

# Biomarcadores en la esclerosis múltiple: estado actual

E. CANTÓ, M. COMABELLA

Unitat de Neuroimmunologia Clínica (UNiC). Centre d'Esclerosi Múltiple de Catalunya (CEM-Cat). Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR). Hospital Universitari Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

**RESUMEN.** Existe una necesidad de encontrar biomarcadores que capturen los diferentes aspectos de la complejidad y heterogeneidad características de la esclerosis múltiple y permitan ayudar en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Aunque en los últimos años se han realizado un gran número de estudios con el objetivo de identificar nuevos biomarcadores, son muy pocos los que han llegado a la práctica clínica, debido principalmente a su falta de validación. En este trabajo se pretende hacer una revisión de los biomarcadores más relevantes identificados hasta la fecha.

**Palabras clave:** biomarcador, esclerosis múltiple.

**ABSTRACT.** In multiple sclerosis (MS), there is a strong need for biomarkers that capture the different aspects of disease complexity and heterogeneity, and aid in the diagnosis and prognosis of MS. Despite the large number of exploratory biomarkers that have been proposed in MS, very few of them reached the condition of clinically useful biomarkers, mainly due to a lack of validation of exploratory biomarkers. In the present review, we summarize the most relevant biomarkers identified to date.

**Key words:** biomarker, multiple sclerosis.

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica inflamatoria del sistema nervioso central (SNC) de etiología desconocida y que produce una discapacidad neurológica importante en adultos jóvenes. Hasta el momento no existe una única característica clínica o test diagnóstico que sirva para predecir el subtipo y/o progresión de la enfermedad. Además, la EM se caracteriza por un alto grado de heterogeneidad, aspecto que dificulta aún más el diagnóstico, pronóstico o predicción de la respuesta al tratamiento. Por esta razón es importante la identificación de biomarcadores en la EM. Un biomarcador es una variable que puede medirse de forma objetiva, indicadora de un proceso biológico normal, de progresión de una enfermedad o de los efectos de una intervención terapéutica.

El objetivo final de la identificación de biomarcadores en la EM es poder disponer de herramientas para predecir quién está en riesgo de desarrollar la enfermedad (biomarcadores predictivos), poder diagnosticar la EM de una forma más temprana (biomarcadores diagnósticos), predecir el curso de la enfermedad una vez diagnosticada (biomarcadores pronósticos), determinar el mecanismo molecular que opera en la enfermedad (biomarcadores específicos de proceso), así como poder predecir la respuesta a los diferentes tratamientos (biomarcadores de respuesta al tratamiento).

En esta revisión se citarán algunos ejemplos de

los biomarcadores potenciales más relevantes que se han descubierto hasta la fecha. A pesar de la importancia de los biomarcadores de imagen en esta enfermedad, como la resonancia magnética (RM) y la tomografía de coherencia óptica, nos centraremos en los biomarcadores moleculares, que quedan resumidos en la Tabla I.

## □ Biomarcadores predictivos

Aunque no se conoce la causa de la enfermedad, se sabe que existe un componente genético importante en su desarrollo. Esta susceptibilidad genética es poligénica y multifactorial<sup>1</sup>. Hasta la fecha, el factor genético con más peso que determina el riesgo de EM es el HLA-DRB1\*15, mientras que el HLA-A\*2 tiene un efecto protector. En un estudio reciente de asociación del genoma completo se ha confirmado que el HLA-DRB1\*15:01 es el principal gen que confiere una mayor susceptibilidad para la EM<sup>2</sup>, y en este mismo estudio se identificaron 29 nuevos *loci* asociados con la EM y se confirmaron más de 20 genes asociados previamente con la enfermedad. Entre estos genes se encuentran el IL2RA, TNFRSF1A, IRF8, CD58, EVI5, IL7RA, CD6 y CLEC16A<sup>3-9</sup>. En cuanto a CLEC16A, se han descrito, además, diferentes polimorfismos asociados con la EM, por lo que parece que este gen podría tener un papel importante en la patogenia de la enfermedad<sup>10</sup>.

Tabla I Resumen de los biomarcadores en función de su utilidad clínica		
Tipo	Biomarcador potencial	Correlación con la EM
<b>Biomarcadores predictivos</b>	HLA-DRB1*1501, CLEC16A, IL2RA, IL7RA, TNFRSF1A, IRF8, CD58, EVI5, CD6 HLA-A2	Incremento del riesgo de EM Protección frente a EM
<b>Biomarcadores diagnósticos</b>	BOC IgG Anticuerpo anti-AQP-4	Criterio diagnóstico Marcador específico de NMO
<b>Biomarcadores pronósticos</b>	BOC IgM anti mielina Chitinase 3-like 1 Fetuina-A	Peor pronóstico EM más agresiva ↓ tiempo de conversión, progresión Conversión (controvertido)
<b>Biomarcadores específicos de proceso:</b>		
- De activación del sistema inmune	↑ IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, osteopontina, CXCL10, CXCL12, CXCL13 ↓ IL-4, IL-10, CCL12, CCL5 ↑ MMP-9 ICAM1 Cystatin C	EM Correlación con actividad clínica EM, peor pronóstico
- De desmielinización	MBP Anticuerpos contra la mielina	EM Correlación con lesiones en RM
- De remielinización	↑ CNTF, NT-3, NT-4, BDNF, GDNF, NGF	Mejor recuperación después de un brote
- De daño axonal	NFL 14-3-3 Tau NAA	EM, peor pronóstico ↓ Tiempo de conversión, progresión EM ↑ Actividad clínica
- De estrés oxidativo	↑ NO ↑ actividad NOS ↑ SOD, MDA, GSH ↓ GPx, GST	EM EM, brote EM
- De activación de la glía	GFAP, S100b	EM, peor pronóstico

