

### III. OTRAS DISPOSICIONES

## MINISTERIO DE CIENCIA, INNOVACIÓN Y UNIVERSIDADES

**15730** *Resolución de 24 de octubre de 2018, del Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red, M.P., por la que se publica el Convenio con Ela España-Asociación Española contra la Leucodistrofia, para la promoción e impulso de la investigación en el área temática de enfermedades raras.*

El Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red, M.P., es un consorcio público de los previstos en los artículos 118 a 127 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, dotado de personalidad jurídica propia y adscrito al Instituto de Salud Carlos III.

El Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red, M.P. y ELA ESPAÑA - Asociación Española contra la Leucodistrofia (ELA ESPAÑA) han suscrito con fecha 27 de septiembre de 2018 un convenio.

En cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 48.8 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, se dispone su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 24 de octubre de 2018.–La Presidenta del Consejo Rector del Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red, M.P., Raquel Yotti Álvarez.

#### **CONVENIO ENTRE EL CONSORCIO CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED M.P. (CIBER) Y ELA ESPAÑA-ASOCIACIÓN ESPAÑOLA CONTRA LA LEUCODISTROFIA (ELA ESPAÑA), PARA LA PROMOCIÓN E IMPULSO DE LA INVESTIGACIÓN EN EL ÁREA TEMÁTICA DE ENFERMEDADES RARAS**

En Madrid, a 27 septiembre de 2018.

#### INTERVIENEN

De una parte, el Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red M.P., con domicilio en c/ Monforte de Lemos número 5, 28029 de Madrid y CIF G85296226, representado por don Manuel Sánchez Delgado, con DNI núm. 36006803-G, gerente del mismo y en virtud de las facultades que le confiere el poder notarial otorgado ante el notario de Madrid, don Joaquín Corell Corell, el día 15 de noviembre de 2012, con número tres mil seiscientos noventa y ocho de su protocolo (en adelante, CIBER).

De otra parte, ELA España - Asociación Española contra la Leucodistrofia, representada en este acto por doña Carmen Sever Bermejo en calidad de presidenta de la misma, con DNI 29109613-P y con domicilio en Centro Cívico El Cerro, Avenida de Manuel Azaña, s/n, 28822 de Coslada (Madrid), y CIF G-12557476, y en virtud del Acta de la Asamblea General Ordinaria de fecha 23 de junio de 2018, por un periodo de cinco años, registrada en MIR con fecha 10 de septiembre de 2018 (en adelante ELA España).

Las partes se reconocen recíprocamente la capacidad para la firma de este convenio y, por este motivo,

## EXPONEN

### I

#### Ámbito Normativo

I. Que corresponde a la Administración General del Estado en virtud de lo establecido en el artículo 149.1.15 de la Constitución, la competencia exclusiva sobre el fomento y coordinación general de la investigación científica y técnica.

II. La Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, por la que se regula la investigación biomédica, contempla el fomento y la promoción de la actividad investigadora en el Sistema Nacional de Salud y prevé la colaboración y participación para la ejecución de programas o proyectos de investigación.

III. El artículo 47 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, define los convenios como aquellos acuerdos con efectos jurídicos adoptados por las Administraciones Públicas, los organismos públicos y entidades de derecho público vinculados o dependientes o las Universidades públicas entre sí.

IV. Que de acuerdo con la Orden Ministerial SCO/806/2006 de 13 de marzo, por la que se aprueban las bases reguladoras para la concesión de ayudas destinadas a financiar estructuras estables de investigación cooperativa, en el área de biomedicina y ciencias de la salud, establece que los CIBER tienen como objeto:

a) Impulsar la investigación de excelencia en Biomedicina y Ciencias de la Salud que se realiza en el Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología, mediante el desarrollo y potenciación de estructuras estables de Investigación Cooperativa.

b) Promover y financiar, a través del Instituto de Salud Carlos III, la asociación estable de grupos de investigación pertenecientes a centros de investigación, en las diversas modalidades de Investigación Cooperativa en Red (Centro de Investigación Biomédica en Red y Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud), para contribuir a fundamentar científicamente los programas y políticas del Sistema Nacional de Salud en las áreas prioritarias del Plan Nacional de I+D+I.

c) Generar grandes Centros de Investigación traslacional estables, de carácter multidisciplinar y pluriinstitucional, donde se integre la investigación básica, clínica y poblacional, al objeto de desarrollar un único programa común de investigación, focalizado en ciertas patologías que son relevantes para el Sistema Nacional de Salud por su prevalencia o que, debido a la repercusión social de las mismas, son consideradas estratégicas para el mismo.

