



People who care

El pasado día 22 de mayo se realizó la XII Jornada Científica en ELA en la Universidad Complutense de Madrid, cuyo objetivo era aunar esfuerzos entre profesionales, alumnos, pacientes y familiares. En esta jornada se recogió los logros conseguidos y planteados en la jornada de 2008, destacando fundamentalmente la puesta en marcha de un modelo experimental y la colaboración de alumnos del área de neurobiosanitaria de la universidad, con las Unidades de ELA de los Hospitales Carlos III y 12 de Octubre, ambos de la Comunidad de Madrid.

Este boletín es un número especial, ya que lo hemos editado con algunas de las ponencias expuestas en la XII Jornada y con un resumen del 7th Congreso Europeo de ELA, celebrado en la ciudad de Turín, al que FUNDELA extendió una beca a Ana Macias, fisioterapeuta, interesada en su formación específica en ELA y en realizar investigación en este campo.

A través de este documento queremos recordarles que el día 21 DE JUNIO es el "DIA MUNDIAL DEL LA ELA", fecha en la que todos juntos debemos luchar para que la ELA tenga un tratamiento efectivo

Maite Solas



ALS/MND

Global Awareness Day

21 June

## Sumario

### Resúmenes de artículos científicos y noticias

02

EDITORIAL

04

INHIBIDORES DE GSK-3  
y ELA

DESARROLLO DE UN  
FÁRMACO: DESDE EL  
LABORATORIO...

05

DESARROLLO DE UN  
FÁRMACO: HASTA LA  
FARMACIA...

MODELOS ANIMALES  
EN LA ESCLEROSIS  
LATERAL AMIOTRÓFICA.

07

DESARROLLO  
EXPERIMENTAL DE UN  
MODELO ANIMAL DE  
ELA.

10

TDP-43 y ELA.

11

RESUMEN DEL  
7º CONGRESO  
DE JÓVENES  
INVESTIGADORES EN  
ELA. TURÍN, 22-24 DE  
MAYO.

15

NOTICIAS

# ALS/MND

## World Awareness Day

### 21 June

# RESÚMENES DE ARTICULOS CIENTÍFICOS EXPUESTOS EN LA REUNIÓN DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID Y EN EL 7th CONGRESO EUROPEO DE ELA

## INHIBIDORES DE GSK-3 y ELA.

La glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3) es una Ser/Ther quinasa expresada en numerosos tipos de tejidos e implicada en varias rutas de señalización celular. Aunque se conoce desde hace más de treinta años, por ser el último enzima de la síntesis del glucógeno, recientemente se ha estudiado su función en diversas patologías y ha cobrado un papel muy relevante como diana farmacológica excelente para enfermedades tan severas como la diabetes tipo II, los procesos inflamatorios crónicos, los desordenes bipolares, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. Por tanto los inhibidores selectivos de GSK-3, se perfilan como fármacos muy prometedores en el tratamiento eficaz de estos procesos patológicos para las que actualmente no se dispone de un arsenal terapéutico adecuado.

En los últimos cinco años, se ha comenzado a investigar la posible relación de GSK-3 y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) encontrándose datos muy interesantes hasta el momento. Se ha demostrado un aumento de función de este enzima en los tejidos de los pacientes, tanto en cerebro como en médula espinal. Además, se ha demostrado en modelos animales de ELA esporádico como el tratamiento crónico con inhibidores de GSK-3 aumenta el tiempo en la aparición de los síntomas clínicos de la patología, así como disminuye la muerte de las motoneuronas. Un pequeño estudio clínico llevado a cabo el pasado año, demostró que el tratamiento con litio, inhibidor de GSK-3 entre otros mecanismos de acción, en pacientes de ELA producía una modificación del proceso neurodegenerativo.

