".

Se echa mucho de menos a **Juan Pablo II**, a **Dostoyevski** y a **Tolstoi**. Con ellos aquí y ahora esta guerra prenuclear no hubiera tenido lugar. El papa actual se limita a palabras inútiles. Blando, primitivo e inimaginativo, no es siquiera capaz de alentar un "sínodo" al más alto nivel inter y polireligioso entre los líderes de todas las principales religiones que predominan en Rusia y Ucrania hoy en día. Es decir, una reunión que cuente al menos con altos representantes de las dos iglesias ortodoxas, además del **Dalai Lama**, y al menos un imán musulmán, un rabino judío y él mismo. Todo en un intento de buscar "una síntesis superior de opuestos", siguiendo la terminología pacifista de **Carl Jung**.

La siguiente perspectiva, más heterodoxa, la cultural-espiritual, ha sido recientemente considerada en algún círculo intelectual avanzado como una desesperada búsqueda de nexos de unión y goznes de crecimiento para la totalidad del Árbol de la Vida

humana ruso-ucraniana o ucraniano-rusa.

¡Para empezar, y para colmo, **Putin** ha declarado que Occidente trata de destruir la cultura rusa. Os están engañando, y muchos lo sabéis. Lo que os une a vuestros hermanos ucranianos es el alma de **Dostoyevski**, que predijo con décadas de antelación la revolución bolchevique de 1917 en su novela "Los demonios", los que ahora, recalcitrantemente, han resucitado en la persona de **Stavroguin-Putin**, cuyo novelesco y sadomasoquista hermano gemelo del dictador ruso declara «que ni conozco ni siento el bien y el mal, y que no sólo he perdido todo sentido de él, sino que no hay bien ni mal... y que es solo un prejuicio». La verdadera esencia del alma rusa es la de la santa bondad del príncipe **Mishkin**, de Aliosha Karamazov y del texto dostoyevskiano: "Mediaciones sobre Cristo", así como cuando el gran escritor nos dice: "Si alguien me mostrara que Jesucristo no está en la verdad, elegiría seguir a Jesucristo que a la verdad". Algo que el mismo **Tolstoi**, que se declaró amante del espíritu colectivo del pueblo ruso, refrendaría sin dudarlo.

¡Si **Dostoyevski** profetizó con décadas de antelación el aterrizaje de los endemoniados bolcheviques en la sagrada tierra rusa en su novela "Los demonios", no menos profeta, ni de menor talento, es el autor de esa gran obra de la literatura ruso-ucraniana, **Mijail Bulgákov**, autor soviético nacido en Kiev, titulada: "El maestro y Margarita". Su extraordinaria novela es considerada como una de las más importantes del siglo XX. En ella, que representa un texto hermanado con el "Fausto" de Goethe y su Mefistófeles, Bulgákov también profetiza con muchas décadas de antelación la llegada de diabólicos gobernantes. Su temática trata de la visita a la Unión Soviética del Diablo, este disfrazado como un ser humano y con unos poderes casi infinitos, de nombre "Woland" en la novela. Es una desalmada bestia apocalíptica y Anticristo de última generación. Al final, sólo el humilde amor de Margarita (¿una María Magdalena?) por el maestro (¿un alter ego de Jesucristo?) triunfa sobre el mal, no sin que antes ese deshumanizado Diablo abandone el Moscú volando, mientras sus cúpulas y ventanas arden en el crepúsculo del Domingo de Pascua.

¡Una gran hibridación del espíritu humano nos espera en un pedregoso, pero ya imparabile, sendero hacia una nueva era de paz y confraternización. Finalmente, a ver si los políticos y militares rusos, norteamericanos, chinos, aprenden de una vez por todas lo siguiente. La vida es Una. El mundo es Uno. La humanidad es Una. Y el amor es Uno.

HORACIO ABUNDIO MELIÈS

MIGUEL NIETO

Se cuenta que Abundio perdió la cabeza cuando intentaba traducir el “y también un par de huevos duros” de la escena del camarote. Aunque igual su desvarío empezó antes, cuando decidió vengarse del cine sonoro no ya porque le hubieran apartado del oficio de su vida, de su vida toda, sino porque hasta **Chaplin** había claudicado. El vagabundo se vendió por unas candilejas y un canto de amapola en ‘Luces en la ciudad’. Un poema en blanco y negro donde, cierto es que no se hablaba, pero había música. Cine sonoro a la postre.