### II

#### Fines de las Instituciones

I. Que ELA España es una asociación sin ánimo de lucro que promueve mejorar la calidad de vida de las personas afectadas por leucodistrofia y sus familias, y apoya la investigación traslacional dirigida a encontrar diagnósticos y tratamientos para los afectados por este conjunto de enfermedades genéticas.

II. Que el CIBER es un Consorcio constituido por diversas instituciones y centros de investigación con sede social en distintas Comunidades Autónomas, el CSIC M.P. y el Instituto de Salud Carlos III O.A.M.P., el cual, de conformidad con el artículo 2 de sus estatutos, es uno de los instrumentos de los que dispone la Administración para alcanzar las metas establecidas en la Estrategia Estatal y en el Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación para el periodo 2013-2020, así como contempla que son finalidades específicas del Consorcio las siguientes:

a) La realización de programas conjuntos de investigación, desarrollo e innovación en las áreas temáticas de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Enfermedades Raras, Enfermedades Respiratorias, Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Epidemiología

y Salud Pública, Salud Mental, Diabetes y Enfermedades Metabólicas y Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Fragilidad y Envejecimiento Saludable, Enfermedades Cardiovasculares y Cáncer.

b) Contribuir a la resolución de los problemas de la asistencia sanitaria relacionados con dichas áreas.

c) Promover la participación en actividades de investigación de carácter nacional y especialmente de las incluidas en los Programas Marco Europeos de I+D+I y en Horizonte 2020.

d) Promover la transferencia y la explotación económica de resultados de los procesos de investigación hacia la sociedad y en especial al sector productivo para incrementar su competitividad.

e) Promover la difusión de sus actividades y la formación de investigadores competitivos en el ámbito de cada área temática de investigación.

### III

#### Declaración de intenciones

Con base en los fines antes expuestos, es objetivo común a las partes impulsar la investigación y están de acuerdo, en la necesidad de colaborar de forma que se impulse y posibilite la participación de los profesionales sanitarios en los grupos de investigación, concretamente, en el Área temática de Enfermedades Raras por lo que, deciden formalizar el presente Convenio que se registrará por las siguientes

#### CLÁUSULAS

##### Primera. *Objeto del Convenio.*

ELA España y el CIBER tienen como finalidad común la promoción de la Investigación Biomédica y más concretamente incentivar e incrementar la Investigación en sus centros asistenciales. De acuerdo con esta idea ELA España y el CIBER asignarán recursos y coordinarán la labor investigadora en sus centros asistenciales.

En este sentido, ambas partes impulsarán la investigación a través de la coordinación de sus estructuras, de sus conocimientos y de sus disponibilidades, impulsando la participación de los profesionales en la investigación en el área temática de Enfermedades Raras.

##### Segunda. *Programa de investigación.*

El convenio se concreta en la colaboración conjunta a través de una línea de investigación mediante la aportación de CIBER de fondos a ELA España para la realización del proyecto de Investigación que se adjuntan en el anexo del presente Convenio.

##### Tercera. *Ayudas económicas.*

a) Las aportaciones económicas que se efectúen por parte de CIBER a ELA España se destinarán exclusivamente a la realización del proyecto de investigación que se adjunta en el anexo del presente Convenio.

b) La colaboración en el Proyecto de Investigación «Eficacia de la pioglitazona administrada a pacientes con adrenomielseuropatía» se traducirá en la financiación de una cuantía total de treinta mil (30.000,00) euros.

c) Del mismo modo, ELA España efectuará la cuantificación de marcadores de estrés oxidativo en proteínas (GSA, CEL, MDAL y CML) en plasma y células mononucleares, marcadores de estrés oxidativo en DNA (8oxoDG) en orina y marcadores de inflamación (TXB2, 12S-HETE y 15S-HETE CCR3, CXCL5, CXCL9, IL9R, PPARd, GPX4, STAT1, HGF, IL6, IL8, MCP-1, NGF, TNF y adiponectina) en plasma y/o células mononucleares en pacientes con Adrenomielseuropatía, es decir, para el desarrollo del proyecto que

constituye el objeto del presente convenio. La finalidad de esta colaboración es obtener datos bioquímicos sobre la eficacia de la pioglitazona en este grupo de pacientes, en la normalización de marcadores de inflamación y estrés oxidativo, descritas en el anexo del presente Convenio.