En esta pequeña ponencia se presentaron los datos científicos que apuntan hacia GSK-3 como una nueva diana farmacológica para la ELA y a sus inhibidores como potenciales fármacos modificadores de la neurodegeneración. Simultáneamente, se propondrán ideas para la investigación y desarrollo en esta línea de trabajo que nos permitan poder ofrecer candidatos a fármacos válidos para un futuro desarrollo clínico.

**Dra. Ana Martínez**  
Instituto de Química Médica. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)  
Madrid.

## DESARROLLO DE UN FÁRMACO: DESDE EL LABORATORIO...

La química médica es una ciencia multidisciplinar que abarca tanto la síntesis orgánica, como la farmacología, la biología molecular, la bioinformática o la química combinatoria cuyo objetivo es el desarrollo de nuevos fármacos.

El desarrollo de nuevos fármacos estuvo marcado en sus comienzos fundamentalmente por el desarrollo de la síntesis orgánica y la farmacología, recibiendo posteriormente un impulso gracias al desarrollo de la bioquímica, química orgánica-física, y la química computacional, que permitió el diseño de fármacos basándose en la estructura de los mismos. En la década de los 90, la química médica sufrió una importante transformación debido al espectacular desarrollo de la biología molecular, a los métodos de ensayo de alto rendimiento (High Throughput Screening, HTS) y a la síntesis de bibliotecas combinatorias, que han permitido acelerar de forma notable el proceso de descubrimiento de nuevas cabezas de serie. Hoy día, el diseño de nuevos fármacos está no sólo basado en la estructura de los mismos y su posible interacción con la diana biológica, sino que también incluye la búsqueda de unas propiedades farmacocinéticas favorables en los estadios iniciales del proceso de búsqueda de nuevos fármacos.

La búsqueda de fármacos necesita entre 10-15 años desde que se identifica un cabeza de serie frente a una diana concreta hasta que ese compuesto se pone en el mercado. El desarrollo de un nuevo fármaco comienza con la elección de una diana terapéutica y los ensayos biológicos correspondientes que llevan a la identificación de un compuesto activo que puede considerarse como cabeza de serie. Las propiedades de este cabeza de serie son posteriormente mejoradas en el proceso de optimización, tras el cual la molécula entra en las fases de desarrollo clínico. Superadas éstas con éxito, el cabeza de serie optimizado es comercializado.

**Dra. Carmen Gil**  
Instituto de Química Médica. Consejo Superior de Investigación Científica (CSIC)

## DESARROLLO DE UN FÁRMACO: HASTA LA FARMACIA...

El desarrollo clínico de un fármaco es un proceso complejo y largo. Desde que se obtiene una molécula con posibilidad de tener una acción farmacológica eficaz para una enfermedad, hasta que se logra su autorización para ser comercializada pueden pasar entre 8-10 años. La mayoría de este tiempo se emplea en el desarrollo clínico del fármaco; es decir en la realización de los ensayos clínicos en humanos con objeto de probar su seguridad y su eficacia. Este desarrollo se puede "temporizar" en diferentes Fases, que van desde Fase I donde el objetivo es comprobar la seguridad del fármaco en investigación, generalmente en sujetos sanos, hasta la Fase IV que son los ensayos que se realizan una vez que el fármaco está ya comercializado, pero que siguen aportando información relevante sobre su funcionamiento, uso y comercialización en el mundo real. La inversión requerida para este largo proceso puede alcanzar los 800 millones de euros y comporta un elevado riesgo, ya que se estima que sólo 1 de cada 10.000 moléculas con posibilidad terapéutica alcanza el mercado. En el caso de tratamientos para enfermedades raras, como la Esclerosis lateral amiotrófica, el número de pacientes que se beneficiarán de su desarrollo no es elevado y por tanto el riesgo de no recuperar la inversión realizada o alcanzar los beneficios esperados es aún mayor. Por ello, las ayudas públicas o de fundaciones son necesarias para promover y facilitar las inversiones tanto en la investigación como el desarrollo de tratamientos para estas enfermedades. También son necesarios equipos altamente cualificados y procesos de gestión eficientes que disminuyan el tiempo de desarrollo, para poder dar respuesta a los pacientes y familiares que sufren este tipo de enfermedades y que esperan, necesitan y merecen disponer de tratamientos eficaces.