Explica, Intérprete, Recaredo, Truchimán; llámenlo como quieran, que todas esas maneras son válidas. Piniculero le gustaba más, pero en los carteles puso enorme: ‘El Gran Horacio Meliès: Comentarista de Sueños’. Poético, como el oficio. Ahora que no lo necesitaban, desahuciado por el futuro que no cesa con la irrupción del negro ese que ni era negro y que tampoco cantaba jazz, quería convertir la ‘Sopa de Ganso’ de los hermanos Marx –otros traidores– en un páramo auditivo. Sólo mímica, a la que, como había sido desde que Dios y los Lumiere existían, él pondría magia. La de antes, la del cine de pantomimas. Pero no pudo ser. Agonizó ante un reto tan formidable como la estampa de **Gary Cooper**, que forjaba su solitaria leyenda y, al paso, se hacía hueco para estar en los cielos.

Horacio se había pasado media vida poniéndole voz, facundia, muecas, ruidos y chascarrillos a las películas, rústicas, que aparecieron poco antes de nacer, con el siglo, en Fregenal del Valle. Pobre de solemnidad en aquella España desquiciada que siguió al desastre de Cuba, Abundio –como le bautizaron– era un hijo del pesimismo, la piedra filosofal en la que se asentó el reinado de aquel otro niño, Alfonso XIII, que dijeron estaba llamado a hacer grandes cosas. Grandes cosas, ya ven qué cosas. Por más que sus padres le juraran que Abundio venía de abundancia, el interfecto no salía de los “eres más tonto, o eres más feo que”... mismamente él mismo: Abundio. Estas burlas –según sus amigos– ya le dieron un punto paranoico.

Su vida en el campo fue tan insulsa que ni recuerdos guardó. Padre, con las alpargatas de barro; madre, entre picones y tendedores; las bestias, cagando estiércol como bestias, y los tábanos, los del “no eres más tonto que...”, sorbiendo mocos. Como él. Poco más. La escuela, un corral con pizarra desconchada, palmetazos y pedradas en el recreo. La casa, árida como el esparto, como la sequía que pronto llamaron pertinaz, término que hizo tanta fortuna como famélicos el hambre. Y el pueblo, una joya arquitectónica estilo adobe remordimiento. Huyeron de la gusa a la capital, un mundo inhóspito sin cáncamos donde colgar morcillas ni artesas donde salar tocino; un universo menguado que olía a desagüe, a cieno de calle y a petróleo quemado. Abundio perdió a su madre cuando se le cayeron los primeros dientes y a su padre, de seguida, con las caries. Mala cosa su padre, que empezó a patear a la cabra que no daba la leche que no bebían y al que le dio por amancebar aguardiente. Seco. Como la pertinaz. Sí, en la ciudad también.

No recuerda el año de aquella feria, sí que fue por cuando calculaban las cabañuelas, quizá 1915. Malas cosechas y más hambre, anunciaron. Guerra ya tenían aunque en El Real los tiros los daban con escopetas de plomillo trucado. Los hombres marraban dianas mientras que a sus señoras les leían la manopla y les vendían claveles de retal. Oía dulce a algodón rosa y en el circo, con genuinos trapezistas rusos amamantados en la huerta murciana, rugían tigres de Bengala con rayas de alquitrán a los que hartaba de mollate el domador, que era también jefe de pista, dueño y, como manda la tradición, beneficiario en sus ratos libres de la trapezista. El payaso Marcelino, la estrella nacional, de otra galaxia, se fue a hacer las Américas. Nunca más se supo. América era un agujero negro por catalogar.

El circo no era el Price ni 'La barraca de los Franceses' un cine parisino, pero se dejaban querer. Abundio conoció a Horacio, el genuino, una tarde de domingo - allá cuando los alemanes empezaron a usar gas venenoso en la Gran Guerra- a las puertas de su 'Pabellón de los Sueños'. El hombre con panza de gaita, mostacho, levita y chistera invitaba al espectáculo "mucho más grande que el mundo mundial del circo -voceaba-, lo nunca visto, pasen y vean, imágenes insólitas en movimiento, sucedidos del mundo ignoto, carcajadas sin pausa aseguradas, aventuras de héroes, dragones y bellas damiselas, mundos desconocidos por venir, cruzadas sin cuento... Pasen y vean damas y caballeros, señoras y señores, jóvenes y mocitas, el invento del que todos hablan: el cinematógrafo. Los niños en carrito, gratis". Todo de corrido, casi sin respirar de la gaita.

