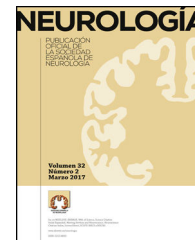




NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



REVISIÓN

La alteración de la mielina en la enfermedad de Alexander



U. Gómez-Pinedo^{a,*}, M. Duran-Moreno^b, S. Sirerol-Piquer^b y J. Matias-Guiu^a

^a Laboratorio de Neurobiología, Servicio de Neurología, Instituto de Neurociencias, IdISSC, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

^b Laboratorio de Neurobiología Comparada, Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universidad de Valencia, Valencia, España

Recibido el 19 de enero de 2017; aceptado el 26 de enero de 2017

Accesible en línea el 22 de marzo de 2017

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Alexander;
Mielinización;
Proteína ácida fibrilar glial;
Condroitín sulfato proteoglicano-NG2;
Epigenética;
Astrocitos

Resumen

Introducción: La enfermedad de Alexander (AxD) es una leucodistrofia. Su base patológica, junto a la pérdida de mielina, es la aparición de los cuerpos de Rosenthal, que son inclusiones citoplasmáticas en células astrocitarias. Mutaciones en el gen que codifica la GFAP se han identificado como una base genética para AxD. Sin embargo, no se conoce el mecanismo por el cual estas variantes producen la enfermedad.

Desarrollo: La hipótesis más extendida es que AxD se desarrolla por un mecanismo por ganancia de función debido al incremento de GFAP. Sin embargo, este mecanismo no explica la pérdida mielinica, dado que los modelos experimentales que expresan GFAP normal o mutada no generan alteración mielinica. En la presente revisión se analizan otras posibilidades que permitan justificar dicha alteración, como son alteraciones epigenéticas, inflamatorias, la existencia de células NG2 (+)-GFAP (+) o cambios postraslacionales sobre la GFAP al margen de la mayor expresión.

Conclusiones: Las diferentes hipótesis analizadas pueden explicar la alteración de la mielina que aparece en los pacientes y que pueden presentarse asociadas y abren la posibilidad de plantear terapéuticas basadas en estos mecanismos.

© 2017 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: inc.hcsc@salud.madrid.org, u.gomez.pinedo@gmail.com (U. Gómez-Pinedo).

KEYWORDS

Alexander disease;
Myelination;
Glial fibrillar acidic
protein;
Chondroitin sulfate
proteoglycan-NG2;
Epigenetics;
Astrocytes

Myelin changes in Alexander disease**Abstract**

Introduction: Alexander disease (AxD) is a type of leukodystrophy. Its pathological basis, along with myelin loss, is the appearance of Rosenthal bodies, which are cytoplasmic inclusions in astrocytes. Mutations in the gene coding for GFAP have been identified as a genetic basis for AxD. However, the mechanism by which these variants produce the disease is not understood.

Development: The most widespread hypothesis is that AxD develops when a gain of function mutation causes an increase in GFAP. However, this mechanism does not explain myelin loss, given that experimental models in which GFAP expression is normal or mutated do not exhibit myelin disorders. This review analyses other possibilities that may explain this alteration, such as epigenetic or inflammatory alterations, presence of NG2 (+) – GFAP (+) cells, or post-translational modifications in GFAP that are unrelated to increased expression.

Conclusions: The different hypotheses analysed here may explain the myelin alteration affecting these patients, and multiple mechanisms may coexist. These theories raise the possibility of designing therapies based on these mechanisms.

© 2017 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La enfermedad de Alexander (AxD) es una leucodistrofia, descrita por el autor que lleva su nombre en 1949¹, que produce una alteración en la constitución de la mielina. Su base patológica, junto con la pérdida de mielina, es la aparición de los cuerpos de Rosenthal², unas inclusiones citoplasmáticas en células de estirpe glial, que también han sido descritas en determinados gliomas. Estas inclusiones están constituidas por proteína glial fibrilar ácida (GFAP), α - β -cristalina y la proteína HSP27^{3,4}, aunque también se han hallado otras proteínas, como vimentina, p62 o plectina⁵. Desde el punto de vista clínico, la enfermedad tiene 3 formas, infantil, juvenil y adulta, siendo la primera de peor pronóstico⁶⁻⁸. Las mutaciones en el gen que codifica la GFAP se han identificado como una base genética para AxD. Estas mutaciones se basan en cambios en 32 nucleótidos específicos y aparecen tanto en casos familiares como esporádicos^{9,10}. Sin embargo, no se conoce cómo estas mutaciones sobre el gen que codifica la GFAP pueden conducir a la agregación de la GFAP en los astrocitos del paciente, así como la forma en que la GFAP que expresan astrocitos contribuye a la clínica de los pacientes y especialmente por qué mecanismo se puede producir la pérdida mielínica. La pérdida mielínica es básica en la enfermedad, que presenta un cuadro radiológico característico con desmielinización periventricular¹¹ que, en los casos de mayor supervivencia, llega a ser muy intensa, afectando a prácticamente toda la sustancia blanca¹².

La GFAP, aislada y caracterizada por Eng en 1969¹³, es un componente de los filamentos intermedios que se encuentra en los astrocitos junto con vimentina y nestina. Estos filamentos, aunque contribuyen en la estructura de los astrocitos y forman el citoesqueleto junto con los microtúbulos y los microfilamentos, tienen una función importante en la transmisión de señales. La GFAP también está presente en otras células del CNS, como son las células endoteliales, las células de Schwann que no producen mielina en el sistema nervioso periférico y las células de glía entérica, como parte del sistema nervioso entérico.