**Dra. Viñas Andrés Simón**  
**Responsable de Proyectos Clínicos. Noscira S.A.**

## MODELOS ANIMALES EN LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA.

La mayor parte de los modelos utilizados en la ELA son ratones transgénicos que sobreexpresan el gen humano mutante SOD1 que codifica por el enzima superóxido dismutasa citosólica dependiente de Cu y Zn.

Estos ratones tienen un fenotipo muy similar, aunque no exactamente igual al de la ELA en el humano adulto. Probablemente el más utilizado de los ratones transgénicos es el que expresa la mutación humana G93A. Estos ratones inician la clínica parálitica generalmente entre los días 90 y 120, cuando se detecta la debilidad en las patas traseras generalmente precedida de temblor en las extremidades. Hacia el día 130 aparece la parálisis de las cuatro extremidades. Aunque estos animales tienen siempre un menor peso que los no portadores de la mutación, hacia el día 111 se produce una pérdida de peso significativa. La muestra de estos ratones se produce como media en el día 136.

En este modelo se han estudiado también las alteraciones neurofisiológicas. Así se ha determinado que la primera alteración electrofisiológica aparece entre el día 60 y el día 90 de la vida, y consiste en la reducción de la amplitud de los potenciales de acción muscular complejos (CMAP). Las alteraciones son especialmente importantes hacia el día 100 de vida en que se produce una reducción del 80% de los potenciales musculares compuestos. El número de unidades motoras en el músculo gastrocnemio se reduce progresivamente, siendo de un 18% del basal hacia el día 120. Después del día 120 se produce un prolongamiento de las latencias distales motoras. Estas alteraciones sugieren que las alteraciones iniciales se deben a una pérdida de axones motores, y sólo en las fases finales existe una alteración de la mielinización.

Este modelo presenta alteraciones neuropatológicas muy similares a las de la ELA. Así se puede observar en ellos cambios patológicos muy precoces hacia el día 37, momento en el que se pueden ver las neuronas motoras vacuolizadas. Estas vacuolas corresponden ultraestructuralmente a mitocondrias edematosas. Hacia el día 90, cuando se inicia la clínica, empieza a ser evidente la pérdida de motoneuronas del asta anterior de la médula y el tronco cerebral, que

# People who care

es progresiva, de manera que en el día 136 hay una pérdida del 50% de las neuronas motoras cervicales. Además de la pérdida neuronal, en los estadios finales se produce atrofia del asta anterior y depósito de inclusiones filamentosas similares a los cuerpos de Lewy. Asimismo estas inclusiones son similares a las que se consideran el marcador patológico de la ELA familiar y aparecen no sólo en las neuronas, sino también en los astrocitos. La ultraestructura de estas inclusiones es en ambos casos idéntica: el constituyente esencial son filamentos de 15-25 nm. de diámetro y material granular. Son positivas para la SOD1 cuando se estudian con técnicas inmunohistoquímicas. Además de estas alteraciones se puede observar una disrupción del aparato de Golgi. En los estadios finales de la enfermedad se puede encontrar una alteración de la sustancia blanca de la médula, sobretudo en los cordones laterales y anterior. La raíz anterior y los nervios motores muestran degeneración walleriana; la raíz posterior no muestra alteraciones de relevancia. Dal Canto y Gurney realizaron un interesante estudio en el que se demostró la presencia de cambios neuropatológicos en ratones con poca carga de mutación que vivían durante más tiempo (400 días). Éstos, al tener mayor tiempo de enfermedad, finalmente presentaban alteraciones neuropatológicas más parecidas a las de los pacientes con ELA en fases finales.

Otro de los ratones transgénicos utilizados es el portador de la mutación humana G37R, que desarrollan la debilidad de las extremidades hacia los 3-4 meses, edema axonal, degeneración de las motoneuronas y finalmente la muerte.