BOC: bandas oligoclonales; AQP-4: aquaporina-4; MMP: metaloproteinasas; ICAM: molécula de adhesión intracelular; MBP: proteína básica de la mielina; CNTF: factor neurotrófico ciliar; NT: neurotrofina; BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro; GDNF: factor neurotrófico derivado de células gliales; NGF: factor de crecimiento neural; NF: neurofilamentos; NAA: N-acetilaspártato; NO: óxido nítrico; NOS: óxido nítrico sintasa; SOD: superóxido dismutasa; MDA: malondialdehído; GSH: glutatión reducido; GPx: glutatión peroxidasa; GST: glutatión S transferasa; GFAP: proteína ácida fibrilar glial.

Por otro lado, desde hace años se conoce que en los pacientes con EM existe una mayor producción de anticuerpos contra el virus de Epstein Barr, en particular contra una de las proteínas de la cápsida del virus, el EBNA-1<sup>11</sup>. Recientemente se ha descrito que tanto la presencia del HLA-DRB1\*15 como la ausencia del HLA-A\*2 están asociadas a un mayor título de anticuerpos contra EBNA-1 (especialmente contra el dominio que comprende los aminoácidos 385-420) y la coexistencia de estos tres factores de riesgo (presencia de HLA-DRB1\*15, ausencia de HLA-A\*2 y título elevado de anticuerpos frente a EBNA-1 (385-420)) incrementan hasta 16 veces el riesgo de desarrollar la enfermedad<sup>12</sup>.

### ❑ Marcadores diagnósticos

Un diagnóstico preciso y temprano de la EM es de vital importancia, puesto que permitiría un inicio más temprano del tratamiento, reduciendo de esta forma la actividad de la enfermedad y mejorando el pronóstico del paciente<sup>13</sup>.

El diagnóstico de EM requiere de criterios clínicos, radiológicos y de laboratorio. En cuanto a las determinaciones de laboratorio, en la práctica clínica se utiliza la determinación de bandas oligoclonales (BOC) de inmunoglobulinas (Ig) G en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los pacientes con un síndrome clínico aislado (CIS) como herramienta para el diagnóstico de la EM.

En el año 2004 se identificó un auto-anticuerpo específico de enfermedad en el suero de pacientes con neuromielitis óptica (NMO)<sup>14</sup>. Posteriormente se describió que la diana de este auto-anticuerpo correspondía a un canal de agua, la aquaporina-4 (AQP-4). La presencia de este auto-anticuerpo se utiliza actualmente como herramienta complementaria para el diagnóstico diferencial de la NMO, a fin de separar esta entidad clínica de la EM clásica<sup>15</sup>.

### □ Biomarcadores pronósticos

Varios estudios han perseguido como principal objetivo la identificación de biomarcadores pronósticos en pacientes con CIS, con resultados controvertidos, debido a que no existe un protocolo estandarizado de los ensayos de proteómica, ni una selección protocolizada de los grupos de pacientes, de forma que los resultados obtenidos son difícilmente reproducibles<sup>16-20</sup>. Para intentar solucionar este problema, se han realizado estudios de consenso sobre conceptos generales de biomarcadores, así como intentos de establecer protocolos estandarizados para la recogida y conservación de las muestras en estudios de biomarcadores<sup>21-25</sup>.

Uno de los biomarcadores pronósticos más destacados y el único utilizado actualmente en la práctica clínica es la presencia de BOC en pacientes con CIS, donde se ha observado que la presencia de BOC en el LCR de estos pacientes incrementa el riesgo de padecer un segundo episodio de forma independiente a la RM inicial<sup>26</sup>. Existen estudios con resultados controvertidos respecto a la presencia de anticuerpos en suero contra MBP y MOG en pacientes con CIS y la relación con la conversión de éstos a esclerosis múltiple clínicamente definida (EMCD)<sup>27-30</sup>. Por otro lado, se ha descrito que la presencia de BOC de tipo IgM contra lípidos de la mielina está asociado con una EM remitente-recurrente (EMRR) más agresiva<sup>31</sup>.

Otros biomarcadores potenciales son la chitina-3-like 1, que se ha encontrado incrementada en el LCR de los pacientes con un CIS que convierten a EMCD comparado con aquellos que no lo hacen<sup>20</sup>, así como en pacientes con formas progresivas de la enfermedad respecto a los pacientes con la forma remitente-recurrente<sup>32</sup>. Por otro lado, la fetuin-A también se ha planteado como biomarcador, pero existen resultados contradictorios respecto a esta proteína, ya que inicialmente se describió una disminución de los niveles en LCR en los pacientes con CIS que convertían a EM respecto a los que no convertían<sup>19</sup>, mientras que posteriormente se ha descrito un incremento de su expresión en pacientes con EM secundariamente progresiva respecto a los controles con otras enfermedades del SNC<sup>33</sup>.