*Cuarta. Comisión de Seguimiento y Evaluación del Programa.*

La composición de la Comisión de Seguimiento y Evaluación del Programa será la siguiente:

- a) En representación del CIBER:
  - El Gerente del CIBER, o persona en quien delegue.
  - El responsable de convenios del CIBER, o persona en quien delegue.
  - Un Investigador Principal del CIBER o persona en quien delegue.
- b) En representación de ELA España:
  - La vicepresidenta de ELA España, o persona en quien delegue.
  - El presidente de ELA España o persona en quien delegue.
  - El Investigador principal del proyecto, o persona en quien el delegue.

El funcionamiento de este órgano paritario y colegiado se adecuará a lo indicado en los artículos 15 a 22 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público.

*Quinta. Obligaciones de las partes.*

La cantidad que CIBER transferirá a ELA España es por un importe de treinta mil euros (30.000 €).

Dicha cuantía no incluye IVA pues las cantidades a aportar por CIBER no lo son en concepto de contraprestación directa y equivalente a los servicios a prestar por ELA España, sino que tienen como finalidad coadyuvar a la consecución del objeto común y a los fines del presente convenio establecidos en las cláusulas primera y segunda.

El CIBER ingresará dicha cantidad en la cuenta corriente del Banco La Caixa: 2100 2415 41 0200090322 titularidad de ELA España cuyo código IBAN es: ES30.

Por su parte, ELA España realizará la cuantificación de marcadores de estrés oxidativo en proteínas (GSA, CEL, MDAL y CML) en plasma y células mononucleares, marcadores de estrés oxidativo en DNA (8oxoDG) en orina y marcadores de inflamación (TXB2, 12S-HETE y 15S-HETE CCR3, CXCL5, CXCL9, IL9R, PPARd, GPX4, STAT1, HGF, IL6, IL8, MCP-1, NGF, TNF y adiponectina) en plasma y/o células mononucleares en pacientes con Adrenomieloneuropatía, es decir, para el desarrollo del proyecto que constituye el objeto del presente convenio. La finalidad de esta colaboración es obtener datos bioquímicos sobre la eficacia de la pioglitazona en este grupo de pacientes, en la normalización de marcadores de inflamación y estrés oxidativo, descritas en el anexo del presente Convenio.

*Sexta. Seguimiento y justificación económica de las ayudas concedidas.*

1. La Comisión de Seguimiento y Evaluación cuya composición se establece en la cláusula cuarta de este convenio será la encargada de velar por su cumplimiento y desarrollo.

2. El presente convenio no instrumenta la concesión de una subvención, de conformidad con la Ley 38/2003, de 17 de noviembre, General de Subvenciones.

3. CIBER efectuará la transferencia de la cantidad fijada en la adenda a ELA España, a partir de la firma de este convenio.

4. ELA España presentará antes del 31 de marzo del ejercicio presupuestario inmediatamente posterior, una certificación conforme la transferencia ha sido destinada a la financiación de los objetivos del Programa, detallados en la cláusula segunda de este convenio.

5. ELA España deberá comprobar las justificaciones que correspondan a las Instituciones beneficiarias de las ayudas del Programa, y cuando proceda ponerlas a disposición de CIBER, y de los respectivos órganos de fiscalización y control de cuentas, según lo establecido en la Ley 47/2003, de 26 de noviembre, General Presupuestaria.

6. ELA España se compromete a respetar la normativa vigente y a cumplir con las obligaciones que le imponen las disposiciones aplicables a la realización del Proyecto científico comprendiendo la cumplimentación de cualquier notificación y/o comunicación preceptiva y obtención de cualquier autorización que deba recabarse, ya sea de las autoridades sanitarias o de los responsables de los centros sanitarios. Si así se fija en el proyecto, será imprescindible la firma del Consentimiento Informado previo de cada paciente.