Aquello funcionó. El circo levantó la carpa pero la barraca de sueños, tal fue el éxito, echó raíces rebautizada como 'Pabellón Edison', el de las patentes como churros. "Más técnico-festivo", señaló Horacio El Viejo, un Plinio que lo bordaba como chambelán de fantasías. También de pesadillas, que el terror movía tanto montañas como taquilla. A Abundio no le dejaban entrar. Por crío y porque no tenía ni una perragorda. Le costó traspasar el foso hacia aquello que fuera, que estaba muy seguro que era "algo muy importante, formidable y preciso de ver", según los lugareños. Y se lo estaba perdiendo. Al otro lado del castillo de lona se escuchaban risas, alaridos y aplausos, como en los toros. Al final le salvó la vieja bruja que buscó acomodo, para vender más, en el zaguán de la entrada. Abundio aprovechó que la gitana de los 'pajaritos de la suerte' tuvo urgencia de retrete para colarse. Por entre la toquilla negra entrevió como un faro, una linterna poderosa, que sonaba a máquina de coser, y que tras el biombo vomitaba cosas a ritmo de martinete.

Cosas mágicas. El haz de luz se abría paso con dificultad entre humo de miasmas para estamparse en una sábana donde las fotografías cobraban vida: Obreros saliendo como hormigas con mucha prisa de una fábrica, una locomotora que se echaba encima del gentío de cuerpo presente sin lamentar desgracias personales, locos policías que corrían como si los ladrones les persiguieran a ellos, un vagabundo escuchimizado, un tieso tocado con bombín, zapatones y una pata de libélula por bastón...

El impacto fue tal que Abundio se aferró a un poste y no había forma inhumana de echarlo. Nunca más quiso apearse del paraíso y se las ingeniaba para colarse. Todas las sesiones. Horacio, el del mostacho, no sabía qué hacer. Al final, se encariñó de aquel niño que día sí, semana también, se le plantaba delante de sus narices para ver el cinematógrafo. Lo que dieran. Sin distinguos. Tanto le encandiló el invento, la linterna mágica, el cinematógrafo, que Abundio quiso aprender sus secretos. Horacio, además sin hijos, claudicó. Empezó haciendo recados, cargando con las bobinas, que pesaban como lingotes de plata, y barriendo con escobas de mijo el salón, que era terrizo. Ni este chusco escarnio doblegó su determinación de dedicarse al que ya

llamaban 'Septimo arte?', séptimo sólo -rezongaban- por aparecer tarde.

Horacio vivió lo justo para enseñar el oficio al aprendiz que le imitaba maneras, planta y mostacho para deleite de las mozas en edad de merecer, que regalaba con entradas en justa correspondencia a sus atenciones, fogosas como el calor que despedía el engranaje del ciclope. El viejo tuvo una década, tan dichosa como prodigiosa, para cederle el testigo -gripe española mediante- a Abundio cuando el niño rey destinado a hacer cosas, el del número de la mala suerte, hizo el Primo. Abundio heredó el cine que fue barraca y, por deseo expreso de su mentor, el nombre: Horacio, al que añadió Meliès, un apellido franchute acorde con los inventores de la cosa. Sin darse cuenta había pasado de las pompas de jabón a chafardear los 8.000 metros de película, ocho episodios, de 'Misterios de Barcelona'. Corría 1923.