### □ Biomarcadores específicos de proceso

Otro tipo de marcadores importantes son los biomarcadores relacionados con los procesos patogénicos de la enfermedad, los cuales aportan información sobre los mecanismos implicados y podrían dar lugar a la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Dentro de este grupo podemos distinguir diferentes grupos de marcadores en función del mecanismo patogénico en la EM:

#### **Biomarcadores de activación del sistema inmunitario**

En este grupo se engloban citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión, que son los principales reguladores de la inflamación, reclutamiento y migración de las células a los sitios de inflamación. En los pacientes con EM se ha observado un incremento de las citocinas y quimiocinas proinflamatorias (IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, osteopontina, CXCL10, CXCL12, CXCL13) y una disminución de las antiinflamatorias (IL4, IL-10, CCL2, CCL5)<sup>34-40</sup>.

En la EM las moléculas de adhesión juegan un papel muy importante, en cuanto que ayudan a las células del sistema inmune en la migración a través de la barrera hematoencefálica (BHE) hacia el SNC. La expresión de moléculas de adhesión intercelular (ICAM) en la EM se ha estudiado ampliamente, encontrando una correlación entre los niveles de ICAM-1 en LCR y la actividad clínica de la enfermedad, así como las lesiones activas en la RM<sup>41,42</sup>.

Dentro de este grupo también encontramos las metaloproteinasas (MMP), que son enzimas proteolíticas implicadas en la remodelación de la matriz extracelular. De entre todas la metaloproteinasas conocidas, la que parece tener una mayor implicación en la patogenia de la EM es la MMP-9<sup>43</sup>, y de hecho se han observado niveles de MMP-9 elevados en el suero y el LCR de pacientes con EMRR<sup>44,45</sup>.

Dentro de los biomarcadores de activación del sistema inmune se encuentra también la cystatin C, un inhibidor de proteasas que tiene un papel importante en la modulación de la activación del sistema inmunitario<sup>46</sup>. En un primer estudio se encontraron niveles disminuidos de la proteína en pacientes con EM en comparación con controles sanos<sup>47</sup>, mientras que en otros dos estudios posteriores se han encontrado niveles elevados de cystatin C en pacientes con CIS y EM en comparación con los controles<sup>48</sup>, además de encontrar una asociación entre niveles elevados y un peor pronóstico<sup>49</sup>.

#### **Biomarcadores de daño axonal**

En este grupo destacan la cadena ligera del neurofilamento (NFL), la proteína 14-3-3, la proteína Tau y el N-Acetil Aspartato (NAA). La mayoría de

estudios apuntan a una elevación de los niveles de NFL en los pacientes con EM respecto a los controles y, además, estos niveles se han asociado con un peor pronóstico<sup>50-52</sup>, aunque en una reciente publicación no observaron diferencias en la concentración de NFL entre pacientes con EM y controles y sí se encontraron diferencias en los niveles de proteína ácida fibrilar glial (GFAP), siendo los niveles más elevados en los pacientes con EM<sup>53</sup>. Otra de las proteínas relacionadas con el daño axonal y asociadas con la EM es la proteína 14-3-3. Se ha descrito que la presencia de esta proteína en el LCR de pacientes con un CIS está asociada a un menor tiempo de conversión, una mayor tasa de brotes y un mayor desarrollo de discapacidad<sup>54</sup>, pero en un estudio posterior el mismo grupo concluyó que, aunque la presencia de la proteína 14-3-3 era un marcador muy específico y que indicaba un menor tiempo de conversión de los pacientes y un peor pronóstico, tenía una sensibilidad muy baja, de forma que no se consideró justificable la realización de una punción lumbar para su determinación<sup>55</sup>. Respecto al NAA se ha visto que los niveles de esta proteína son más altos en el LCR de los pacientes con EMRR que en los pacientes con EMSP, y que estos niveles se correlacionan con una mayor actividad de la enfermedad<sup>56</sup>. Por otro lado, existen estudios que relacionan los niveles de proteína Tau en el LCR con la EM, encontrando mayoritariamente niveles de Tau elevados en los pacientes con EM respecto a controles sanos o con otras enfermedades<sup>57, 58</sup>, mientras que en otros estudios no se observan estas diferencias<sup>59, 60</sup>.

La existencia de una gran cantidad de estudios con resultados contradictorios en la determinación de proteínas se puede deber principalmente a la falta de un protocolo estándar para la realización de éstos, así como en la selección de los grupos de pacientes, recogida de muestras y almacenaje.

#### **Marcadores de desmielinización**

Como biomarcadores de desmielinización se han estudiado productos de degradación de la proteína básica de la mielina (MBP) y anticuerpos contra proteínas de la mielina (anti-MOG, anti-MBP y anti-PLP). Se ha descrito que alrededor de un 80% de los pacientes con EM tienen niveles significativamente elevados de MBP, de forma que esta proteína parece ser un indicador fiable de desmielinización en pacientes con EM<sup>61</sup>, aunque estos niveles no tienen un valor pronóstico y no son específicos de la EM, ya que también se encuentran alterados en otras patologías<sup>62, 63</sup>. Se ha encontrado una correlación entre los niveles de MBP en el LCR y el número de lesiones captantes de gadolinio en la RM<sup>64</sup>, así como una correlación entre la presencia de anticuerpos anti-

mielina y el número de lesiones en T2 y de lesiones captantes de gadolinio en la RM, pero no con el desarrollo de discapacidad ni la conversión a EM<sup>65, 66</sup>.

#### **Marcadores de remielinización**

Nogo-A es una proteína específica del SNC, y se ha observado que inhibe el crecimiento de las neuritas. Aunque inicialmente se identificó esta proteína en el LCR de pacientes con EM, pero no en controles sanos, y se propuso como biomarcador en la EM<sup>67</sup>; posteriormente se refutó esta teoría<sup>68</sup>.