La GFAP está codificada por un solo gen que se halla en cromosoma humano 17q21, que tiene 9 exones. Existen al menos 10 isoformas que se generan como consecuencia de la selección alternativa de la unión de mRNA y la señal de poliadenilación¹⁴⁻¹⁷. La GFAP- α (isoforma 1) es la isoforma predominante en el cerebro y la médula espinal, pero también se presenta en SNP y tiene los clásicos 432 residuos con el pleno uso de los 9 exones. La GFAP- δ o GFAP- ε (isoforma 2) se expresa preferentemente por astrocitos presentes en nichos neurogénicos, como en la zona subventricular y el hipocampo. La GFAP- δ incluye el uso de un intrón antes del exón-8 y tiene c-terminal alternativo y 431 residuos. La expresión de GFAP- δ se produce en astrocitos reactivos en patología, como en epilepsia, enfermedad de Alzheimer o gliomas. Las demás variantes son menos frecuentes, pero están recibiendo gran atención, porque algunas de ellas se han relacionado con enfermedades neurodegenerativas^{18,19}.

La producción de mielina se realiza a partir de los oligodendrocitos (OL) y es un proceso dinámico que precisa de 3 cambios necesarios: que haya células precursoras de OL (OPC) presentes en el lugar desmielinizado, que se modifique su forma y que se produzcan cambios en su membrana y un microambiente adecuado. Las OPC son formas inmaduras de OL que tras el desarrollo embrionario aún permanecen en el cerebro adulto, constituyendo entre el 5 y el 8% de la población de células gliales en el SNC²⁰ y contribuyen a la renovación de la vaina de mielina, diferenciándose a lo largo de la vida adulta. Estas células OPC pueden expresar algunas proteínas, como son Olig2 o NG2, que las diferencia. Para que exista una mielinización no deben existir unas condiciones que la impidan, como el hecho de que las propias proteínas mielínicas producidas y acumuladas como consecuencia de la desmielinización la impiden a través de la vías de señalización de la proteína cinasa C (PKC) α , del receptor Nogo 1 o la proteína que interactúa Lingo-1 (Nogo receptor interacting protein-1)^{21,22}, así como las semaforinas que desempeñan también un papel importante en la regulación de la remielinización²³. En consecuencia, para poder entender la pérdida mielínica que aparece en los pacientes con AxD, deberíamos considerar mecanismos que pudieran

intervenir en al menos cuatro niveles²⁴: 1) no se generan OPC o no sobreviven; 2) no existen estímulos que favorezcan la maduración de los OL; 3) existen factores inhibitorios locales que evitan la producción de mielina, o 4) existen alteraciones axonales que no son adecuadas para que el axón permita la mielinización. En esta revisión, se analizarán potenciales hipótesis que podrían justificar la alteración de la mielina en los pacientes con AxD.

El mecanismo de ganancia de función de la proteína ácida fibrilar glial

Messing y su grupo han defendido que AxD se produce por el acúmulo de GFAP en astrocitos y que la elevación de la proteína es dañina, tanto la forma mutada como la no mutada²⁵, por lo que han planteado un mecanismo de ganancia de función, similar al que se ha propuesto en otras enfermedades neurodegenerativas, como en las formas SOD1 dependientes de la esclerosis lateral amiotrófica²⁶, aunque este mecanismo empieza a estar en discusión²⁷. La GFAP se agregaría secuestrando las proteínas HSP 27, catepsina y α - β -cristalina, lo que tras una fosforilización y unión a ubiquitina generaría los cuerpos de Rosenthal y ello desencadenaría la lesión astrocitaria²⁸, a la vez que la activación de vías de respuesta al estrés en estos astrocitos^{29,30}, como la activación de la JMK y p38³¹. La disminución de la degradación de la GFAP puede estar relacionada con la disminución de la actividad proteosómica. Para estos autores³², dado que la GFAP tiene una vida media larga in vivo, interferiría en la degradación proteica de la célula de forma prolongada, lo que contribuiría aún más al acúmulo de GFAP³³. Esta hipótesis ha generado un número muy importante de experimentos y modelos, especialmente en ratones que hiperexpresan tanto la GFAP mutada como normal. Tanaka et al.³⁴ han publicado como la producción de un ratón transgénico que tiene cargada la mutación R239H. Messing y su grupo han descrito 2 modelos con ratones que reproduce las fibras de Rosenthal y el acúmulo de proteína. A través de estos modelos se ha conseguido una importante información sobre qué mecanismos se desarrollan como consecuencia del acúmulo de GFAP³⁵⁻⁴⁰. Asimismo, se ha tratado de correlacionar el pronóstico de la enfermedad con la determinación de GFAP en el líquido cefalorraquídeo⁴¹. El principal problema de esta hipótesis es que no se genera desmielinización⁴² (fig. 1 A). Otra cuestión que limita esta hipótesis es que en los gliomas que presentan acúmulo de GFAP y que desarrollan fibras de Rosenthal tampoco hay pérdida mielínica, de forma que existe una duda razonable sobre que el aumento de GFAP puede, por sí solo, explicar la enfermedad.

