



Fundació
La Marató de TV3

20^è SIMPOSIUM
Enfermedades neurodegenerativas



PERFIL DE BIOMARCADORES EN DIFERENTES PRESENTACIONES CLÍNICAS DE ENFERMEDAD DE NEURONA MOTORA

Ricardo Rojas García

Institut Investigacions Biomèdiques Sant Pau - HStPau

1. Resumen del proyecto

Marco teórico y objetivo principal

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) ha sido considerada largamente como una enfermedad uniforme con un patrón de presentación clínica característico. En los últimos años se ha incrementado la evidencia de una heterogeneidad significativa desde los puntos de vista clínico, pronóstico, neuropatológico y genético. Los descubrimientos recientes han demostrado que existe una superposición entre la ELA y la demencia frontotemporal (DFT), y sugieren que estas representan parte de un espectro clinicopatológico.

La atrofia cortical se ha asociado a la presencia de alteraciones neuropsiquiátricas y cognitivas, y los pacientes con disfunción ejecutiva progresan de manera más rápida. El conocimiento es escaso respecto a la frecuencia de estas alteraciones en las diferentes formas de neuronas motoras y su influencia en el pronóstico de la enfermedad.

El principal objetivo de este estudio es la caracterización del perfil de biomarcadores en los pacientes con ELA estratificados por su presentación clínica, en comparación con controles y pacientes con DFT, con el propósito de analizar su utilidad en la definición de las diferentes variantes y la predicción de la supervivencia.

Metodología

Estudio ambispectivo de cohortes.

Los pacientes con enfermedad de neurona motora serán clasificados, según el fenotipo de presentación clínica, en tres categorías, en función de la presencia de signos de primera o segunda neurona motora, o ambas neuronas. Todos los pacientes serán sometidos a evaluación neuropsiquiátrica y de las funciones cognitivas, serán sometidos a un estudio neurorradiológico y del líquido cefalorraquídeo (LCR). Se compararán el patrón clínico y el perfil de biomarcadores entre los diferentes fenotipos, con pacientes con DFT y controles sanos.

Resultado esperados

La caracterización del perfil de biomarcadores nos debe ayudar a evaluar la utilidad clínica para establecer una caracterización precisa de los pacientes e identificar los factores ligados a la variabilidad en la supervivencia.

Hipótesis y descripción de los objetivos

Los pacientes con demencia frontotemporal (DFT) y enfermedad de neurona motora (ENM) comparten características clínicas y neuropatológicas. La distinción de las características clínicas en las MNN tiene implicaciones para la comprensión de la fisiopatología y el pronóstico. Los biomarcadores de neuroimagen y de LCR deben ser de ayuda para establecer una clasificación más precisa de los fenotipos clínicos y para predecir el pronóstico.

Objetivos específicos

- Caracterizar el perfil de biomarcadores entre los pacientes con ELA y otras enfermedades de la neurona motora, y en comparación con los pacientes con DFT y controles sanos mediante:
 - Análisis del mapa del grosor cortical (Cth) entre los diferentes fenotipos de pacientes con variantes de ENM, DFT y controles sanos.
 - Análisis de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en los diferentes grupos.
 - Correlación del análisis del Cth basal entre grupos con:
 - las valoraciones cognitivas y del comportamiento;
 - los biomarcadores en plasma y LCR.
- Analizar la concordancia entre los cambios corticales y los biomarcadores en el LCR con patrones clínicos y neuropatológicos.
- Evaluar los cambios clínicos y de biomarcadores evolutivamente.
- Determinar si las características clínicas y del perfil de biomarcadores basales están relacionadas con el pronóstico y la supervivencia.
- Analizar la relación de los fenotipos clínicos con los hallazgos neuropatológicos *post mortem*.

2. Resultados

Reclutamiento de pacientes y muestras

El número total estimado de pacientes a incluir en el estudio era de 50. Los sujetos del estudio han sido seleccionados entre los pacientes con diagnóstico confirmado de ENM, atendidos en la Clínica de Enfermedades de Neurona Motora de la Unidad de Patología Neuromuscular.

Los pacientes incluidos en el estudio han sido clasificados en tres grupos de acuerdo con el fenotipo clínico definido por el examen neurológico y los estudios electrofisiológicos: pacientes con ELA (clasificados como ELA probable o definitiva, de acuerdo con los Criterios de Awaji y El Escorial revisados), con atrofia muscular progresiva (AMP) y esclerosis lateral primaria (ELP). Dentro de cada categoría han sido subclasificados como ELA-DFT, ELA con deterioro cognitivo o síntomas conductuales (Ci/Bi) o sin alteraciones conductuales ni deterioro cognitivo. Los pacientes con ELA-DFT cumplían criterios tanto para ELA como por la variante conductual de DFT (vcDFT) (Rascovsky, 2011).