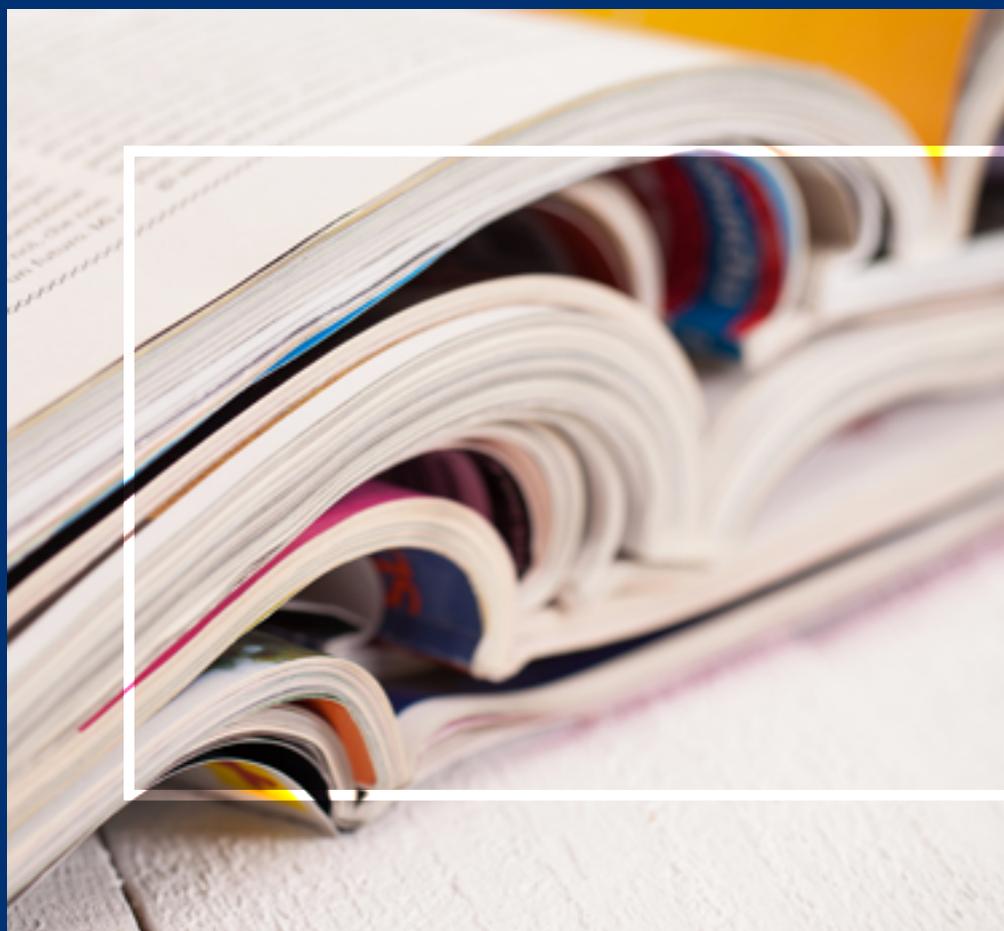
Había que ponerle chicha a todo lo que pasaba en la pantalla y en el patio de butacas, con sillas de tijera ancladas al suelo dada su tendencia a emigrar a las chabolas. Horacio Meliès se sabía dueño del mundo cuando apagaban los quinqués y en la sala mandaba la oscuridad, que no el silencio. Para callar a la gente engallaba su figura -portento en verdad digno de iluminarse- subido a una peana de guardia de tráfico (los del circo, nunca le vendieron una de amaestrar elefantes) y, como un Moisés, sin tablas pero con muchos mandamientos, aullaba: "¡Se callen!, ¡llega el espectáculo de las pantomimas luminosas!"; "Ni respiren ni acaso parpadee la distinguida concurrencia, afecto público, porque se perderán momentos fantásticos, inverosímiles, inveterados y hasta insólitos de pura insolidez"; "Recuerden que está prohibido traer fiambreras con comida de la casa, escupir, aunque sea hacia abajo, soltar blasfemias y mear en los rincones"; Absténganse de chicles la gente de mal mascar. Todas las conductas desviadas serán sancionadas ipso facto con la expulsión de la sala", remataba. Mandaba proyectar con un redoble de bongos, su sello personal.

El cine era tanto realidad en movimiento como artificio. Nada como una película atesora el inmenso poder de hipotecar el tiempo. Tenía truco y necesitaba trucos, no sólo en la pantalla sino sobre todo fuera. Algunos los heredó de su mentor, el otro Horacio que como Explica no sólo leía los intertítulos para los analfabetos, sino que comentaba y sonorizaba la proyección. Imitaba los ladridos de perro con bocinas y los cascos de los caballos con cáscaras de coco. Brasileños, que sonaban mejor. Una cornetín con sordina -"gua, guaaa, guua, guuuaaa"- remarcaba los chascos en escena y la sirena de carro de bomberos los aullidos. Todos, aunque el que hizo fortuna fue el de Stan, El Flaco, que cuando llegó el sonoro lo copió sin ni tan siquiera dar las gracias.

Sumó amaños y cualquier artilugio servía para engrandecer el espectáculo. Horacio Meliès era feliz como nunca Abundio pudo imaginar. Ordenaba a su antojo el ritmo de la acción frenando la manivela del proyector y manejaba su puntero con la agilidad de Charlot su bastón de junco. El cinematógrafo, quizá desde que nació kinetoscopio, un juguete para niños relamidos, destilaba misterio. La misión del Explica consistía en aportarle más. Había que desplegar más allá los ensueños de esa sábana donde habitaba el infinito. El cine rompía muros. Paladeaba otros mundos.