La alteración epigenética sobre la transcripción

Los niveles de expresión de GFAP están controlados por la actividad del promotor del gen de GFAP, un proceso que depende en gran medida de modificaciones epigenéticas. Durante la iniciación de la astrogénesis en células madre neurales, la desmetilación del promotor de GFAP activa la

transcripción de GFAP⁴³⁻⁴⁶, de forma que la acetilación de histonas controla la expresión de GFAP en la diferenciación de las NSC, dependiendo del estado de diferenciación de la célula^{47,48}. El estado de acetilación de las proteínas histonas está regulado por las enzimas histona acetilasa e histona desacetilasa (HDAC). Kanski et al.⁴⁹ han demostrado que la acetilación de histonas en astrocitos es un importante regulador de la transcripción, así como del splicing alternativo de GFAP. La inhibición de HDAC reduce significativamente la expresión de GFAP en astrocitos humanos primarios, así como en células de astrocitoma. Este mecanismo es relevante, ya que la inhibición de HDAC modifica la proporción entre la transcripción alternativa GFAP- δ y la isoformica constitutiva GFAP- α a favor de la expresión de GFAP- δ , lo que se modifica durante la diferenciación hacia células de estirpe astrocitaria o oligodendrocítica. En este sentido, la inhibición de la actividad HDAC modifica la estructura de los filamentos de GFAP en la célula, tanto en su extensión, localización y grado de agregación. Diferentes estudios han mostrado que las modificaciones en la agregación de la GFAP pueden asociarse a alteraciones en la diferenciación en leucodistrofias⁵⁰⁻⁵², asociándose a diferencias en la expresión de GFAP- δ . Un paciente con AxD, con una mutación en el gen GFAP y una mutación en el gen HDAC6, se asoció con un fenotipo más grave de la enfermedad⁵³ y con una actividad reducida de HDAC6. La hipótesis de estos autores permitiría, en consecuencia, explicar como en la AxD existiría un acúmulo de GFAP y alteraciones en la diferenciación oligodendrocitaria que explicarían la pérdida de mielina (fig. 1 B).

El mecanismo inflamatorio

Olabarria et al. han indicado que AxD podría estar mediada por un mecanismo inflamatorio⁵⁴. En la esclerosis múltiple y en la neuromielitis óptica existe una desmielinización y su origen es inmunitario, y atribuido en parte a mecanismos inflamatorios y al incremento de citocinas proinflamatorias. Kondo et al.⁵⁵ han estudiado células madre pluripotentes inducidas (iPSC), obtenidas de 3 pacientes AxD, con diferentes mutaciones del gen de la GFAP. Los astrocitos derivados de AxD iPSC mostraron agregados citoplasmáticos positivos a GFAP, como las fibras de Rosenthal, pero también mostraron una liberación alterada de citocinas. Algunos artículos han descrito la infiltración linfocítica o la activación microglial en el cerebro de pacientes con AxD^{56,57}, aunque no de forma excesivamente importante. Estos autores han estudiado la expresión de citocinas en modelo de ratones por sobreexpresión de GFAP y en ratones heterocigotos para la mutación R236H de GFAP, detectando la respuesta inflamatoria. Las iPSC procedentes de los pacientes con AxD mostraron un incremento de citocinas proinflamatorias, como GM-CSF, IL-5, IL-6 y factor de necrosis tumoral- α . Asimismo, se ha señalado que la molécula de GFAP puede ser deaminada⁵⁸ y, en ese caso, se ha observado que podría evocar una respuesta autoinmune⁵⁹. Por todo ello, estos autores han indicado que un proceso neuroinflamatorio puede estar involucrado en la patogénesis de AxD y que la pérdida mielínica podría tener un mecanismo inmunitario, como ocurre en la esclerosis múltiple (fig. 1 C).