En contraste con los anteriores, el ratón transgénico G85R tiene también una clínica parálitica rápidamente progresiva con degeneración neuronal, pero sin vacuolas en la biopsia.

El número de copias de ADN mutado puede variar en estos ratones transgénicos provocando diferencias en su fenotipo.

Ésta característica puede ser aprovechada para diseñar ratones con fenotipos leves y mayor tiempo de vida o con fenotipos más graves.

## Estudios fisiopatológicos

Además los ratones transgénicos han permitido una mejor comprensión de la fisiopatología de la ELA. Entre otras cosas han ayudado a entender por qué la alteración de una proteína expresada de una forma ubicua produce un daño prácticamente selectivo de las motoneuronas. En los ratones transgénicos G85R y G37R se encontró un defecto del transporte axonal lento que aparece 5 meses antes del inicio de los síntomas. Igualmente en los ratones transgénicos G93A existe una alteración presintomática del transporte rápido y lento. Los efectos de este transporte aberrante podrían afectar más a las neuronas de mayor tamaño, es el caso de las motoneuronas y esto podría justificar que este tipo de neuronas sea más vulnerable a la degradación.

En los humanos el acúmulo de neurofilamentos en las neuronas son uno de los cambios más precoces y más característicos de la ELA desde el punto de vista patológico, por lo que la muerte neuronal podría deberse a esta acumulación patológica. El aumento de la expresión de la subunidad NF-L produce muerte neuronal y edema axonal que conducen a la muerte precoz del ratón. Algo similar, pero con menor intensidad, ocurre en los ratones con aumento de la expresión de la subunidad NF-H.

Sin embargo, cuando se cruza un ratón G85R SOD1 con un ratón con una mutación nula para la NF-L se retrasa la edad de inicio de la clínica de la enfermedad de motoneurona y su tasa de progresión. Igualmente, los efectos de la mutación G37R de la SOD1 en los ratones transgénicos con aumento de la expresión del neurofilamento humano NF-H son menos graves.

Estos resultados se confirman para la mutación G93A en los ratones con mutaciones que provocan aumento de la expresión de las subunidades del neurofilamento humano NF-L o NF-H. Se han intentado dar diversas explicaciones a este efecto protector del aumento de la expresión de los neurofilamentos, aunque todavía se desconoce su mecanismo exacto.

## Ensayos preclínicos

Los parámetros que deben estudiarse para el seguimiento fisiológico de los ratones modelo son los siguientes:

- **Peso:** La diferencia de peso entre géneros es significativa. Las transgénicas pesan 13% menos que las normales. Los machos 7%.
- **Hanging wire test:** Normales y transgénicos llegan a su máxima capacidad en la semana 13. Luego los transgénicos declinan. A partir de 17ª semana ningún transgénico llega al punto de corte. A la semana 19 ya no pueden colgarse.
- **Rotarod:** La capacidad de los machos a las 9 semanas es peor que la de los controles. Las hembras declinan a partir de la semana 14.
- **Electromiografía:** No aparecen diferencias de MAP entre machos y hembras. Tampoco aparecen diferencias de amplitud y "deserción" entre transgénicos y controles.

Las ondas positivas y las fibrilaciones aparecen (por lo menos en un punto del gastrocnemius) en la semana 12º, aún cuando no exista sintomatología. Esto es común a machos y hembras.

La aparición de estas ondas se incrementa con el tiempo, y en la 16º semana todos los transgénicos presentan ondas anormales en todos los puntos del gastrocnemius.

Alrededor de la 13ª semana aparecen los primeros signos clínicos (caminata anormal y temblor al colgarse).

La media de edad es de  $124,9 \pm 12,55$  días en las hembras y de  $123,2 \pm 2,3$  días en los machos.