06

**PUBLICACIONES
CIENTÍFICAS**



Cacabelos R. What have we learnt from past failures in Alzheimer's disease drug discovery?, *Expert Opinion on Drug Discovery*, DOI:10.1080/17460441.2022.2033724 (2022).
<https://doi.org/10.1080/17460441.2022.2033724>.

Cacabelos R, Carrera I, Martínez-Iglesias O, Cacabelos N, Naidoo V. What is the gold standard model for Alzheimer's disease drug discovery and development? *Expert Opin Drug Discov.* 2021 Dec;16(12):1415-1440. doi: 10.1080/17460441.2021.1960502. Epub 2021 Aug 25. PMID: 34330186.

Cacabelos R, Carrera I, Martínez O, Naidoo V, Cacabelos N, Aliev G, Carril JC. Influence of dopamine, noradrenaline, and serotonin transporters on the pharmacogenetics of Atremorine in Parkinson's disease. *Drug Dev Res.* 2021 Aug;82(5):695-706. doi: 10.1002/ddr.21784. Epub 2021 Jan 17. PMID: 33458869.

Cacabelos R, Carrera I, Martínez O, Alejo R, Fernández-Novoa L, Cacabelos P, Corzo L, Rodríguez S, Alcaraz M, Nebriil L, Tellado I, Cacabelos N, Pego R, Naidoo V, Carril JC. Atremorine in Parkinson's disease: From dopaminergic neuroprotection to pharmacogenomics. *Med Res Rev.* 2021 Sep;41(5):2841-2886. doi: 10.1002/med.21838. Epub 2021 Jun 9. PMID: 34106485.

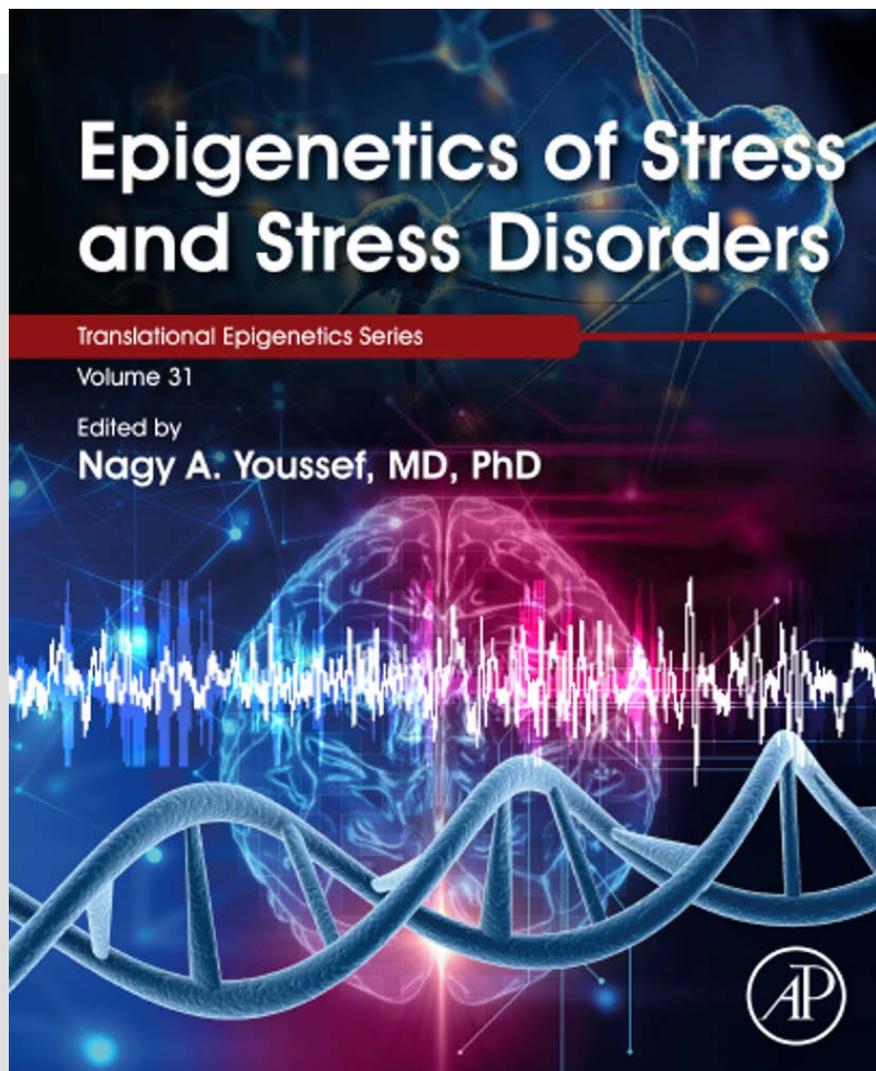
Cacabelos R, Naidoo V, Corzo L, Cacabelos N, Carril JC. Genophenotypic Factors and Pharmacogenomics in Adverse Drug Reactions. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 10;22(24):13302. doi: 10.3390/ijms222413302. PMID: 34948113; PMCID: PMC8704264.