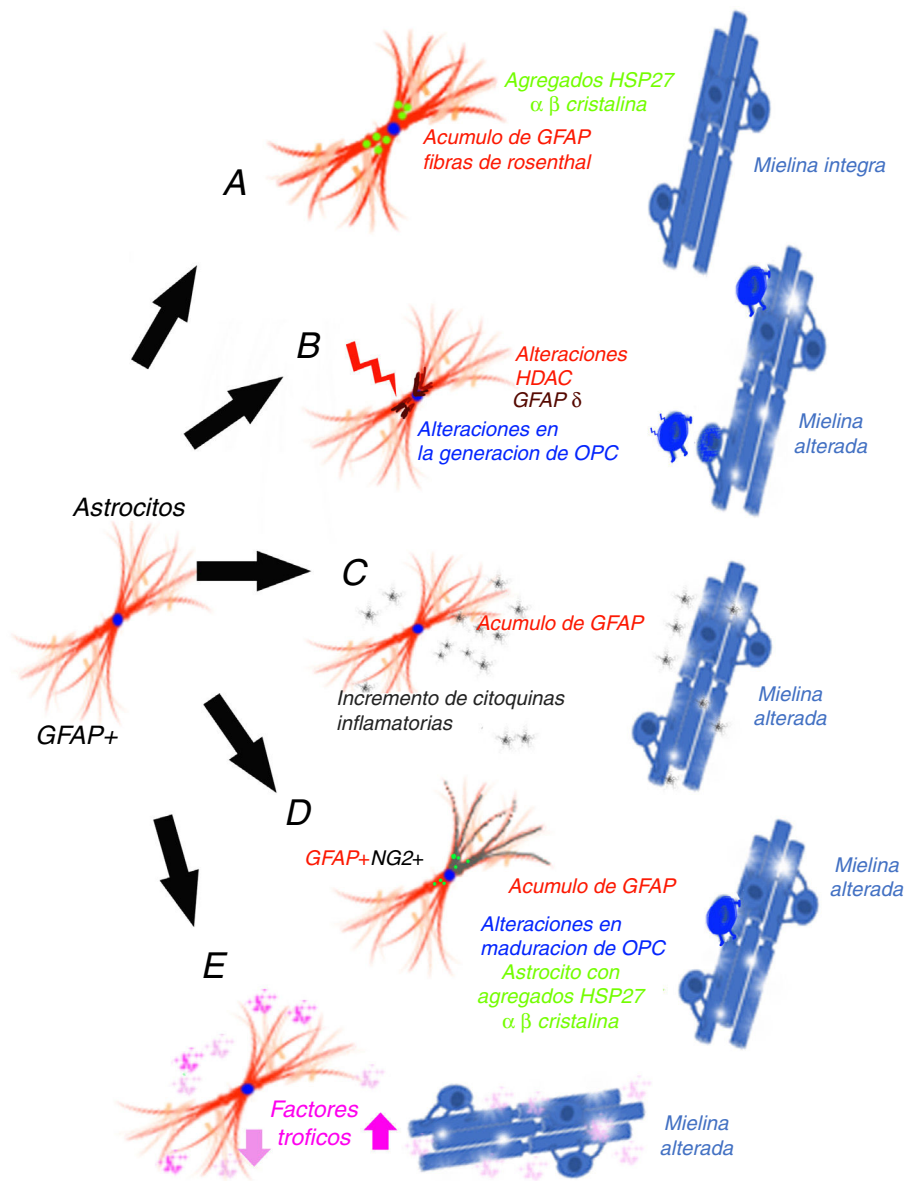


Figura 1 Esquema de las hipótesis en la enfermedad de Alexander. A) El mecanismo de ganancia de función de la GFAP. B) La alteración epigenética sobre la transcripción. C) El mecanismo inflamatorio. D) Las células GFAP (+)/NG2 (+). E) Las alteraciones postranscripcionales de la GFAP.

Las células GFAP (+)/NG2 (+)

Las células gliales NG2 (+)^{60,61}, también llamadas sinantocitos⁶² o polidendrocitos⁶³, representan el 8-9% de las células en la sustancia blanca y el 2-3% de las células de la sustancia gris⁶⁴, y fueron inicialmente identificadas como células progenitoras Olig 2⁶⁵, ya que se diferenciaban en OL⁶⁶⁻⁷⁰. En realidad, son OPC capaces de recibir entrada sináptica que puede regular su destino celular. Estas células también pueden extender los procesos al nodo de Ranvier y pueden transformarse en astrocitos reactivos en condiciones patológicas y en cultivos celulares^{71,72}. Representan, por tanto, un estadio de transición entre los OL y los astrocitos⁷³. Existen células NG-2 (+) con GFAP (+) en determinadas situaciones patológicas, como en el área que rodea

la desmielinización en esclerosis múltiple⁷⁴, y también se han descrito la presencia de GFAP (+) en células de estirpe oligodendrocitaria en leucodistrofias, alteraciones mielínicas de origen viral o inmunitario⁷⁵⁻⁷⁷. En el ratón que hiperexpresa GFAP mutada, se han hallado alteraciones en la neurogénesis hipocámpica⁷⁸. El grupo del que forman parte los autores de este artículo han coincidido en este hallazgo en un modelo celular tras la transfección de mutaciones de AxD⁷⁹. La expresión de GFAP en las células de Schwann genera que estas células se comporten funcionalmente como astrocitos y no generen mielina⁸⁰. La expresión de GFAP se ha hallado en células del linaje oligodendroglial en fases iniciales y la expresión de NG2 en células que se diferenciarán a astrocitos⁸¹⁻⁸⁴, y la coexistencia de GFAP (+)/NG-2 (+) en células hace muy difícil señalar si es un OL o un astrocito. El

trasplante de células OPC en el SNC sin glía genera simultáneamente OL y astrocitos⁸⁵. La persistencia de GFAP (+) en células que deberían diferenciarse hacia la estirpe oligodendrocitaria justificaría el acúmulo de la proteína y la ausencia de generación de mielina (fig. 1 D). Es muy probable que la persistencia de GFAP (+) en células NG2 (+) y, en consecuencia, en la dirección a una estirpe pueda depender de la isoforma de GFAP o de factores relacionados con el microambiente en que se desarrolla el proceso de maduración.

Las alteraciones postranscripcionales de la GFAP

Los astrocitos son células altamente secretoras de factores tróficos⁸⁶, algunos de ellos influyen en la mielinización. En algunos modelos experimentales se ha demostrado que BDNF influye en la proliferación y remielinización^{87,88}, y es posible que la interacción astrocito-OL sea esencial en la generación de mielina^{89,90}. Los experimentos de cultivo celular proporcionan evidencia directa de que el BDNF astrocítico promueve la maduración de OPC y los datos in vivo muestran que los ratones transgénicos con baja regulación de BDNF en astrocitos presentan menos oligodendrogénesis. Otros factores de crecimiento, como CNTF,⁹¹ FGF, TGF β o GDNF, así como receptores nucleares, pueden modificar la activación de la transcripción del gen de la GFAP⁹². Yang y Wang han revisado exhaustivamente y han llamado la atención de la complejidad de los mecanismos que se desarrollan tras la transcripción de la GFAP⁹³. La GFAP está sometida a una serie de modificaciones postraduccionales, altamente regulada por las proteínas cinasas, de forma que modificaciones específicas sobre la propia molécula, debidas a cambios genéticos o al microambiente, pueden influir en función de los astrocitos y podrían intervenir en la mielinización (fig. 1 E).

Conclusión

El mecanismo de ganancia de función permitía albergar esperanzas del hallazgo de un fármaco que, descendiendo la expresión de GFAP, produjera la mejora de los pacientes. En este sentido, la búsqueda de una terapéutica potencialmente efectiva, a través de modelos celulares o en los ratones que hiperexpresan GFAP, ha sido intensa^{94,95}. La cuestión básica es que si los cambios producidos por el aumento de GFAP, aunque sean deletéreos, son secundarios, estas terapéuticas serían sintomáticas, y en una enfermedad que probablemente se inicia durante el desarrollo o en el periodo neonatal serían insuficientes.