La conclusión que deberemos tener en cuenta de la investigación en modelos animales de enfermedad de neurona motora es que se debe ser mucho más exhaustivo, pues después de la multitud de fármacos ensayados en estos animales no se ha conseguido transcribir al ser humano.

Para ello, se tendrán en cuenta las siguientes precauciones en todos los ensayos preclínicos:

- Cada cohorte debe tener al menos 24 "litter-matched gender-balanced mice".
- Estudios doble ciego.
- Criterio uniforme de fecha de "muerte por ELA": cuando el ratón no puede ponerse derecho tras tumbarlo de costado, transcurridos 30 sg; fecha de sacrificio.
- Excluir del análisis final las muertes por motivos diferentes a la enfermedad.

- Análisis del número de copias del gen mutado – excluir aquellos con pocas copias (< 12-14)
- Análisis estadístico apropiado (multivariable – Modelo de riesgo proporcional de Cox)

**Dr. Alberto García Redondo**

**Unidad de E.L.A.**

**Hospital Universitario 12 de Octubre  
Madrid.**

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL DE UN MODELO ANIMAL DE ELA.**

En investigación, se entiende como un modelo animal a la simulación o aproximación a los patrones fisiológicos, citológicos o comportamentales que caracterizan una determinada enfermedad, sin por ello establecer dicha enfermedad en los sujetos de estudio, mediante técnicas farmacológicas, genéticas o de otra índole. Con esto se evita un sufrimiento innecesario, sustituyendo en la medida de lo posible, las providencias utilizadas por otras validadas y que, aportando la misma información, supongan un menor perjuicio para el animal.

En el modelo animal que nos ocupa, intentamos realizar un modelo similar a ELA o ELA-like, puesto que en ningún caso podremos hablar de un modelo estricto de ELA por las razones anteriormente mencionadas. Se administró la toxina  $\beta$ -metilamino-L-alanina (L-BMAA) intentando buscar un modelo de esclerosis esporádica, dato en el cuál radica su importancia. En el caso de ELA, depende de la duración de la enfermedad y/o un periodo largo latente de expresión de los síntomas o la ausencia de la hipótesis definitiva del mecanismo de neurotoxicidad hacen que el desarrollo de un modelo animal sea extremadamente complejo. Por otro lado, diferencias en el origen y composición del tracto corticoespinal entre ratas y simios hacen difícil la homonimia de síntomas y parámetros conductuales.

A pesar de todo lo mencionado, consideramos importante la necesidad de establecer las pautas de actuación de dicho fármaco en el posible desencadenamiento de una sintomatología similar a ELA de tipo esporádico o adquirido teniendo en cuenta que esta neuropatología, representa el 85-90% de la ELA.

# People who care

## L-BMAA.

La toxina es sintetizada por cianobacterias del género *Nostoc* las cuáles viven sindicadas en raíces de cícadas. Su descubrimiento se pone de manifiesto con el estudio de la etiología sobre la enfermedad "Complejo Demente-Parkinsoniano/Esclerosis Lateral Amiotrófica" (CDP/ELA) afectando a individuos de la tribu Chamorro en la isla de Guam (Pacífico Occidental). Estos individuos ingieren en su dieta harinas provenientes de semillas de estas plantas así como murciélagos frugívoros que se alimentan de las mismas, dándose una biomagnificación del contenido de la neurotoxina.

La enfermedad está caracterizada por un progresivo desorden motor progresivo de tipo Parkinsoniano o extrapiramidal. Revela una taupatía con atrofia cortical, pérdida neuronal (cortex frontal y temporal, giro parahipocampal y estriado), numerosos ovillos de neurofibrillas y cuerpos de Lewy en la sustancia negra y en la amígdala. Es semejante a la ELA por presentar pérdida de motoneuronas superiores e inferiores, dificultad para caminar, espasticidad, atrofia muscular progresiva y parálisis.