*Séptima. Cotitularidad de los estudios.*

Las publicaciones que se deriven del desarrollo de éste convenio deben explicitar el origen de la financiación. La utilización y difusión de otros resultados de la investigación diferentes a las publicaciones científicas se hará de común acuerdo entre las partes.

Los derechos de propiedad intelectual derivados de este convenio se repartirán entre las partes de la siguiente forma: CIBER 50%, ELA España 50%.

*Octava. Relación laboral entre las partes.*

La colaboración no implica relación laboral alguna con cualquiera de las partes que firman este Convenio, y se basa en los principios de buena fe y de eficacia para que la labor investigadora pueda ser realizada con éxito.

*Novena. Eficacia, prórroga y modificación.*

El presente convenio resultará eficaz una vez inscrito en el Registro Electrónico estatal de Órganos e Instrumentos de Cooperación del sector público estatal, y publicado en el «Boletín Oficial del Estado» y tendrá una eficacia de tres años, pudiendo prorrogarse anualmente de forma expresa por las partes antes del vencimiento de su vigencia inicial o, en su caso, de sus prórrogas, hasta un máximo de cuatro prórrogas de conformidad con lo dispuesto en el artículo 49 h) de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público.

En el caso de que por mutuo acuerdo se decida la prórroga, dicha decisión deberá contar previamente con un informe en el que se ponga de manifiesto los beneficios de dicha prórroga en relación con el desarrollo del proyecto.

Las partes firmantes podrán modificar los términos del presente Convenio en cualquier momento, mediante acuerdo unánime de todos ellos, que se reflejará en una adenda al mismo.

*Décima. Jurisdicción.*

El presente convenio se regulará por mutuo acuerdo entre las partes. Las dudas y controversias que surjan con motivo de la interpretación y aplicación del mismo que no puedan ser resueltas de forma amigable, se resolverán de conformidad con las normas reconocidas por el Derecho y ante la Jurisdicción Contenciosa Administrativa.

*Undécima. Naturaleza jurídica.*

El presente convenio se rige por lo dispuesto en el capítulo VI del título preliminar de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público.

Duodécima. *Protección de datos.*

Las partes se comprometen a tratar los datos de carácter personal a que, en su caso, tengan acceso o sean objeto de cesión en el marco de aplicación del presente convenio de colaboración, de conformidad con lo que dispone el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos (Reglamento general de protección de datos).

Decimotercera. *Causas de extinción y resolución.*

El presente convenio se extingue por el cumplimiento de las actuaciones que constituyen su objeto o por incurrir en causa de resolución.

Son causas de resolución del presente Convenio:

- El acuerdo unánime de todos los firmantes.
- Extinción por expiración del plazo de vigencia inicial o, en su caso, de cualquiera de sus prórrogas.
- El incumplimiento de alguna de las obligaciones y compromisos asumidos por parte de alguno de los firmantes. En este caso, cualquiera de las partes podrá notificar a la parte incumplidora un requerimiento para que cumpla en el plazo de 10 días con las obligaciones o compromisos que se consideran incumplidos. Este requerimiento será comunicado al responsable del mecanismo de seguimiento, vigilancia y control de la ejecución del convenio y a las demás partes firmantes. Si transcurrido el plazo indicado en el requerimiento persistiera el incumplimiento, la parte que lo dirigió notificará a las partes firmantes la concurrencia de la causa de resolución y se entenderá resuelto el convenio.
- Por decisión judicial declaratoria de la nulidad del convenio.
- Por denuncia unilateral de cualquiera de las partes, para la que es suficiente un preaviso de tres meses. Cada una de las partes se compromete a hacer llegar a tiempo a la otra parte toda dificultad, de cualquier naturaleza que ésta sea, que encuentre en el desarrollo de la ejecución de sus obligaciones en el marco del presente convenio y, en general, de toda información susceptible de afectar a su buena ejecución, con el fin de permitir a la otra parte tomar las medidas que considere más apropiadas.

Y en prueba de conformidad, firman por duplicado el presente ejemplar y a un solo efecto, en la ciudad y fecha al comienzo expresadas.–El Gerente del Consorcio, Manuel Sánchez Delgado.–La Presidenta de ELA España, Carmen Sever Bermejo.

## ANEXO

### **Eficacia de la Pioglitazona administrada a pacientes con Adrenomieloneuropatía**

Investigadores:

Aurora Pujol Onofre.  
Stéphane Fourcade.