Las diferentes hipótesis planteadas pueden explicar la alteración de la mielina que aparece en los pacientes y que debe ser relevante y algunas de ellas pueden presentarse relacionadas. La posibilidad de utilizar terapéuticas que modifiquen los mecanismos epigenéticos⁹⁶ parece muy razonable y de enorme vigencia, y ya se están realizando ensayos clínicos en el cáncer⁹⁷. Asimismo, la actuación sobre la diferenciación de las células inmaduras hacia las estirpes

astrocitaria y oligodendrocitaria podría plantearse como una línea potencialmente terapéutica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que este artículo se ha realizado en ausencia de relaciones comerciales o financieras que pudieran interpretarse como un posible conflicto de intereses.

Agradecimientos

A la Fundación Ayuda-Juanma (www.ayudajuanma.es), por el patrocinio económico de la línea de investigación sobre AxD en el Hospital Clínico San Carlos.

Bibliografía

- Alexander WS. Progressive fibrinoid degeneration of fibrillary astrocytes associated with mental retardation in a hydrocephalic infant. *Brain*. 1949;72:373–81.
- Wippold II, Perry A, Lennerz J. Neuropathology for the neurologist: Rosenthal fibers. *Am J Neuroradiol*. 2006;27:9508–961.
- Tomokane N, Iwaki T, Tateishi J, Awaki A, Goldman JE. Rosenthal fibers share epitopes with alfa-B-crystallin, glial fibrillary acid protein and ubiquitin, but not vimentin: Immunoelectron microscopy with colloidal gold. *Am J Pathol*. 1991;138:875–85.
- Head MW, Corbin E, Goldman JE. Overexpression an abnormal modification of the stress proteins alpha-B-crystallin and HSP27 in Alexander disease. *Am J Pathol*. 1993;143:1743–53.
- Zatloukal K, Stumptner C, Fuchsbichler A, Heid H, Schnoelzer M, Kenner L, et al. p62 is a common component of cytoplasmic inclusions in protein aggregation diseases. *Am J Pathol*. 2002;160:255–63.
- Russo LS, Aron A, Anderson PJ. Alexander's disease. A report and repressail. *Neurology*. 1976;26:607–14.
- Neal JW, Cave EM, Singhrao SK, Cole G, Wallace SL. Alexander's disease in infancy and childhood: A report of two cases. *Acta Neuropathol*. 1992;84:322–7.
- Deprez M, d'Hooghe M, Misson JP, de Leval I, Ceuterick C, Reznik M, et al. Infantile and juvenile presentation of Alexander's disease: A report of two cases. *Acta Neurol Scand*. 1999;99:158–65.
- Li R, Johnson AB, Salomons G, Goldman JE, Naidu S, Quinlan R, et al. Glial fibrillary acidic proteins mutations in infantile, juvenile, and adult forms of Alexander's disease. *Ann Neurol*. 2005;53:310–26.
- Li R, Johnson AB, Salomons GS, Vn der Knaap MS, Rodriguez D, Boespflug-Tamguy O, et al. Propensity for pattern inheritance of the novo mutations in Alexander's disease. *Hum Genet*. 2006;119:137–44.
- Van der Knaap MS, Naidu S, Breiter SN, Blaser S, Stroink H, Springer S. Alexander disease: Diagnosis with MR imaging. *Am J Neuroradiol*. 2001;22:541–52.
- Shiuhara T, Yoneda T, Mizuta I, Yoshida T, Nakagawa M, Shimizu N. Serial MRI changes in a patient with infantile Alexander disease and prolonged survival. *Brain Dev*. 2011;33:604–7.
- Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res*. 2000;25:1439–51.
- Hol EM, Roelofs RF, Moraal E, Sonnemans MA, Sluijs JA, Proper AE, et al. Neuronal expression of GFAP in patients with Alzheimer pathology and identification of