Numerosos estudios se han realizado con este compuesto, bien en modelos animales, bien en cultivos neuronales exhibiendo el potencial excitotóxico y neurodegenerativo del L-BMAA. Algunos estudios realizados en macacos (Spencer et al., 1987), ratas (Seawright et al., 1990; Dawson et al., 1998) o ratones (Wilson et al., 2002) reportan síntomas tales como movimientos anormales, ataxia, convulsiones, rigidez corporal, ptosis e hipolocomoción.

Se trata de un aminoácido no esencial, no lipofílico y polar. Presenta dos grupos nitrogenados funcionales, donde uno de ellos en presencia de bicarbonato genera un aducto carbamilo con gran similitud con el glutamato (principal aminoácido excitador implicado en la patogénesis de la ELA).

El compuesto llega al cerebro vía transportador de grandes aminoácidos neutros (Sistema-L) de la barrera hematoencefálica (BHE) y actúa sobre tres tipos de receptores glutamatérgicos: AMPA impermeables y permeables a calcio, NMDA y mGluR5. La activación de los AMPA permeables y NMDA provocan un aumento del calcio intracelular. Este es tamponado

por las mitocondrias generándose especies reactivas del oxígeno (ROS) que conllevan a aumentar el estrés oxidativo, la excitotoxicidad y en último término la muerte neuronal. Un incremento del estrés oxidativo se ve también potenciado por el hecho de que compite con la cisteína en el transportador antiporte cisteína/glutamato. Esto disminuye los niveles intracelulares efectivos de cisteína necesarios para generar glutatión, principal molécula antioxidante de las células.

Pero el BMAA no ejecuta su acción únicamente actuando a través de receptores, también modifica parámetros bioquímicos y altera la homeostasis iónica. Se incorpora en proteínas alterando la conformación terciaria de neuroproteínas y por tanto su actividad biológica. Las proteínas con BMAA incorporado pueden formar dímeros que unen covalentemente iones alterando el balance iónico de la célula y generando radicales libres que catalizan procesos químicos deletéreos. La captura y liberación de iones como el cobre, zinc, aluminio y calcio por estas proteínas puede interferir con la propia función de los receptores AMPA y NMDA. El BMAA también trunca proteínas antes de completar su síntesis promoviendo su acumulación como la proteína tau.

## Material y métodos

Para la realización de este modelo se utilizaron siete ratas macho de siete meses (414.67 2,54 g) mantenidos en condiciones constantes de luz y temperatura y motivadas al 75%.

Se establecieron tres grupos experimentales: Uno de administración aguda de BMAA, uno de administración sub-crónica y otro de coadministración sub-crónica con inhibidor tras la inducción de la neuropatología.

Las pruebas comportamentales consistieron en la realización de un pasillo y un campo abierto (open field), ambas con la finalidad de observar cualquier alteración motora ocasionada por el tóxico administrado.

La obtención de muestras para su visualización en microscopio electrónico fue llevado a cabo por el personal del Centro de Microscopía y Citometría de la Facultad de C.C. Químicas de la Universidad Complutense de Madrid



## Resultados

### Síntomas comportamentales

#### A) Tratamiento agudo:

-Activación del sistema nervioso: Piloerección; sacudida de perro mojado ("wet dog"); movimientos espásticos de la cabeza e hiperactividad. Indican que el L-BMAA ha sido capaz de atravesar la barrera hematoencefálica.

-Disfunción muscular y falta de equilibrio: Flacidez de cola; disminución de la fuerza mandibular; arrastre de las patas traseras y descoordinación respecto a las delanteras; disminución de la deambulación en campo abierto y ausencia de postura erguida. Todos estos síntomas reportan daño motor.

-Aumento del estrés: respiración profunda; incremento del grooming y tasa de micción elevada. No descartando posibles efectos en el sistema nervioso autónomo, parece relacionarse con el estrés manipulativo de los animales

#### B) Tratamiento sub-crónico:

-Activación del sistema nervioso: hiperactividad e hipersensibilidad exagerada ante estímulos.