Cacabelos R, Naidoo V, Martínez-Iglesias O, Corzo L, Cacabelos N, Pego R, Carril JC. Personalized Management and Treatment of Alzheimer's disease. *Life* 2022; 12, 460. <https://doi.org/10.3390/life120030460>.

Martínez-Iglesias O, Naidoo V, Cacabelos N, Cacabelos R. Epigenetic Biomarkers as Diagnostic Tools for Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 21;23(1):13. doi: 10.3390/ijms23010013. PMID: 35008438; PMCID: PMC8745005.

Martínez-Iglesias O, Carrera I, Naidoo V, Cacabelos R. AntiGan: An Epinutraceutical Bioproduct with Antitumor Properties in Cultured Cell Lines. *Life (Basel).* 2022 Jan 10;12(1):97. doi: 10.3390/life12010097. PMID: 35054489; PMCID: PMC8780983.

Martínez-Iglesias O, Naidoo V, Carrera I, Cacabelos R. Epigenetic Studies in the Male APP/BIN1/COP5 Triple-Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 2446. <https://doi.org/10.3390/ijms23052446>.



Naidoo V, Martínez-Iglesias O, Cacabelos R. Targeting epigenetics as future treatments of trauma and stress-or-related disorders. Epidrugs and epinutraceuticals. En: Epigenetics of Stress and Stress Disorders.

Youssef NA (Ed). Chapter 20. Academic Press/Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823039-8.00012-5> (2022).

The advertisement has a light green background. On the left, there is a logo for 'life' with a stylized green figure. Below it, the text reads 'an Open Access Journal by MDPI'. In the top right corner, there are two circular icons: one yellow with 'IMPACT FACTOR 3.817' and one white with 'Covered in PubMed'. The main title 'New Trends in Pharmaceutical Science' is centered. Below that, the 'Guest Editor' is listed as 'Prof. Dr. Ramón Cacabelos'. The 'Deadline' is '26 August 2022'. At the bottom, the words 'Special Issue' are written in a large, bold, green font, with 'Invitation to submit' in smaller text below it. The MDPI website URL 'mdpi.com/si/61139' is at the bottom left.