- novel GFAP splice forms. *Mol Psychiat.* 2003;8:786–96, <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001379>.
15. Blechinger J, Lykke-Andersen S, Jensen TH, Jorgensen AL, Nielsen AL. Regulatory mechanisms for 3'-end alternative splicing and polyadenylation of the glial fibrillary acidic protein, GFAP, transcript. *Nucleic Acids Res.* 2007;35:7636–50.
 16. Nielsen AL, Holm IE, Johansen M, Bonven B, Jorgensen P, Jorgensen AL. A new splice variant of glial fibrillary acidic protein, GFAP epsilon, interacts with the presenilin proteins. *J Biol Chem.* 2002;277:29983–91.
 17. Kamphuis W, Mamber C, Moeton M, Kooijman L, Sluijs JA, Jansen AH, et al. GFAP isoforms in adult mouse brain with a focus on neurogenic astrocytes and reactive astrogliosis in mouse models of Alzheimer disease. *PLoS One.* 2012;7:e42823.
 18. Kamphuis W, Middeldorp J, Kooijman L, Sluijs JA, Kooi EJ, Moeton M, et al. Glial fibrillary acidic protein isoform expression in plaque related astrogliosis in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2014;35:492–510.
 19. Hol EM, Roelofs RF, Moraal E, Sonnemans MA, Sluijs JA, Proper EA, et al. Neuronal expression of GFAP in patients with Alzheimer pathology and identification of novel GFAP splice forms. *Mol Psychiat.* 2003;8:786–96.
 20. Levine JM, Reynolds R, Fawcett JW. The oligodendrocyte precursor cell in health and disease. *Trends Neurosci.* 2001;24:39–47.
 21. Lau LW, Cua R, Keough MB, Haylock-Jacobs S, Yong VW. Pathophysiology of the brain extracellular matrix: A new target for remyelination. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14:722–9.
 22. Harlow DE, Macklin WB. Inhibitors of myelination: ECM changes, CSPGs and PTPs. *Exp Neurol.* 2014;251:39–46.
 23. Sandvig A, Berry M, Barrett LB, Butt A, Logan A. Myelin-, reactive glia-, and scar-derived CNS axon growth inhibitors: Expression, receptor signaling, and correlation with axon regeneration. *Glia.* 2004;46:225–51.
 24. Matías-Guiu J, Gomez-Pinedo U, Matias-Guiu JA. News in multiple sclerosis: Remyelination as a therapeutic target. *Med Clin (Barc).* 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2016.10.021>.
 25. Cho W, Messing A. Properties of astrocytes cultured from GFAP over-expressing and GFAP mutant mice. *Exp Cell Res.* 2009;315:1260–72.
 26. Matias-Guiu J, Galan L, Garcia-Ramos R, Barcia JA. Superoxide dismutase: The cause of all amyotrophic lateral sclerosis? *Ann Neurol.* 2008;64:356–7.
 27. Gómez-Pinedo U, Villar-Quiles RN, Galán L, Matías-Guiu JA, Benito-Martin MS, Guerrero-Sola A, et al. Immununochemical markers of the amyloid cascade in the hippocampus in motor neuron diseases. *Front Neurol.* 2016;7:195.
 28. Der Pong M, Su M, Fang Wen S, Li R, Gibbon T, Prescott AR, et al. The Alexander disease- causing glial fibrillary acid protein mutant, R416W, accumulates into Rosenthal fibers by a pathway that involves filament aggregation and the association of alfa-B cristalin and HSP 27. *Am J Hum Gen.* 2006;79:197–213.
 29. Hagemann TL, Connor JX, Messing A. Alexander disease-associated glial fibrillary acidic protein mutations in mice induce Rosenthal fiber formation and a white matter stress response. *J Neurosci.* 2006;26:11162–73.
 30. Hagemann TL, Gaeta SA, Smith MA, Johnson DA, Johnson JA, Messing A. Gene expression analysis in mice with elevated glial fibrillary acidic protein and Rosenthal fibers reveals a stress response followed by glial activation and neuronal dysfunction. *Hum Mol Genet.* 2005;14:2443–58.
 31. Tang G, Xu Z, Goldman JE. Synergistic effects of the SAPK/JNK and the proteasome pathway on glial fibrillary acidic protein (GFAP) accumulation in Alexander disease. *J Biol Chem.* 2006;281:38634–43.
 32. Quintan RA, Brenner M, Goldman JE, Messing A. GFAP and its role in Alexander disease. *Exp Clin Res.* 2007;313:2077–87.
 33. Liem RK, Messing A. Dysfunctions of neuronal and glial intermediate filaments in disease. *J Clin Invest.* 2009;119:1814–24.
 34. Tanaka KH, Takebayashi H, Yamazaki Y, Ono K, Naruse M, Iwasato T, et al. Murine model of alexander disease: Analysis of GFAP aggregate formation and its pathological significance. *Glia.* 2007;55:617–31.
 35. Tian R, Gregor M, Wiche G, Goldman JE. Plectin regulates the organization of glial fibrillary acidic protein in Alexander disease. *Am J Pathol.* 2006;168:888–97.
 36. Hagemann TL, Jobe EM, Messing A. Genetic ablation of Nrf2/antioxidant response pathway in Alexander disease mice reduces hippocampal gliosis but does not impact survival. *PLoS One.* 2012;7:e37304.
 37. LaPash Daniels CM, Austin EV, Rockney DE, Jacka EM, Hagemann TL, Johnson DA, et al. Beneficial effects of Nrf2 overexpression in a mouse model of Alexander disease. *J Neurosci.* 2012;32:10507–15.
 38. Tang G, Xu Z, Goldman JE. Synergic effects of the SAPK/JNK and the proteasome pathway on glial fibrillary acidic protein (GFAP) accumulation in Alexander disease. *J Biol Chem.* 2006;281, 38634–38643.
 39. Chen MH, Hagemann TL, Quinlan RA, Messing AB, Perng MD. Caspase cleavage of GAP produces an assembly-compromised proteolytic fragment that promotes filament aggregation. *ASN Neurol.* 2013;5:e00125.
 40. Meisinger TW, Risa O, Brenner M, Messing A, Sonnewald U. Alteration of glial-neuronal metabolic interactions in a mouse model of Alexander disease. *Glia.* 2010;58:1228–34.
 41. Jany PL, Agosta GE, Benko WS, Eickhoff JC, Keller SR, Köehler W, et al. CSF and Blood Levels of GFAP in Alexander Disease. *eNeuro.* 2015;5:2.
 42. Hagemann TL, Connor JX, Messing A. Alexander disease-associated glial fibrillary acidic protein mutations in mice induced rosenthal fiber formation and a white matter stress response. *J Neurosci.* 2006;26:11162–73.
 43. Takizawa T, Nakashima K, Namihiro M, Ochiai W, Uemura A, Yanagisawa, et al. DNA methylation is a critical cell-intrinsic determinant of astrocyte differentiation in the fetal brain. *Dev Cell.* 2001;1:749–58.
 44. Fan G, Martinowich K, Chin MH, He F, Fouse SD, Hutnick L, et al. DNA methylation controls the timing of astrogliogenesis through regulation of JAK-STAT signaling. *Develop.* 2005;132:3345–56.
 45. Namihiro M, Kohyama J, Semi K, Sanosaka T, Deneen B, Taga T, et al. Committed neuronal precursors confer astrocytic potential on residual neural precursor cells. *Dev Cell.* 2009;16:245–55.
 46. Kanski R, van Strien ME, van Tijn P, Hol EM. A star is born: new insights into the mechanism of astrogenesis. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71:433–47.
 47. Asano H, Aonuma M, Sanosaka T, Kohyama J, Namihiro M, Nakashima K. Astrocyte differentiation of neural precursor cells is enhanced by retinoic acid through a change in epigenetic modification. *Stem Cells.* 2009;27:2744–52, <http://dx.doi.org/10.1002/stem.176>.
 48. Zhou Q, Dalgard CL, Wynder C, Doughty ML. Histone deacetylase inhibitors SAHA and sodium butyrate block G1-to-S cell cycle progression in neurosphere formation by adult subventricular cells. *BMC Neurosci.* 2011;12:50.
 49. Kanski R, Sneeboer MA, van Bodegraven EJ, Sluijs JA, Kropff W, Vermunt MW, et al. Histone acetylation in astrocytes suppresses GFAP and stimulates a reorganization of the intermediate filament network. *J Cell Sci.* 2014;127:4368–80.
 50. Mignot C, Boespflug-Tanguy O, Gelot A, Dautigny A, Pham-Dinh D, Rodriguez D. Alexander disease: Putative mechanisms of an astrocytic encephalopathy. *Cell Mol Life Sci.* 2004;61:369–85.
 51. Bugiani M, Boor I, van Kollenburg B, Postma N, Polder E, van Berkel C, et al. Defective glial maturation in vanishing white matter disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2011;70:69–82.