En cuanto a los factores neurotróficos se sabe que son proteínas con la capacidad de prevenir la muerte neuronal y favorecer el proceso de regeneración y remielinización neuronal<sup>69</sup>. Se han encontrado niveles elevados de factores neurotróficos, como el factor neurotrófico ciliar (CNTF), las neurotrofinas 3 y 4 (NT-3, NT-4), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) y el factor de crecimiento neural (NGF) en pacientes con EM tras un brote, y estos niveles se correlacionan con una mejor o peor recuperación de los brotes, de modo que aquellos pacientes que tenían niveles más altos de estos factores presentaban una mejor recuperación<sup>70, 71</sup>.

#### **Marcadores de estrés oxidativo**

El óxido nítrico (NO) es un radical libre que se encuentra aumentado con la inducción del enzima óxido nítrico sintasa (NOS) y se piensa que tiene un papel como mediador de la inflamación en la EM. Existen estudios donde se ha encontrado una correlación entre los niveles de metabolitos del NO (nitrito y nitrato) con el cociente de albúmina (lo cual es un indicador de disfunción de la BHE)<sup>72</sup>, así como una mayor actividad de NOS en el LCR de pacientes con EM<sup>73</sup>, especialmente durante los brotes<sup>74</sup>. También existen otros marcadores de estrés oxidativo, como la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión S transferasa (GST), que se han encontrado disminuidos en algunos estudios en los pacientes con EM, y otros como la superóxido dismutasa (SOD), el malondialdehído (MDA), el glutatión reducido (GSH), que se han encontrado aumentados en los pacientes con EM<sup>75-79</sup>. Todos estos estudios apuntan a un papel importante del estrés oxidativo en la EM.

#### **Marcadores de activación de la glía**

Dentro de este grupo hay dos marcadores principales: la GFAP y el S100b. En cuanto a la GFAP existen diferentes estudios en los que se encuentran niveles elevados en el LCR de pacientes con EM respecto a los controles<sup>50, 53, 80</sup> y se han correlacionado niveles elevados de la proteína con un peor pronóstico<sup>81</sup>, aunque en este último estudio no se encontraron



diferencias de los niveles de GFAP en LCR de pacientes con EM y controles. Por otro lado, sí que se observaron diferencias en los niveles de S100b entre pacientes con EM y controles, siendo los niveles más altos en los pacientes<sup>81</sup>.

### **□ Biomarcadores de respuesta al tratamiento**

Actualmente existe una gran variedad de opciones terapéuticas para el tratamiento de la EM, que junto con el riesgo de un posible fracaso terapéutico y efectos adversos de estos tratamientos hacen que sea de vital importancia la identificación de biomarcadores asociados con la respuesta al tratamiento, y así poder administrar a cada paciente el tratamiento frente al cual va a responder y no presentará efectos adversos. Este es el campo de la farmacogenómica<sup>82</sup>. La respuesta a fármacos es muy variable entre pacientes, y esto, en parte, es debido a factores genéticos. Los polimorfismos en algunos genes pueden determinar una expresión o actividad diferente de proteínas que regulan la farmacocinética o farmacodinámica de los fármacos<sup>83</sup>.

#### **Marcadores de respuesta a IFN-β**

El IFN-β es un fármaco de primera línea que tiene efectos beneficiosos sobre la mayoría de los pacientes con EM, reduciendo la actividad clínica y radiológica de la enfermedad<sup>84, 85</sup>. Aun así, hay un porcentaje de pacientes que responde mal al tratamiento. Por esta razón es importante disponer de biomarcadores que permitan identificar antes de iniciar el tratamiento o a los pocos meses de haberlo iniciado a aquellos pacientes que no van a responder al tratamiento.

Hasta la fecha existen dos estudios de farmacogenómica en los que se ha intentado encontrar polimorfismos asociados a la respuesta al tratamiento con IFN-β<sup>86, 87</sup>. En estos estudios se han encontrado una serie de genes, resumidos en la Tabla II y revisados por Vandebroek y cols.<sup>88</sup>, cuyas funciones en la respuesta al tratamiento con IFN-β deberán ser investigadas más a fondo.

También se han realizado numerosos estudios de expresión génica para identificar perfiles de expresión inducidos por el tratamiento con IFN-β. Uno de los principales marcadores es la proteína MxA, que está codificada por el gen MX1 y se considera uno de los biomarcadores más sensibles y específicos de la bioactividad del IFN-β<sup>89, 90</sup>. Además se ha visto que la expresión de MxA se reduce con la aparición de anticuerpos neutralizantes contra IFN-β (NABs)<sup>91-93</sup>, y la presencia de NABs junto con niveles bajos de expresión de MX1 se han asociado a una peor progresión y un mayor número de brotes<sup>94</sup>. En un estu-