-Disfunción muscular y falta de coordinación: cojera de una de las patas traseras, disminución de la fuerza mandibular e incremento del tiempo de inmovilización en campo abierto.

C) Administración de L-BMAA e inhibidor de GSK3: Los resultados han sido confusos ya que se observaron efectos que sólo aparecieron en este grupo como encorvamiento del dorso, ojos arqueados, incontinencia urinaria, deposiciones sueltas y fuerte olor dulzón. Todos estos síntomas son efectos laterales del DMSO (vehículo en el que se diluyó el inhibidor), lo que demuestra que hemos cometido errores en la dilución del inhibidor, no pudiéndose establecer resultados concluyentes al respecto.

### Alteraciones citomorfológicas

Visualización por microscopía electrónica de motoneuronas espinales con el tratamiento sub-crónico:

Mitocondrias degradadas. La degradación es más acusada hacia el terminal sináptico de estas neuronas que hacia el soma.

Abundancia de gránulos de lipofucsina siendo cuerpos residuales de digestión lisosomal de la peroxidación de lípidos de membrana provocada por ROS.

Cuerpos multivesiculares anormalmente grandes, por el exceso de materia a degradar.

Vaina de mielina de las células de Schwann no ha sufrido ningún daño, lo cual es importante para este modelo, ya que en ELA no existen disfunciones en la misma.

Las motoneuronas son especialmente vulnerables a fenómenos de excitotoxicidad. Se debe fundamentalmente a dos motivos, poseen alto número de receptores AMPA permeables al calcio y presentan baja expresión de proteínas tamponadoras de calcio (parvalbúmina, calretinina o calbindina) por lo que las mitocondrias asumen en gran parte el papel tamponador. En consecuencia se genera gran cantidad de ROS provocando peroxidación lipídica y ulterior degradación.

### Limitaciones del modelo

*Bajo número de individuos por grupo.*

*Prueba de pasillo.* Es una prueba monoparamétrica que sólo permite analizar la capacidad de correr, por lo que la mayoría de nuestros resultados comportamentales se basan en la prueba de campo abierto.

*Vía de administración-dosis.* La inyección intravenosa no modeliza el surgimiento esporádico de la ELA causado por la ingesta de excitotoxinas. En cuanto a la dosis, para una mayor aproximación de los síntomas de la ELA en tratamiento agudo o sub-crónico, se requieren dosis superiores de toxina. Hay que tener en cuenta a la hora de elegir la dosis que el metabolismo detoxificador del hígado supone una importante reducción de la cantidad disponible en último término para alterar la homeostasis del sistema nervioso.

Las alternativas son la administración oral o la creación de un sistema nebulizador. La primera modeliza a la perfección la aparición esporádica por ingesta de excitotoxinas, requiriendo un tratamiento crónico y dosis muy bajas. La segunda no consistiría en administrar vía olfativa la toxina, sino hacerlas habitar en un medio herbáceo en presencia de cianobacterias, con un flujo continuo de aire. Dado que estos procariontes

son capaces de crecer en quimioheterotrofia usando azúcares simples como sustrato en un pH neutro, podrían infectar vía mucosa, alcanzando el torrente sanguíneo y colonizar otros tejidos u órganos. Esta hipótesis y planteamiento no resulta impensable ya que se han descrito infecciones causadas por microalgas (*Prototheca* y *Chlorella*).

Si lo que se busca es modelizar únicamente los síntomas, interesan vías más directas:

-*Vía carotídea*: ya que supone un flujo directo hacia el parénquima nervioso

-*Vía intracerebroventricular (i.c.v.)*: evita directamente la BHE asegurando que toda la dosis administrada alcance el parénquima nervioso. Requiere por tanto dosis del orden de microgramos.

Ambas vías pueden ocasionar daños innecesarios si no se posee de experiencia suficiente. Sobre todo en el caso de i.c.v. (Algunos autores han descrito los mismos efectos en el grupo control, que sólo recibió el vehículo, y en el tratado debido seguramente a los daños causados por la inyección directa sobre el cerebro).