52. Huyghe A, Horzinski L, Hénaut A, Gaillard M, Bertini E, Schiffmann R, et al. Developmental splicing deregulation in leukodystrophies related to EIF2B mutations. *PLoS ONE*. 2012;7:e38264.
53. Melchionda L, Fang M, Wang H, Fugnanesi V, Morbin M, Liu X, et al. Adult-onset alexander disease, associated with a mutation in an alternative GFAP transcript, may be phenotypically modulated by a non-neutral HDAC6 variant. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:66.
54. Olabarria M, Putilina M, Riemer EC, Goldman JE. Astrocyte pathology in Alexander disease causes a marked inflammatory environment. *Acta Neuropathol*. 2015;130:469–86.
55. Kondo T, Funayama M, Miyake M, Tsukita K, Era T, Osaka H, et al. Modeling Alexander disease with patient iPSCs reveals cellular and molecular pathology of astrocytes. *Acta Neuropathol Commun*. 2016;4:69.
56. Russo LSJ, Aron A, Anderson PJ. Alexander's disease: A report and reappraisal. *Neurology*. 1976;26:607–14.
57. Towfighi J, Young R, Sassani J, Ramer J, Horoupian DS. Alexander's disease: Further light-, and electron-microscopic observations. *Acta Neuropathol*. 1983;61:36–42.
58. György B, óth E, Tarcza E, Falus A, Buzás EI. Citrullination: A posttranslational modification in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38:1662–77.
59. Romero V, Fert-Bober J, Nigrovic PA, Darrah E, Haque UJ, Lee DM, et al. Immune-mediated pore-forming pathways induce cellular hypercitrullination and generate citrullinated autoantigens in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med*. 2013;5, 209ra150.
60. Nishiyama A, Yang Z, Butt A. Astrocytes and NG2-glia: What's in a name? *J Anat*. 2005;207:687–93.
61. Wigley R, Hamilton N, Nishiyama A, Kirchhoff F, Butt AM. Morphological and physiological interactions of NG2-glia with astrocytes and neurons. *J Anat*. 2007;210:661–70.
62. Butt AM, Hamilton N, Hubbard P, Pugh M, Ibrahim M. Synantocytes: The fifth element. *J Anat*. 2005;207:695–706.
63. Nishiyama A. Polidendrocytes: NG2 cells with many roles in development and repair in CNS. *Neuroscientist*. 2007;1:62–76.
64. Dawson MR, Polito A, Levine JM, Reynolds R. NG2-expressing glial progenitor cells: An abundant and widespread population of cycling cells in the adult rat CNS. *Mol Cell Neurosci*. 2003;24:476–88.
65. Raff MC, Miller RH, Noble M. A glial progenitor cell that develops in vitro into an astrocyte or an oligodendrocyte depending on culture medium. *Nature*. 1983;303:390–6.
66. Horner PJ, Power AE, Kempermann G, Kuhn HG, Palmer TD, Winkler J, et al. Proliferation and differentiation of progenitor cells throughout the intact adult rat spinal cord. *J Neurosci*. 2000;20:2218–28.
67. Nishiyama A, Watanabe M, Yang Z, Bu J. Identity, distribution, and development of oligodendrocytes: NG2-expressing glial cells. *J Neurocytol*. 2002;31:437–55.
68. Bu J, Banki A, Wu Q, Nishiyama A. Increased NG2+ glial cell proliferation and oligodendrocyte generation in the hypomyelinating mutant shiverer. *Glia*. 2004;48:51–63.
69. Reynolds R, Dawson M, Papadopoulos D, Polito A, di Bello IC, Pham-Dinh D, et al. The response of NG2-expressing oligodendrocyte progenitors to demyelination in MOG-EAE and MS. *J Neurocytol*. 2002;31:523–36.
70. Polito A, Reynolds R. NG2-expressing cells as oligodendrocyte progenitors in the normal and demyelinated adult central nervous system. *J Anat*. 2005;207:707–17.
71. Leoni G, Rattray M, Butt AM. NG2 cells differentiate into astrocytes in cerebellar slices. *Mol Cell Neurosci*. 2009;42:208–18.
72. Honsa P, Pivonkova H, Dzamba D, Filipova M, Anderova M. Polydendrocytes display large lineage plasticity following focal cerebral ischemia. *PLoS ONE*. 2012;7:e36816.
73. Zhu X, Bergles DE, Nishiyama A. NG2 cells generate both oligodendrocytes and gray matter astrocytes. *Development*. 2008;135:145–57.
74. Nair A, Frederick TJ, Miller SD. Astrocytes in multiple sclerosis: A product of their environment. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65:2702–20.
75. Godfraind C, Friedrich VL, Holmes KV, Dubois-Dalcq M. Dubois-Dalcq: In vivo analysis of glial cell phenotypes during a viral demyelinating disease in mice. *J Cell Biol*. 1989;109:2405–16.