dio de expresión génica se encontraron una serie de genes tanto regulados negativamente (IL8, IFNAR1 y CASP10) como aumentados en su expresión (IL6, IFNAR2, IRF1, MX1, STAT1, B2M, IFITM1, TGFB2 e IFIT1) en los pacientes que respondían al tratamiento con IFN-β respecto a los que no lo hicieron<sup>95</sup>. En dos estudios recientes, en los que se determinó la expresión génica a diferentes tiempos antes y después de la administración de IFN-β, se encontraron una serie de genes asociados a la respuesta a tratamiento con IFN-β, 9 de los cuales (IFI44, IFI44L, IFIT1, IFIT2, IFIT3, ISG15, MX1, RSAD2, EIF2AK2) estaban regulados por IFN-β en todos los tiempos de análisis<sup>96, 97</sup>. En otro estudio reciente se identificó USP18 como un gen que presentó un comportamiento similar al de MX1 y además se expresó de forma diferencial entre pacientes con EM y controles sanos<sup>98</sup>, hallazgo que sugiere un posible papel de USP18 en la patogenia de la enfermedad. Los últimos estudios sugieren que una saturación pre-existente de la activación de las vías del IFN de tipo I en los pacientes antes de iniciar el tratamiento podría estar asociado a una mala respuesta en un subgrupo de pacientes<sup>99, 100</sup>. En esta misma línea, se han encontrado niveles elevados de IFN-β en el suero de un grupo de pacientes no respondedores comparado con los respondedores antes de iniciar el tratamiento<sup>101</sup>.

Uno de los principales problemas de los estudios de farmacogenómica es que no se dispone de un grupo control tratado con placebo, de forma que no se pueden identificar aquellos cambios debidos al tratamiento o a la propia evolución de la enfermedad. Además, los criterios de clasificación de respuesta al tratamiento varían entre estudios, lo que añade más variabilidad a los resultados. Finalmente, antes de poder incluir la farmacogenómica en la práctica clínica, los marcadores encontrados tienen que pasar un proceso de validación en cohortes numerosas de pacientes, para poder tener un marcador o conjunto de marcadores fiables de respuesta al tratamiento.

### **□ Discusión: “bottlenecks” en la búsqueda de biomarcadores**

La búsqueda de biomarcadores diagnósticos, pronósticos y de respuesta al tratamiento son de gran importancia en enfermedades complejas como la EM. Aunque la búsqueda de estos biomarcadores es un campo en el que se están produciendo grandes progresos en los últimos años, existen algunos puntos débiles en los estudios que dificultan el paso hacia la práctica clínica de estos biomarcadores. Uno de estos puntos es la poca reproducibilidad de los estudios debido a la utilización de diferentes metodologías de proteómica para la identificación de biomarcadores, y a la

**Tabla II** Resumen de los genes candidatos para la discriminación entre pacientes respondedores y no respondedores al IFN- $\beta$ 

Símbolo	Gen	Función
<b>Byun y cols.<sup>86</sup></b>		
HAPLN1	Hyaluronan and proteoglycan link protein 1.	Estabilización de los complejos de proteoglicanos y ácido hialurónico de la matriz extracelular.
GPC5	Glypican 5.	Adhesión celular y control de la proliferación celular
COL25A1	Collagen, tpe XXV, $\alpha$ 1.	Inhibición de la fibrilización del péptido beta amiloide: se une a las fibras de amiloide formando agregados resistentes a proteasas.
ERC2	ELKS/RAB-6-interacting/CAST family member 2.	Parece estar implicado en la liberación de neurotransmisores.
FAM19A1	Family with sequence similarity 19 (chemokine [c-c motif]-like), member A1.	Proteína específica de cerebro. Se postula su acción como quimiocina reguladora del sistema inmune y del sistema nervioso.
NPAS3	Neuronal PAS domain protein 3.	Factor de transcripción neuronal posiblemente involucrado en neurogénesis.
<b>Comabella y cols.<sup>87</sup></b>		
GRIA3	Glutamate receptor, ionotropic, AMPA3.	Neurotransmisión.
CIT	Citron (rho-interacting, serine/threonine kinase 21).	Regulación de la citoquinesis y desarrollo del sistema nervioso central.
ADAR	Adenosine deaminase, RNA-specific.	Respuesta antiviral de los interferones.
ZFAT	Zinc finger and AT hook domain containing.	Regulación de la transcripción génica involucrado en la apoptosis y supervivencia celular.
STARD13	StAR-related lipid transfer (START) domain containing 13.	Regulación de la organización del citoesqueleto, proliferación celular y movilidad celular.
ZFH4	Zinc finger homeobox 4.	No conocida.
IFNAR2	Interferon (alfa, beta, omega) receptor 2.	Respuesta antiviral de los interferones.

Revisado por Vanderbroeck y cols.<sup>90</sup>.

baja reproducibilidad de las mismas, así como la falta de protocolización de estas técnicas. Otro punto fundamental es la validación de los biomarcadores. Por ejemplo, en los estudios de *screening* mediante técnicas de proteómica, se han identificado un gran número de proteínas expresadas de forma diferencial entre los grupos de estudio, pero muy pocas llegan a validarse por técnicas de inmunoensayo en cohortes de pacientes independientes. Lo mismo ocurre en el campo de la farmacogenómica, donde también se ha encontrado una larga lista de genes asociados a la buena o mala respuesta al tratamiento, aunque todavía hacen falta estudios donde se validen estos marcadores. Otro punto crítico en la validación de los biomarcadores es la

gran variabilidad entre estudios en la selección de los pacientes, la recogida de las muestras y su almacenaje, lo que contribuye a la baja reproducibilidad de éstos.