El número final de la muestra ha sido de 111 pacientes con enfermedad de neurona motora que han firmado el consentimiento para la inclusión en el estudio. En este grupo, se incluyen 12 con ELA-DFT, 7 con ELP y 5 con AMP. Disponemos de muestras de plasma, suero y ADN de todos los sujetos incluidos en el estudio. Se han llevado a cabo 72 evaluaciones cognitivas, 42 estudios de neuroimagen con RM y se han obtenido muestras de LCR de 45 pacientes. Adicionalmente disponemos de muestras de tejido cerebral en 14 casos.

Se disponía, además, de información y muestras del grupo de pacientes con DFT y controles sanos. Los pacientes con DFT incluidos en los estudios provienen de una cohorte preseleccionada de la Unidad de Memoria que cumplen criterios de la variante conductual y de los que se dispone de muestras de LCR, neuroimagen, ADN y plasma, así como de información clínica y evaluaciones cognitivas.

Procesamiento y análisis de datos clínicos, imágenes de RM y muestras de LCR

Estudio 1

El trabajo “**CSF sAPP β , YKL-40, and NfL along the ALS-FTD spectrum**” ha sido publicado en la revista **Neurology**.

Composición de la muestra: 38 ELA clasificados según los criterios diagnósticos: 11 ELA-DFT, 17 ELA Ci/Bi y 10 ELA sin alteración cognitiva ni conductual (Strong, 2016). Edad media = 66,6; 43,5% mujeres; 86 DFT verificados según criterios diagnósticos: 46 vcDFT, 12 nfaPPA, 8 svPPA (Rascovsky, 2011; Gorno-Tempini, 2011). Edad media = 66,6; 29% mujeres; 49 controles sanos sin alteraciones cognitivas (SPIN cohorte). Edad media = 64,2; 37,2% mujeres

Se ha efectuado una determinación y un análisis de los niveles de 3 biomarcadores — sAPP β , YKL-40 y NfL— en el LCR de los pacientes con DFT, ELA y un grupo de sujetos control. Se han comparado las diferencias de los niveles de las determinaciones de los biomarcadores entre grupos, la relación de los niveles con las medidas cognitivas y la ratio de progresión, así como la medida del grosor cortical.

Hemos encontrado niveles incrementados de YKL-40 y disminución de niveles de sAPP β en los grupos DFT y ELA en comparación con los controles. Los niveles más bajos de sAPP β y la relación sAPP β /YKL-40 se encontraron en el grupo DFT. En DFT, sAPP β , YKL-40 y la relación sAPP β /YKL-40 se correlacionaban con la gravedad de la enfermedad. En todo el espectro ELA-DFT, NfL y sAPP β se correlacionaron con el rendimiento cognitivo global ($r = 12:48, p < 0,001$ y $r = 12:36, p < 0,001$, respectivamente). En el grupo ELA, el YKL-40 se correlacionó con la tasa de progresión de la enfermedad ($r = 0,51, p = 0,001$) y la relación sAPP β /YKL-40 mostró una correlación positiva con el grosor cortical en regiones frontotemporales.

Reportamos en este estudio la presencia de niveles disminuidos de sAPP β y niveles aumentados de YKL-40 en el espectro ELA-DFT. De manera significativa destaca que la proporción de sAPP β /YKL-40 se correlaciona con la atrofia cortical en regiones frontales temporales en ELS y DFT. En resumen, el estudio concluye que sAPP β , YKL-40 y NfL podrían ser herramientas valiosas para el estadiaje y estratificación pronóstica de los pacientes dentro del espectro clínico ELA-DFT dada la correlación de los niveles con el grado de atrofia cortical y el grado de progresión de la enfermedad. El estudio demuestra que los niveles de estas proteínas en el LCR son útiles para evaluar el

proceso de neurodegeneración en regiones frontotemporales y la progresión de estas enfermedades. Adicionalmente, los resultados subrayan el papel de la inflamación en la patogenia de la enfermedad.