International Journal of
Molecular Sciences

an Open Access Journal by MDPI

IMPACT
FACTOR
5.924



Genomics of Brain Disorders 4.0

Guest Editor

Prof. Dr. Ramón Cacabelos

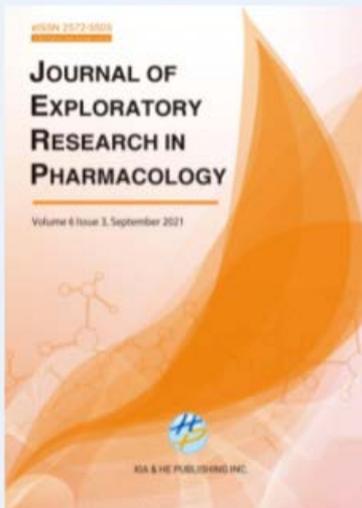
Deadline

15 December 2022

Special Issue

mdpi.com/si/117935

Invitation to submit



eISSN: 2572-5505

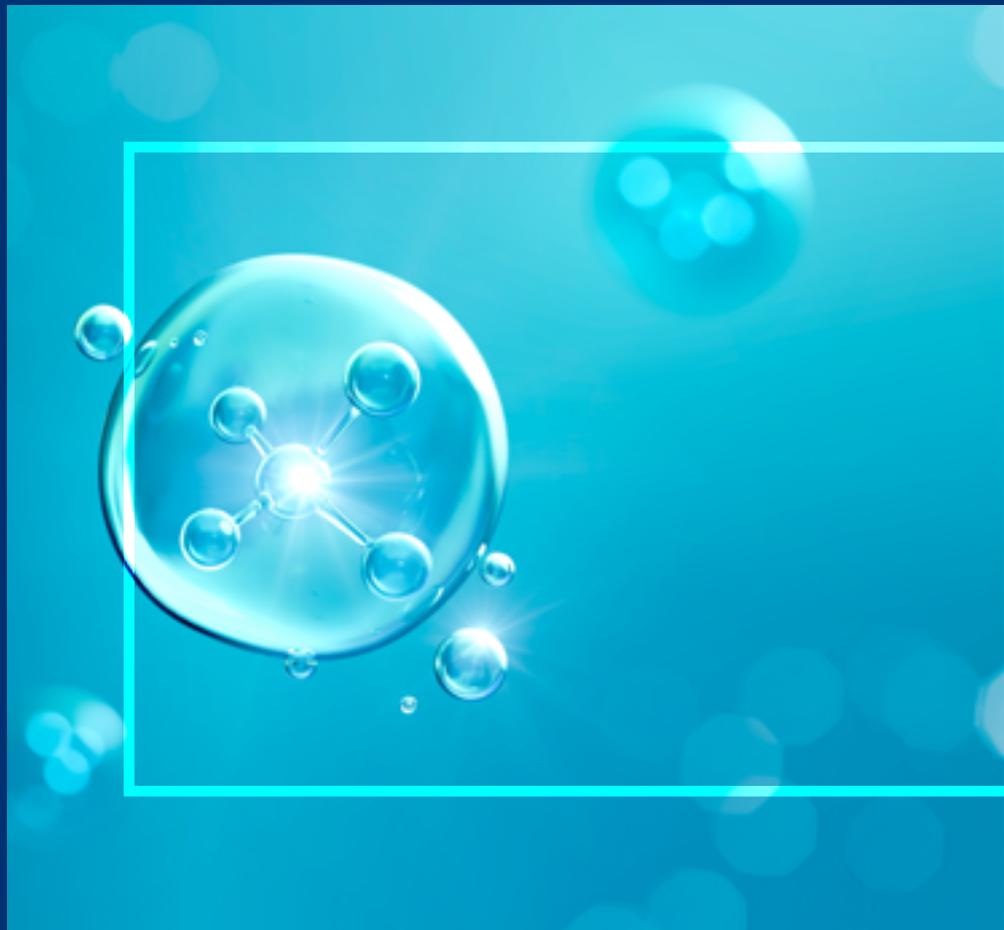
Editors-in-Chief :

Prof. Ramón Cacabelos
International Center of Neuroscience and Genomic
Medicine, EuroEspes Biomedical Research Center
Corunna, Spain

Prof. Ben J. Gu
The Florey Institute of Neuroscience & Mental Health
Parkville, Australia

07

**SECCIÓN
PROMOCIONAL**



BOLETÍN MÉDICO EUROESPES HEALTH 2021

ENERO - N°08

FEBRERO - N°09

MARZO - N°10

ABRIL - N°11

MAYO - N°12

JUNIO - N°13

JULIO - N°14

AGOSTO - N°15

SEPTIEMBRE - N°16

OCTUBRE - N°17

NOVIEMBRE - N°18

DICIEMBRE - N°19



MYLOGY

MYLOGY



**Centro Internacional de Neurociencias
y Medicina Genómica**

📞 (+34) 981 780 505

**International Center of Neuroscience
and Genomic Medicine**

📞 (+34) 981 780 511



www.euroespes.com
info@euroespes.com

SU IDENTIDAD
FARMACOGENÉTICA EN UNA
PLATAFORMA DIGITAL
INTELIGENTE.



MYLOGY



Centro Internacional
de Neurociencias
y Medicina Genómica

PERFIL FARMACOGENÓMICO



El 25-30% de los pacientes no responden adecuadamente a la dosis recomendada de fármaco. El Perfil Farmacogenómico identifica a esos respondedores anómalos y establece recomendaciones de ajuste de dosis para evitar efectos no deseados.



SANGRE O SALIVA

A partir de una muestra de sangre o saliva obtenemos un perfil personalizado que determina qué fármacos podemos tomar, cuáles evitar y en qué dosis son más eficaces para cada individuo.



ANÁLISIS GENÉTICO

PERFIL FARMACOGENÓMICO

El Perfil Farmacogenómico de EuroEspes analiza 60 farmacogenes que explican la respuesta a más de 1.200 fármacos, incluyendo todos los de uso común más frecuente.



RECIÉN NACIDO

Evitar el riesgo de reacciones adversas desde el primer minuto de vida



PARA TODA LA VIDA

Un único análisis para una enorme cantidad de tratamientos



VEJEZ

Gestión más efectiva de pacientes polimedicados

El Perfil Farmacogenómico detecta qué fármacos debe evitar para no sufrir reacciones tóxicas o efectos adversos y para los cuales su médico debe realizar un ajuste de dosis personalizado.