Descripción del proyecto:

Introducción.

La enfermedad: adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X.

La adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X (X-ALD: McKusick No 300100) es una enfermedad rara, monogénica y neurometabólica, caracterizada por una progresiva desmielinización y/o degeneración axonal del sistema nervioso central (SNC) y periférico (SNP), insuficiencia suprarrenal, y acumulación de ácidos grasos saturados de cadena muy larga (very long-chain fatty acids, VLCFA) en plasma y órganos diana, debido a su

defectuosa beta-oxidación peroxisomal. Es la alteración peroxisomal más frecuente con una incidencia mínima de 1:20.000 nacimientos. Los últimos datos indican que sobre el 50% de las mujeres heterocigotas también desarrollan síntomas neurológicos a partir de los 40 años, debido a una inactivación sesgada del cromosoma X (1).

La X-ALD tiene una penetrancia completa en hombres a partir de los 50 años, afectando tanto a niños entre 5-12 años de edad (ALD cerebral infantil, CCALD, aprox. 40% de los casos) como a hombres adultos entre 20-30 años (médula espinal y nervios periféricos, adrenomieloneuropatía o AMN, aprox. 60% de los casos). El fenotipo CCALD se asocia a una fuerte reacción inflamatoria con componente autoinmune en la sustancia blanca del cerebro, que evoluciona hacia un estado vegetativo o muerte en 2-5 años. El fenotipo AMN tiene poco o ningún componente inflamatorio afectando, principalmente, a la vía piramidal (tracto corticoespinal) en médula espinal y nervios periféricos en forma de axonopatía distal, de evolución lenta y progresiva. Existen formas «mixtas» en las que un paciente AMN desarrolla desmielinización inflamatoria cerebral. Este amplio espectro de fenotipos clínicos puede coexistir en el mismo núcleo familiar, sugiriendo la implicación de modificadores genéticos y/o epigenéticos, ambientales o estocásticos (1).

La enfermedad está causada por mutaciones en el gen ABCD1 que provocan la pérdida de función de una proteína integral de membrana peroxisomal, transportadora de VLCFA al peroxisoma para su degradación (1).

El marcador bioquímico de la enfermedad, que se utiliza para su diagnóstico, es la acumulación de VLCFA (C26:0 y cocientes 26:0/C22:0 y C24:0/C22:0) en suero/plasma, fibroblastos y otros tejidos (2-4).

Tratamiento de la adrenomieloneuropatía.

Aunque todos los pacientes X-ALD tienen mutaciones en un único gen, el transportador ABCD1, las manifestaciones fenotípicas pueden ser divergentes. Así, se deben considerar estrategias terapéuticas diferentes para la desmielinización inflamatoria, la degeneración axonal y la insuficiencia adrenal. Para esta última, presente en el 70% de los pacientes, la terapia sustitutoria con esteroides es satisfactoria.

Para la forma AMN, no disponemos de terapias satisfactorias. Una de ellas se basa en la administración dietética de gliceroltrioleato/gliceroltrierucato (aceite de Lorenzo: LO) combinado con una dieta pobre en VLCFA con la finalidad de reducir su acumulación. Está descrito que la administración precoz de LO puede retrasar la aparición de los síntomas neurológicos sólo si se administra a niños asintomáticos menores de 6 años (5), pero estos resultados están ampliamente contestados.

En cuanto a terapias farmacológicas, se han utilizado distintos abordajes. En uno de ellos se han probado fármacos que disminuyen los niveles de colesterol celular tales como lovastatina, basándose en el hecho de que en cultivos primarios de fibroblastos humanos dicho fármaco había normalizado la acumulación de VLCFA (5) y en que los niveles altos de colesterol aumentaban los niveles de VLCFA (5). Se han realizado diversos ensayos clínicos con 7-12 pacientes con diferentes fenotipos (5), pero no se ha podido demostrar ningún beneficio clínico de los síntomas neurológicos, y tampoco se han podido reproducir los datos de mejora de la acumulación de VLCFA.