Estudio 2

El objetivo del estudio es evaluar la utilidad de la neuroimagen para evaluar las alteraciones corticales y los cambios en la microestructura cortical en la vcDFT y la correlación de la difusividad media cortical con medidas clínicas de gravedad y biomarcadores en LCR (NfL y sAPP β). Composición de la muestra: 70 pacientes con vcDFT y 78 controles sanos emparejados por edad, incluyendo los estudios de neuroimagen y las muestras del LCR de 9 pacientes con ELA-DFT.

Los mapas de difusión media, en toda la cohorte y en el grupo de vcDFT probable, mostraron zonas corticales muy extendidas con una mayor difusividad media que se solapó parcialmente con el grosor cortical, pero se expandió aún más a otras regiones relacionadas con vcDFT. En el grupo de posible vcDFT, se encontró un aumento de la difusividad media cortical en regiones frontotemporales (especialmente en la corteza prefrontal dorsolateral y medial de ambos hemisferios), pero sólo una pérdida mínima de espesor cortical. El tamaño del efecto de la difusividad media cortical fue notablemente superior a los tamaños de efectos del grosor cortical en las zonas que normalmente participan en pacientes con vcDFT.

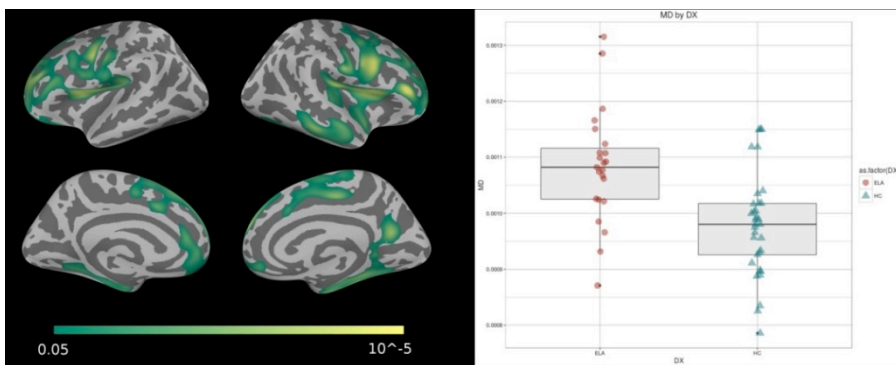
Tanto la difusividad media como el espesor cortical se correlacionan con las medidas de gravedad de la enfermedad y los biomarcadores de LCR. Sin embargo, las áreas de correlación con difusividad media eran más extensas. Los resultados sugieren que la difusividad media cortical podría ser un biomarcador sensible para el estudio de los cambios microestructurales relacionados con la neurodegeneración en vcDFT y ELA, especialmente en etapas tempranas ("**Cortical microstructure in the behavioral variante of frontotemporal dementia: looking beyond atrophy**", *Brain*, 2019, en prensa).

Estudio 3 (en elaboración)

Tamaño total de la muestra (10/2/2018) = 126 pacientes con LCR disponible; 82 pacientes con RM disponible y 38 ELA clasificados según los criterios diagnósticos: 11 ELA-DFT, 17 ELA Ci/Bi y 10 ELA sin alteración cognitiva ni conductual (Strong, 2016).

Edad media = 66,6; 43,5% mujeres; 49 controles sanos sin alteraciones cognitivas (SPIN cohort). Edad media = 64,2; 37,2% mujeres.

Estudio dirigido a evaluar los cambios en la microestructura cortical y la difusividad media cortical en la ELA, asociada o no a alteraciones cognitivoconductuales, comparativamente con la vcDFT, así como la correlación de los cambios de neuroimagen con medidas clínicas de gravedad y biomarcadores en LCR (NfL y sAPP β).



Análisis preliminar

El análisis comparativo de difusividad media entre pacientes con ELA y controles muestra cambios en la microestructura cortical. Las áreas en verde demuestran que hay un aumento significativo de la difusividad en pacientes con ELA y ELA-DFT respecto a los controles que traduce cambios microestructurales corticales.

Análisis de los datos clínicos de la cohorte

Los datos de características clínicas, demográficas, forma de presentación y evolución han sido registrados en una base de datos específica del estudio para establecer correlaciones con los hallazgos del LCR y la RM. La caracterización fenotípica precisa de los pacientes incluidos en el proyecto, especialmente el subgrupo de casos con ELA-DFT concomitante, nos ha permitido el análisis comparativo del patrón clínico y la evolución de este subgrupo respecto al resto de formas de ENM que ha demostrado características distintivas en relación con la supervivencia y el pronóstico.