SISTEMA NERVIOSO



- Antidepresivos
- Antipsicóticos
- Ansiolíticos, hipnóticos y sedantes
- Antiparkinsonianos
- Antidemencia
- Psicoestimulantes
- Antiepilépticos

CARDIOLOGÍA



- Antihipertensivos
- Antiarrítmicos
- Antitrombóticos
- Inhibidores bomba de protones
- Betabloqueantes
- Bloqueantes canal de calcio
- Sistema renina - angiotensina
- Modificadores de lípidos

TRAUMATOLOGÍA



- Analgésicos
- Anestésicos
- Anti-inflamatorios
- Corticosteroides

ONCOLOGÍA



- Antineoplásicos

ENF. INFECCIOSAS



- Antibióticos
- Anti-infecciosos

OTRAS ESPECIALIDADES



- Antihistamínicos
- Antidiabéticos
- Diuréticos
- Antiglaucoma



PgenP

Perfil Genómico Personal

Genómica y Farmacogenómica



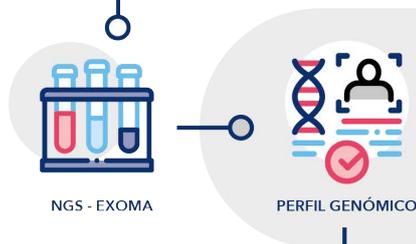
Centro Internacional
de Neurociencias
y Medicina Genómica

PERFIL GENÓMICO PERSONAL (PgenP)



SANGRE O SALIVA

Las variantes de nuestro genoma explican nuestro riesgo a desarrollar enfermedades y las diferencias en la capacidad de respuesta al tratamiento.



- 

1. Variantes de riesgo personal

Se muestran genes patogénicos con mutaciones responsables de enfermedades (pasadas, presentes o futuras) en la persona portadora. Esta información genómica es vital para la confirmación diagnóstica de enfermedades que haya sufrido o pueda estar sufriendo la persona portadora, así como enfermedades que con altísima probabilidad pueda sufrir a lo largo de su vida.
- 

2. Variantes de riesgo familiar

Se muestran genes defectuosos, que no tienen por qué causar enfermedad en la persona portadora, pero que pueden ser heredados por sus hijos. Si los hijos portadores de esos genes se unen a otra persona con idéntico defecto genético, el 25% de sus descendientes puede sufrir una enfermedad, de las conocidas como de herencia recesiva.
- 

3. Variantes de riesgo indefinido

Incluye un conjunto de más de 500 genes cuya función es desconocida hoy día, pero que están presentes en más del 50% de la población. PgenP ofrece al usuario la lista completa de estos genes, presentes en el genoma de cada persona, para que cada cual disponga de forma permanente de esa información de posible valor a lo largo de su vida y que, sin duda, irá adquiriendo relevancia a medida que avance la ciencia y el conocimiento de la genómica estructural y funcional.

PRODUCTOS NUTRACÉUTICOS DE EBIOTEC



LÍNEA MARINA



Potenciador del sistema inmune. Inmunomodulador.



Energizante. Prometabólico. Inmunopotenciador.



Antiosteoporosis. Déficit de vitamina D.



Hipolipemiante. Anti-arterioesclerótico. Anti-oxidante.



Regulador del crecimiento celular.



LÍNEA HÍBRIDA



Para el funcionamiento normal del sistema nervioso y para un rendimiento intelectual normal.



Antianémico. Energizante. Prometabólico.



Potencia y satisfacción.



Hepatoprotector.



LÍNEA VEGETAL



Con Vitamina E natural que protege a las células frente al daño oxidativo.

Neuroprotector. Pro-dopaminérgico. Anti-parkinsoniano.

Ebiotec



BOLETÍN MÉDICO EUROESPES HEALTH

Editor : Dr. Ramón Cacabelos

Secretaría de Redacción : Natalia Cacabelos

Secretaría Técnica : Dr. Vinogran Naidoo, Dr. Juan C. Carril

Fotocomposición y Diseño : Chalana

Sta. Marta de Babío s/n, 15165-Bergondo,
Coruña, España

T : (+34) 981-780505

W : www.euroespes.com

E : comunicacion@euroespes.com

protocoloasistencial@euroespes.com



Centro Internacional
de Neurociencias
y Medicina Genómica