Aunque hasta la fecha no se ha podido validar ninguno de estos biomarcadores, hay que tener en cuenta que estos estudios han permitido encontrar proteínas y genes relacionados con la EM y conocer su función en la enfermedad, así como también han proporcionado información sobre la implicación de las diversas vías en la patogenia de la enfermedad, aportando un poco de luz en este campo. Así pues, este tipo de estudios siguen siendo imprescindibles para un conocimiento más profundo de una enfermedad tan compleja como es la EM.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Oksenberg JR, Baranzini SE. Multiple sclerosis genetics--is the glass half full, or half empty? *Nat Rev Neurol* 2010;6(8):429-37.
- 2.- Sawcer S, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011;476(7359):214-9.
- 3.- Hafler DA, et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med* 2007;357(9):851-62.

- 4.- Baranzini SE, et al. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. *Hum Mol Genet* 2009;18(4):767-78.
- 5.- Hoppenbrouwers IA, et al. EVI5 is a risk gene for multiple sclerosis. *Genes Immun* 2008;9(4):334-7.
- 6.- Rubio JP, et al. Replication of KIAA0350, IL2RA, RPL5 and CD58 as multiple sclerosis susceptibility genes in Australians. *Genes Immun* 2008;9(7):624-30.
- 7.- Weber F, et al. IL2RA and IL7RA genes confer susceptibility for multiple sclerosis in two independent European populations. *Genes Immun* 2008;9(3):259-63.
- 8.- De Jager PL, et al. Meta-analysis of genome scans and replication identify CD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci. *Nat Genet* 2009;41(7):776-82.
- 9.- Consortium, I.M.S.G. The genetic association of variants in CD6, TNFRSF1A and IRF8 to multiple sclerosis: a multi-center case-control study. *PLoS One* 2011;6(4):e18813.
- 10.- Nischwitz S, et al. More CLEC16A gene variants associated with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2011;123(6): 400-6.
- 11.- Sundstrom P, et al. An altered immune response to Epstein-Barr virus in multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology* 2004;62(12):2277-82.
- 12.- Sundqvist E, et al. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: interaction with HLA. *Genes Immun* 2012;13(1):14-20.
- 13.- Berger T. Current therapeutic recommendations in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2009;287 Suppl 1:S37-45.
- 14.- Lennon VA, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004;364(9451):2106-12.
- 15.- Cree B. Neuromyelitis optica: diagnosis, pathogenesis, and treatment. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2008;8(5):427-33.
- 16.- Irani DN, et al. Cleavage of cystatin C in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2006;59(2):237-47.
- 17.- Hammack BN, et al. Proteomic analysis of multiple sclerosis cerebrospinal fluid. *Mult Scler* 2004;10(3):245-60.
- 18.- Chiasserini D, et al. CSF proteome analysis in multiple sclerosis patients by two-dimensional electrophoresis. *Eur J Neurol* 2008;15(9):998-1001.
- 19.- Tumani H, et al. CSF proteome analysis in clinically isolated syndrome (CIS): candidate markers for conversion to definite multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2009;452(2):214-7.
- 20.- Comabella M, et al. Cerebrospinal fluid chitinase 3-like 1 levels are associated with conversion to multiple sclerosis. *Brain* 2010;133(4):1082-93.
- 21.- Bielekova B, Martin R. Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain* 2004;127(7):1463-78.
- 22.- Giovannoni G. Multiple sclerosis cerebrospinal fluid biomarkers. *Dis Markers* 2006;22(4):187-96.
- 23.- O'Connor KC, et al. Comprehensive phenotyping in multiple sclerosis: discovery based proteomics and the current understanding of putative biomarkers. *Dis Markers* 2006;22(4):213-25.
- 24.- Berger T, Reindl M. Multiple sclerosis: disease biomarkers as indicated by pathophysiology. *J Neurol Sci* 2007;259(1-2):21-6.
- 25.- Teunissen CE, et al. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking. *Neurology* 2009;73(22):1914-22.
- 26.- Tintore M, et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology* 2008;70(13 Pt 2):1079-83.
- 27.- Rauer S, et al. Antimyelin antibodies and the risk of relapse in patients with a primary demyelinating event. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77(6):739-42.
- 28.- Kuhle J, et al. Lack of association between antimyelin antibodies and progression to multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2007;356(4):371-8.
- 29.- Lim ET, et al. Anti-myelin antibodies do not allow earlier diagnosis of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2005;11(4):492-4.
- 30.- Pelayo R, et al. Antimyelin antibodies with no progression to multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2007;356(4):426-8.
- 31.- Villar LM, et al. CSF oligoclonal band patterns reveal disease heterogeneity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2009;211(1-2):101-4.
- 32.- Canto E, et al. Chitinase 3-like 1 plasma levels are increased in patients with progressive forms of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012;18(7):983-90.
- 33.- Harris VK, et al. Bri2-23 is a potential cerebrospinal fluid biomarker in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2010;40(1):331-9.
- 34.- Bartosik-Psujek H, Stelmasiak Z. Correlations between IL-4, IL-12 levels and CCL2, CCL5 levels in serum and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neural Transm* 2005;112(6):797-803.
- 35.- Krumbholz M, et al. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain* 2006;129(1):200-11.
- 36.- Sellebjerg F, et al. Increased cerebrospinal fluid concentrations of the chemokine CXCL13 in active MS. *Neurology* 2009;73(23):2003-10.