Identificamos un patrón distintivo de presentación clínica que podría representar un fenotipo específico de la enfermedad con implicaciones para el diagnóstico y manejo terapéutico. Estas observaciones han sido motivo de la publicación "**Distinct clinical features and outcome in motor neuron disease associated with behavioural variant frontotemporal dementia**", que ha sido publicada en la revista *Dement*

Geriatr Cogn Disord, 2018. Este grupo de pacientes presenta, con frecuencia, un patrón de debilidad y atrofia de la musculatura distal de extremidades superiores acompañada de graves problemas de deglución, que son causa frecuente de complicaciones graves con potencial riesgo vital. El trabajo concluye que el reconocimiento de estas características puede tener consecuencias para el manejo clínico y la definición nosológica.

Adicionalmente, la caracterización de este subgrupo de pacientes y la recogida sistemática de datos y muestras de ADN ha permitido su inclusión en un estudio de secuenciación de exoma en colaboración con otros grupos. El estudio identifica probables variantes genéticas patogénicas en hasta un 20% de casos con ELA-DFT sin expansión de la repetición de hexanucleótido en C9orf72 ("**Analysis of known amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia genes reveals a substantial genetic burden in patients manifesting both diseases not carrying the C9orf72 expansion mutation**", *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2018). Cabe destacar el hecho de que una proporción muy significativa de casos de portadores de mutaciones potencialmente patogénicas no tenían historia familiar de ELA o DFT. Estos datos pueden ayudar a definir subgrupos específicos de pacientes, condicionar el manejo clínico y la toma de decisiones en los enfoques de secuenciación de alto rendimiento en series uniformes de pacientes con ELA y DFT concomitantes, tanto desde un punto de vista de la práctica asistencial rutinaria como de la investigación, con utilidad para desentrañar la arquitectura genética de estas dos entidades.

La revisión del proceso diagnóstico también ha permitido un análisis retrospectivo del diagnóstico diferencial en las diferentes formas de presentación de la enfermedad de neurona motora. El trabajo "**Early diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis mimic syndromes: Pros and cons of current clinical diagnostic criteria**" se ha publicado en la revista *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, 2017 Aug;18(5-6):333-340. Este trabajo aporta valiosa información respecto a la aplicación de los criterios diagnósticos de la enfermedad. Esta información es especialmente valiosa en el ámbito asistencial, teniendo en cuenta que se trata de una enfermedad sin test diagnóstico específico. En colaboración con otro grupo, el registro ha ayudado a llevar a cabo un estudio epidemiológico con resultados interesantes ("**Amyotrophic lateral Sclerosis: A higher than expected Incidence in people over 80 years of age**", *Amyotroph Lateral Sclera frontotemporal Degener*,

2016). En primer lugar se trata del segundo estudio epidemiológico de base poblacional en nuestro medio que confirma datos de incidencia y prevalencia similares a los de otros estudios en Europa, pero en el que destacan cifras elevadas de incidencia en los grupos de edad más avanzada y sugiere una ratio de incidencia específica aumentada con la edad y un efecto de riesgo de padecer la enfermedad en relación con la edad que puede apoyar la noción de que la neurodegeneración del sistema motor puede ser parte del proceso de envejecimiento. Adicionalmente pone el foco en un grupo de edad, especialmente frágil, en el que la enfermedad se supone que tradicionalmente ha sido escasamente considerada.

La inclusión en el proyecto de los estudios neuropatológicos ha sido determinante para la descripción y caracterización precisa de casos de ELA, muy infrecuentes, por acumulación de la proteína *fused in sarcoma* (FUS) ("**Does ALS-FUS without FUS mutation represent ALS-FET? Report of three cases**", *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018). En este estudio describimos el fenotipo clinicopatológico de 3 casos con agregados proteicos de FUS y la caracterización de la inmunorreactividad para otras proteínas de la familia FET —FUS/EWS/TAF15— [*Ewing's sarcoma* EWS y la proteína asociada a TATA asociada factor 15 (TAF15)], proteínas de unión a RNA que transportan entre el núcleo y el citoplasma asistidas por la proteína de importación nuclear transportina-1 (Trn1). De manera similar a lo que sucede en los casos de DFT con agregados FUS, y contrariamente a los casos de ELA con mutaciones en FUS, los cuerpos de inclusión en los pacientes con ELA-FUS eran inmunorreactivos por TAF15 y Trn1 y no presentaban mutaciones patogénicas en el gen que codifica para FUS. Este estudio sugiere la posibilidad de que estos casos puedan representar un grupo distintivo del espectro ELA-FUS con implicaciones en la patogenia de la enfermedad. La colección de muestras de tejido ha contribuido a un trabajo enfocado a la evaluación de cribado sistemático de los agregados de ubiquitina/P62 en el fenotipo neuropatológico de los casos con expansión de hexanucleótidos en C9orf72 ("**Systematic Screening of Ubiquitin/p62 Aggregates in Cerebellar Cortex Expands the Neuropathological Phenotype of the C9orf72 Expansion Mutation**", *J Neuropathol Exp Neurol*, 2018).