Se han ensayado también otras terapias farmacológicas con inhibidores de histona deacetilasas (HDAC) tales como 4-fenilbutirato (4-PBA) y fibratos (5). Dichas terapias tienen como finalidad la inducción farmacológica del gen ABCD2, el homólogo más próximo del gen ABCD1, que podría compensar la falta de funcionalidad de ABCD1 en pacientes X-ALD. En un estudio clínico preliminar en 7 pacientes AMN adultos tratados con 4-PBA, el análisis de los niveles de RNAm de ABCD2 en sangre no mostró cambios significativos (5) debido, posiblemente, a la corta vida media del 4-PBA. El ácido valproico (VPA), otro inhibidor de HDAC, proporciona efectos neuroprotectores in vitro y mejoría clínica en pacientes con atrofia muscular espinal (6). Nuestro grupo ha demostrado que el VPA induce la expresión de ABCD2 en fibroblastos humanos va inhibición de HDAC y además, en un estudio piloto realizado en 5 pacientes AMN, hemos conseguido reducir significativamente las lesiones oxidativas en proteínas en células mononucleares

periféricas (MNC) (7). No obstante, el hecho de que el fármaco haya producido frecuentemente efectos secundarios, tales como temblores, indican la necesidad de investigar fármacos mejor tolerados, destinados a tratamientos crónicos. El estudio nos ha permitido, asimismo, identificar cuantitativamente una serie de biomarcadores de lesión oxidativa (GSA, AASA, CEL, CML y MDAL) en células mononucleares sanguíneas (MNC), así como el 8-oxo-DG en orina, que hemos validado en un ensayo clínico con un combinado de antioxidantes (NAC, ácido lipoico y vitamina E). Este conjunto de biomarcadores nos parece un sistema robusto para la monitorización del efecto antioxidante de cualquier fármaco. En ellos se basa la presente propuesta con pioglitazona, que intentará detener la progresión de la patología y paliar el daño oxidativo, que hemos señalado como uno de los principales contribuidores a la degeneración axonal (8, 9).

Nuestra elección de pioglitazona.

En un ensayo preclínico reciente realizado en ratones X-ALD, hemos observado que la pioglitazona es capaz de revertir la degeneración axonal y la discapacidad locomotora asociada, la disfunción mitocondrial y fallo bioenergético, así como el estrés oxidativo y las lesiones oxidativas en proteínas en médula espinal normalizando, además, los marcadores de inflamación (10). Consideramos pues, que los resultados deben ser trasladados a pacientes con adrenomieloneuropatía.

Plan de trabajo.

El objetivo principal del estudio es demostrar la eficacia biológica de la pioglitazona en 15-20 pacientes con adrenoleucodistrofia, fenotipo adrenomieloneuropatía (AMN), sin afectación cerebral inflamatoria (captación de gadolinium negativa en RMN). Para demostrar la eficacia biológica mediremos los siguientes parámetros:

– Marcadores de estrés oxidativo en proteínas: GSA, CEL, MDAL y CML en plasma y en células mononucleares de sangre periférica (MNC). Estos marcadores varían independientemente el uno del otro. La cuantificación se realizará por espectroscopia de masas y la concentración se expresará como  $\mu\text{mol}$  por mol de lisina. Si se consigue normalización en plasma y linfocitos, pasaremos a determinaciones en LCR.

– Marcadores de estrés oxidativo en DNA: 8oxoDG en orina, el marcador más robusto según nuestros resultados en el ensayo clínico con antioxidantes. La cuantificación se realizará por HPLC-ECD y la concentración se expresará como ng de 8-oxoDG/mg creatinina.

– Marcadores de inflamación: Cuantificaremos: i) mediadores lipídicos de inflamación en plasma: TXB2, 12S-HETE y 15S-HETE, por MS/MS; ii), la expresión de las siguientes citoquinas: CCR3, CXCL5, CXCL9, IL9R, PPARd, GPX4, STAT1 en MNC por Q-PCR; y iii) la concentración de adipocinas y citoquinas: HGF, IL6, IL8, MCP-1, NGF, TNF, adiponectina, por tecnología Milliplex). Verificaremos los valores de los marcadores de inflamación en la visita inicial con respecto a la población control, que se hallaban alterados en el ensayo clínico previo con antioxidantes, con el objetivo de definir y validar una huella inflamatoria que caracterice a la enfermedad, evaluando su posible potencial pronóstico. Verificaremos el efecto en ellos del tratamiento con pioglitazona.