- 37.- Khademi M, et al. Cerebrospinal fluid CXCL13 in multiple sclerosis: a suggestive prognostic marker for the disease course. *Mult Scler* 2010;17(3):335-43.
- 38.- Ragheb S, et al. Multiple sclerosis: BAFF and CXCL13 in cerebrospinal fluid. *Mult Scler* 2011;17(7):819-29.
- 39.- Malmestrom C, et al. IL-6 and CCL2 levels in CSF are associated with the clinical course of MS: implications for their possible immunopathogenic roles. *J Neuroimmunol* 2006;175(1-2):176-82.
- 40.- Wen SR, et al. Increased levels of IL-23 and osteopontin in serum and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2012;244(1-2):94-6.
- 41.- Dore-Duffy P, et al. Circulating, soluble adhesion proteins in cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis: correlation with clinical activity. *Ann Neurol* 1995;37(1):55-62.
- 42.- Rieckmann P, et al. Soluble adhesion molecules (sVCAM-1 and sICAM-1) in cerebrospinal fluid and serum correlate with MRI activity in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1997;41(3):326-33.
- 43.- Lukes A, et al. Extracellular matrix degradation by metalloproteinases and central nervous system diseases. *Mol Neurobiol* 1999;19(3):267-84.
- 44.- Boz C, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1) in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with interferon beta. *Clin Neurol Neurosurg* 2006;108(2):124-8.
- 45.- Fainardi E, et al. Cerebrospinal fluid and serum levels and intrathecal production of active matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as markers of disease activity in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2006;12(3):294-301.
- 46.- Reed CH. Diagnostic applications of cystatin C. *Br J Biomed Sci* 2000;57(4):323-9.
- 47.- Nagai A, et al. Cystatin C and cathepsin B in CSF from patients with inflammatory neurologic diseases. *Neurology* 2000;55(12):1828-32.
- 48.- Fiorini M, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in clinically isolated syndromes and multiple sclerosis. *Proteomics Clin Appl* 2007;1(9):963-71.
- 49.- Gajofatto A, et al. Assessment of outcome predictors in first-episode acute myelitis: a retrospective study of 53 cases. *Arch Neurol* 2010;67(6):724-30.
- 50.- Norgren N, et al. Neurofilament and glial fibrillary acidic protein in multiple sclerosis. *Neurology* 2004;63(9):1586-90.
- 51.- Salzer J, Svenningsson A, Sundstrom P. Neurofilament light as a prognostic marker in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010;16(3):287-92.
- 52.- Kuhle J, et al. Neurofilament heavy chain in CSF correlates with relapses and disability in multiple sclerosis. *Neurology* 2011;76(14):1206-13.
- 53.- Axelsson M, et al. Glial fibrillary acidic protein: a potential biomarker for progression in multiple sclerosis. *J Neurol* 2011;258(5):882-8.
- 54.- Martinez-Yelamos A, et al. 14-3-3 protein in the CSF as prognostic marker in early multiple sclerosis. *Neurology* 2001;57(4):722-4.
- 55.- Martinez-Yelamos A, et al. CSF 14-3-3 protein assay and MRI as prognostic markers in patients with a clinically isolated syndrome suggestive of MS. *J Neurol* 2004;251(10):1278-9.
- 56.- Teunissen CE, Dijkstra C, Polman C. Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2005;4(1):32-41.
- 57.- Kapaki E, et al. Increased cerebrospinal fluid tau protein in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2000;43(4):228-32.
- 58.- Sussmuth SD, Reiber H, Tumani H. Tau protein in cerebrospinal fluid (CSF): a blood-CSF barrier related evaluation in patients with various neurological diseases. *Neurosci Lett* 2001;300(2):95-8.
- 59.- Guimaraes I, Cardoso MI, Sa MJ. Tau protein seems not to be a useful routine clinical marker of axonal damage in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2006;12(3):354-6.
- 60.- Colucci M, et al. The 14-3-3 protein in multiple sclerosis: a marker of disease severity. *Mult Scler* 2004;10(5):477-81.
- 61.- Sellebjerg F, et al. Cerebrospinal fluid measures of disease activity in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 1998;4(6):475-9.
- 62.- Levin SD, et al. Cerebrospinal fluid myelin basic protein immunoreactivity as an indicator of brain damage in children. *Dev Med Child Neurol* 1985;27(6):807-13.
- 63.- Noseworthy TW, et al. Cerebrospinal fluid myelin basic protein as a prognostic marker in patients with head injury. *Crit Care Med* 1985;13(9):743-6.
- 64.- Barkhof F, et al. A correlative triad of gadolinium-DTPA MRI, EDSS, and CSF-MBP in relapsing multiple sclerosis patients treated with high-dose intravenous methylprednisolone. *Neurology* 1992;42(1):63-7.
- 65.- Kuhle J, et al. Antimyelin antibodies in clinically isolated syndromes correlate with inflammation in MRI and CSF. *J Neurol* 2007;254(2):160-8.
- 66.- Vogt MH, et al. Cerebrospinal fluid anti-myelin antibodies are related to magnetic resonance measures of disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80(10):1110-5.