76. Carroll WM, Jennings AR, Mastaglia FL. Reactive glial cells in CNS demyelination contain both GC and GFAP. *Brain Res*. 1987;411:364–9.
77. Dyer CE, Kendler A, Philibotte T, Gardiner P, Cruz J, Levy HL. Evidence for central nervous system glial cell plasticity in phenylketonuria. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1966;55:795–814.
78. Hagemann TL, Paylor R, Messing A. Deficits in adult neurogenesis, contextual fear conditioning, and spatial learning in a Gfap mutant mouse model of Alexander disease. *J Neurosci*. 2013;33:18698–706.
79. Duran M. Efecto de las mutaciones de GFAP sobre la diferenciación de la estirpe oligodendrocitaria. TFM. Dirección, JM. García-Verdugo, J. Matias-Guiu. Trabajo de Fin de Master, Universidad de Valencia, España, 2011.
80. Mokuno K, Kamholz J, Behrman T, Black C, Sessa M, Feinstein D, et al. Neuronal modulation of Schwann cell glial fibrillary acidic protein (GFAP). *J Neurosci Res*. 1989;23:396–405.
81. Alghamdi B, Fern R. Phenotype overlap in glial cell populations: Astroglia, oligodendroglia and NG-2(+) cells. *Front Neuroanat*. 2015;9:49.
82. Choi BH, Kim RC. Expression of glial fibrillary acidic protein in immature oligodendroglia. *Science*. 1984;223:407–9.
83. Choi BH, Kim RC. Expression of glial fibrillary acidic protein by immature oligodendroglia and its implications. *J Neuroimmunol*. 1985;8:215–35.
84. Choi BH. Glial fibrillary acidic protein in radial glia of early human-fetal cerebrum —a light and electron-microscopic immunoperoxidase study. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1986;45:408–18.
85. Windrem MS, Nunes MC, Rashbaum WK, Schwartz TH, Goodman RA, McKhann G II, et al. Fetal and adult human oligodendrocyte progenitor cell isolates myelinate the congenitally dysmyelinated brain. *Nat Med*. 2004;10:93–7.
86. Guíllamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. Astrocytes in neurodegenerative diseases: Function and molecular description. *Neurologia*. 2015;30:119–29.
87. Ramos-Cejudo J, Gutiérrez-Fernández M, Otero-Ortega L, Rodríguez-Frutos B, Fuentes B, Vallejo-Cremades MT, et al. Brain-derived neurotrophic factor administration mediated oligodendrocyte differentiation and myelin formation in subcortical ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46:221–8.
88. Fulmer CG, vonDran MW, Stillman AA, Huang Y, Hempstead BL, Dreyfus CF. Astrocyte-derived BDNF supports myelin protein synthesis after cuprizone-induced demyelination. *J Neurosci*. 2014;34:8186–96.
89. Miyamoto N, Maki T, Shindo A, Liang AC, Maeda M, Egawa N, et al. Astrocytes promote oligodendrogenesis after white matter damage via brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci*. 2015;35:14002–8.
90. Djalali S, Hölte M, Grosse G, Rothe T, Stroh T, Grosse J, et al. Effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on glial cells and serotonergic neurones during development. *J Neurochem*. 2005;92:616–27.
91. Levison SW, Hudgins SN, Crawford JL. Ciliary neurotrophic factor stimulates nuclear hypertrophy and increases the GFAP content of cultured astrocytes. *Brain Res*. 1998;803:189–93.
92. Uzdensky A, Komandirov M, Fedorenko G, Lobanov A. Protection effect of GDNF and neurturin on photosensitized crayfish neurons and glial cells. *J Mol Neurosci*. 2012;49:480–90.

93. Yang Z, Wang KK. Glial fibrillary acid protein: from intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends Neurosci.* 2015;38:364–74.
94. Cho W, Brenner M, Peters N, Messing A. Drug screening to identify suppressors of GFAP expression. *Hum Mol Genet.* 2010;9:3169–78.
95. Bachetti T, di Zanni E, Balbi P, Bocca P, Prigione I, Deiana GA, et al. In vitro treatments with ceftriaxone promote elimination of mutant glial fibrillary acidic protein and transcription down-regulation. *Exp Cell Res.* 2010;316:2152–65.
96. Afshinnekoo E, Mason CE. Epigenetic therapy in a new era of medicine: Creating and integrating molecular profiles of patients. *Ann Transl Med.* 2016;4:436.
97. Song SH, Han SW, Bang YJ. Epigenetic-based therapies in cancer: Progress to date. *Drugs.* 2011;71:2391–403.