3. Relevancia e implicaciones futuras

El objetivo del proyecto era la caracterización del perfil de biomarcadores en los pacientes con ELA, estratificados según su presentación clínica, en comparación con controles sanos y pacientes con DFT, con el propósito de analizar la utilidad de los biomarcadores estudiados en la definición de las distintas variantes de presentación y la predicción de la supervivencia.

Los resultados de nuestros estudios aportan información valiosa con aplicabilidad en la práctica como herramientas para la identificación, estratificación y pronóstico de los pacientes, así como información útil para el conocimiento de procesos fisiopatológicos y progresión de la enfermedad. Los resultados obtenidos aportan también herramientas de ayuda para el diagnóstico, que deben permitir una clasificación nosológica más cuidadosa de los pacientes en función de las características clínicas e información para la toma de decisiones en la práctica clínica, los pacientes con ENM.

Una caracterización detallada —fenotípica, neuropatológica y genética— debe ayudar a definir subgrupos clínicos específicos de pacientes, importantes para la asistencia clínica de rutina, pero también para la estratificación y evaluación en ensayos clínicos, definición del pronóstico, investigación epidemiológica y molecular. Sin embargo, el reconocimiento de los patrones específicos puede ser relevante para una nosología correcta de la enfermedad y puede mejorar el proceso diagnóstico y nuestra comprensión de la heterogeneidad de la enfermedad, desde el punto de vista clínico pero también genético y neuropatológico.

Los resultados de los estudios del LCR podrían ser herramientas valiosas para la estratificación y pronóstico de los pacientes dentro del espectro clínico ELA-DFT dada la correlación de los niveles con el grado de atrofia cortical y el grado de progresión de la enfermedad. Adicionalmente, los resultados subrayan el papel de la inflamación en la patogenia de la enfermedad.

En relación con los biomarcadores de neuroimagen para ELA, nuestros resultados evidencian el valor de la resonancia magnética y específicamente las técnicas para estudiar la difusividad media para detectar alteraciones microestructurales que permiten identificar cambios corticales precoces y posiblemente, en el futuro, una

mejor categorización de los pacientes y comprensión de los procesos fisiopatológicos de la enfermedad.

La caracterización de los biomarcadores a través de diferentes fenotipos motores, utilizando un enfoque estandarizado para la evaluación, creemos que tiene un impacto importante en el conocimiento global de la enfermedad, la identificación de subtipos clínicos y sus características relacionadas así como la influencia en la evolución de la enfermedad. Su importancia es capital en una población en la que, debido a la heterogeneidad del fenotipo clínico, el diagnóstico se retrasa y el pronóstico no está bien determinado. Todos estos factores pueden ayudar a entender las bases fisiopatológicas de la enfermedad y los factores que condicionan la progresión, y pueden permitir seleccionar mejor a los pacientes en grupos homogéneos para ensayos, así como hallar una mejor forma de monitorizar la progresión en la práctica clínica y ensayos de fármacos.

El proyecto ha ayudado a la recolección de información y muestras que han dado fruto a diferentes publicaciones y deben permitir el desarrollo de futuros estudios.

4. Bibliografía

Illán-Gala I, Alcolea D, Montal V, Dols-Icardo O, Muñoz L, de Luna N, Turón-Sans J, Cortés-Vicente E, Sánchez-Saudinós MB, Subirana A, Sala I, Blesa R, Clarimón J, Fortea J, Rojas-García R, Lleó A. ***CSF sAPP β , YKL-40, and NfL along the ALS-FTD spectrum.*** *Neurology*. 2018 Oct 5. pii: 10.1212/WNL.0000000000006383. doi: 10.1212/WNL.0000000000006383. PMID: 30291183. Factor de impacto: **8,055**.