- 67.- Jurewicz A, et al. Soluble Nogo-A, an inhibitor of axonal regeneration, as a biomarker for multiple sclerosis. *Neurology* 2007;68(4):283-7.
- 68.- Lindsey JW, Crawford MP, Hatfield LM. Soluble Nogo-A in CSF is not a useful biomarker for multiple sclerosis. *Neurology* 2008;71(1):35-7.
- 69.- Kerschensteiner M, et al. Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: implications for neurological diseases. *Ann Neurol* 2003;53(3):292-304.
- 70.- Caggiula M, et al. Neurotrophic factors and clinical recovery in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Scand J Immunol* 2005;62(2):176-82.
- 71.- Massaro AR. Are there indicators of remyelination in blood or CSF of multiple sclerosis patients? *Mult Scler* 1998;4(3):228-31.
- 72.- Giovannoni G. Cerebrospinal fluid and serum nitric oxide metabolites in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 1998;4(1):27-30.
- 73.- Calabrese V, et al. Nitric oxide synthase is present in the cerebrospinal fluid of patients with active multiple sclerosis and is associated with increases in cerebrospinal fluid protein nitrotyrosine and S-nitrosothiols and with changes in glutathione levels. *J Neurosci Res* 2002;70(4):580-7.
- 74.- Svenningsson A, et al. Nitric oxide metabolites in CSF of patients with MS are related to clinical disease course. *Neurology* 1999;53(8):1880-2.
- 75.- Syburra C, Passi S. Oxidative stress in patients with multiple sclerosis. *Ukr Biokhim Zh* 1999;71(3):112-5.
- 76.- Tasset I, et al. Peripheral oxidative stress in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Clin Biochem* 2012;45(6):440-4.
- 77.- Polidoro G, et al. Superoxide dismutase, reduced glutathione and TBA-reactive products in erythrocytes of patients with multiple sclerosis. *Int J Biochem* 1984;16(5):505-9.
- 78.- Jensen GE, Clausen J. Glutathione peroxidase and reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and catalase activities in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1984;63(1):45-53.
- 79.- Acar A, et al. Evaluation of serum oxidant/antioxidant balance in multiple sclerosis. *Acta Neurol Belg* 2012 Sep;112(3):275-80.
- 80.- Haghghi S, et al. Cerebrospinal fluid markers in MS patients and their healthy siblings. *Acta Neurol Scand* 2004;109(2):97-9.
- 81.- Petzold A, et al. Markers for different glial cell responses in multiple sclerosis: clinical and pathological correlations. *Brain* 2002;125(Pt 7):1462-73.
- 82.- Pappas DJ, Oksenberg JR. Multiple sclerosis pharmacogenomics: maximizing efficacy of therapy. *Neurology* 2010;74 Suppl 1:S62-9.
- 83.- Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet* 1998;352(9139):1498-504.
- 84.- PRISMS-4: Long-term efficacy of interferon-beta-1a in relapsing MS. *Neurology* 2001;56(12):1628-36.
- 85.- Francis GS, Rice GP, Alsup JC. Interferon beta-1a in MS: results following development of neutralizing antibodies in PRISMS. *Neurology* 2005;65(1):48-55.
- 86.- Byun E, et al. Genome-wide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008;65(3):337-44.
- 87.- Comabella M, et al. Genome-wide scan of 500,000 single-nucleotide polymorphisms among responders and non responders to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009;66(8):972-8.
- 88.- Vandenbroeck K, Urcelay E, Comabella M. IFN-beta pharmacogenomics in multiple sclerosis. *Pharmacogenomics* 2010;11(8):1137-48.
- 89.- Pachner A, et al. MxA gene expression analysis as an interferon-beta bioactivity measurement in patients with multiple sclerosis and the identification of antibody-mediated decreased bioactivity. *Mol Diagn* 2003;7(1):17-25.
- 90.- Gilli F, et al. Biological markers of interferon-beta therapy: comparison among interferon-stimulated genes MxA, TRAIL and XAF-1. *Mult Scler* 2006;12(1):47-57.
- 91.- Deisenhammer F, et al. Bioavailability of interferon beta 1b in MS patients with and without neutralizing antibodies. *Neurology* 1999;52(6):1239-43.
- 92.- Pachner AR, Bertolotto A, Deisenhammer F. Measurement of MxA mRNA or protein as a biomarker of IFNbeta bioactivity: detection of antibody-mediated decreased bioactivity (ADB). *Neurology* 2003;61(9 Suppl 5):S24-6.
- 93.- Hesse D, Sellebjerg F, Sorensen PS. Absence of MxA induction by interferon beta in patients with MS reflects complete loss of bioactivity. *Neurology* 2009;73(5):372-7.
- 94.- Polman CH, et al. Recommendations for clinical use of data on neutralising antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2010;9(7):740-50.

- 95.- Weinstock-Guttman B, et al. Genomic effects of once-weekly, intramuscular interferon-beta1a treatment after the first dose and on chronic dosing: Relationships to 5-year clinical outcomes in multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2008;205(1-2):113-25.
- 96.- Goertsches RH, et al. Long-term genome-wide blood RNA expression profiles yield novel molecular response candidates for IFN-beta-1b treatment in relapsing remitting MS. *Pharmacogenomics* 2010;11(2):147-61.
- 97.- Serrano-Fernandez P, et al. Time course transcriptomics of IFNB1b drug therapy in multiple sclerosis. *Autoimmunity* 2010;43(2):172-8.
- 98.- Malhotra S, et al. Search for specific biomarkers of IFNbeta bioactivity in patients with multiple sclerosis. *PLoS One* 2011;6(8):e23634.
- 99.- van Baarsen LG, et al. Pharmacogenomics of interferon-beta therapy in multiple sclerosis: baseline IFN signature determines pharmacological differences between patients. *PLoS One* 2008;3(4):e1927.
- 100.- Comabella M, et al. A type I interferon signature in monocytes is associated with poor response to interferon-beta in multiple sclerosis. *Brain* 2009;132(Pt 12):3353-65.
- 101.- Axtell RC, et al. T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon-beta in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nat Med* 2010;16(4):406-12.