Illán-Gala I, Montal V, Borrego-Écija S, Vilaplana E, Pegueroles J, Alcolea D, Sánchez-Saudinós MB, Clarimón J, Turón-Sans J, Bargalló N, González-Ortiz S, Rosen HJ, Gorno-Tempini ML, Miller BL, Lladó A, Rojas-García R, Blesa R, Sánchez-Valle R, Lleó A, Fortea J en nombre de Catalan Frontotemporal Dementia Initiative (CATFI) y de Frontotemporal Lobar Degeneration Neuroimaging Initiative (FTLDNI).

Cortical microstructure in the behavioral variant of frontotemporal dementia: looking beyond atrophy.

Brain (en prensa). Factor de impacto: **11,199**.

Lopez-Font I, Sogorb-Esteve A, Javier-Torrent M, Brinkmalm G, Herrando-Grabulosa M, García-Lareu B, Turón-Sans J, Rojas-García R, Lleó A, Saura CA, Zetterberg H, Blennow K, Bosch A, Navarro X, Sáez-Valero J.

Decreased circulating ErbB4 ectodomain fragments as a read-out of impaired signaling function in amyotrophic lateral sclerosis.

Neurobiol Dis. 2018 Dec 27;124:428-438. doi: 10.1016/j.nbd.2018.12.021. PMID: 30594809. Factor de impacto: **5,227.**

Borrego-Écija S, Cortés-Vicente E, Cervera-Carles L, Clarimón J, Gámez J, Batlle J, Ricken G, Molina-Porcel L, Aldecoa I, Sánchez-Valle R, Rojas-García R, Gelpi E.

Does ALS-FUS without FUS mutation represent ALS-FET? Report of three cases.

Neuropathol Appl Neurobiol. 2018 Oct 29. doi: 10.1111/nan.12527. PMID: 30375034. Factor de impacto: **6,059.**

Dols-Icardo O, García-Redondo A, Rojas-García R, Borrego-Hernández D, Illán-Gala I, Muñoz-Blanco JL Rábano A, Cervera-Carles L, Juárez-Rufián A, de Luna Salva N, Galán L, Cortés-Vicente E, Fortea J, Blesa R, Grau-Rivera O, Lleó A, Esteban-Pérez J, Gelpi E, Clarimón J.

Analysis of known amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia genes reveals a substantial genetic burden in patients manifesting both diseases not carrying the C9orf72 expansion mutation.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2018 Feb;89(2):162-168. doi: 10.1136/jnnp-2017-316820. Epub 2017 Sep 9. PMID: 28889094. Factor de impacto: **7,144.**

Cortés-Vicente E, Turón-Sans J, Gelpi E, Clarimón J, Borrego-Écija S, Dols-Icardo O, Illán-Gala I, Lleó A, Illa I, Blesa R, Al-Chalabi A, Rojas-García R.

Distinct Clinical Features and Outcomes in Motor Neuron Disease Associated with Behavioural Variant Frontotemporal Dementia.

Dement Geriatr Cogn Disord. 2018;45(3-4):220-231. doi: 10.1159/000488528. Epub 2018 Jun 8. PMID: 29886477. Factor de impacto: **2,886.**

Ramos-Campoy O, Ávila-Polo R, Grau-Rivera O, Antonell A, Clarimón J, Rojas-García R, Charif S, Santiago-Valera V, Hernández I, Aguilar M, Almenar C, Lopez-Villegas D, Bajo L, Pastor P, Van der Zee J, Lladó A, Sánchez-Valle R, Gelpi E.

Systematic Screening of Ubiquitin/p62 Aggregates in Cerebellar Cortex Expands the Neuropathological Phenotype of the C9orf72 Expansion Mutation.

J Neuropathol Exp Neurol. 2018 Aug 1;77(8):703-709. doi: 10.1093/jnen/nly047. PMID: 29889265. Factor de impacto: **4,056.**

Cortés-Vicente E, Pradas J, Marín-Lahoz J, De Luna N, Clarimón J, Turon-Sans J, Gelpí E, Díaz-Manera J, Illa I, Rojas-García R.

Early diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis mimic syndromes: pros and cons of current clinical diagnostic criteria.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2017 Aug;18(5-6):333-340. doi: 10.1080/21678421.2017.1316408. Epub 2017 Apr 25. PMID: 28440098. Factor de impacto: **2,982.**

Aragonés JM, Altimiras J, Roura-Poch P, Homs E, Bajo L, Povedano M, Cortés-Vicente E, Illa I, Al-Chalabi A, Rojas-García R.

Amyotrophic lateral sclerosis: A higher than expected incidence in people over 80 years of age.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2016 Oct - Nov;17(7-8):522-527. Epub 2016 May 25. Factor de impacto: **2,982.**