**Eduardo Cortina Villaverde, Javier Rodríguez Centeno, Alvaro Macías Martínez.**  
**Alumnos de 5º curso de la Especialidad de Neurobiología Universidad Complutense de Madrid**

### TDP-43 y ELA.

La demencia frontotemporal lobar (FTLD) es la segunda causa más común de demencia en individuos menores de 65 años. Se caracteriza por cambios en el comportamiento, personalidad y lenguaje relacionado con la preservación de la memoria y la percepción. La degeneración frontotemporal se corresponde con un síndrome caracterizado por una degeneración o atrofia cortical selectiva de los lóbulos frontales y de la parte anterior de los lóbulos temporales, causados por procesos neurodegenerativos. [David Neary, Julie Snowden, David Mann. Frontotemporal dementia. *Lancet Neurol* 2005; 4: 771–80]

A la vista de los resultados en estudios recientes se ha visto que sin llegar a un grado de demencia, los pacientes con ELA presentan alguna alteración neuropsicológica como egocentrismo e irritabilidad, comportamiento desinhibido, falta de introspección,

alteraciones exageradas de la afectividad, labilidad emocional, dificultad en la resolución de problemas, capacidad de atención disminuida, memoria visual y generación de palabras, compatible con una disfunción del sistema frontal.

La FTLD asociada a depósitos de inclusiones citoplasmáticas neuronales ubiquitín positivas se conoce como FTLD-U. La relación entre ELA y FTLD es interesante porque en ELA es muy común un subtipo de FTLD, con inclusiones ubiquitinadas (FTLD-U). Este se caracteriza por inclusiones citoplasmáticas ubiquitín positivas, tau-negativas y alfa sinucleína-negativa en neuronas y glía. Tanto en la ELA como en la FTLD-U, las inclusiones están formadas, entre otras, por la proteína TDP-43. [Mark S Forman et al. TDP-43: a novel neurodegenerative proteinopathy. *Current Opinion in Neurobiology* 2007, 17:1–8]

Una característica típica de las enfermedades neurodegenerativas es la ubiquitinación de proteínas plegadas que se agregan en el citoplasma o núcleo de neuronas. Concretamente, se ha encontrado una forma patológica de TDP-43 hiperfosforilada, ubiquitinada y con el extremo N-terminal truncado en SNC, hipocampo, neocórtex y médula. [Manuela Neumann, et al. Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* 314, 130 (2006)]

La proteína TDP-43 se encuentra codificada por el gen TARDBP en el cromosoma 1p36.22. Se trata de una proteína de unión a ARN, compuesta de 414 aminoácidos. La primera identificación fue de una proteína humana de 43 kDa que se unía al sitio TAR-DNA del VIH-1. Está altamente conservada y ubiquitinada y se expresa en todos los tejidos incluyendo el cerebro. Contiene dos motivos de reconocimiento de ARN ricos en glicina en la secuencia C-terminal, necesaria para el splicing. A la C-terminal se unen hnRNP involucradas en la biogénesis de ARNm. Sus funciones celulares son la represión de la transcripción y el procesamiento selectivo de exones. [Hurng-Yi Wang et al. Structural diversity and functional implications of the eukaryotic TDP gene family. *Genomics* 83, 1 (2004)]

Se desconoce el mecanismo por el cual TDP-43 contribuye a la neurodegeneración. El secuestro de TDP-43 en inclusiones puede causar un defecto en la función y por lo tanto provocar la alteración del proceso de transcripción y el procesamiento aberrante del pre-ARNm. Recientemente, se ha demostrado que desestabiliza la estructura molecular de neurofila-

mentos de ARNm vía directa interaccionando con el extremo 3'UTR. Una menor actividad de TDP-43 puede desestabilizar por tanto la estructura macromolecular y formar agregados como los que se observan en la ELA [Mark S Forman et al. TDP-43: a novel neurodegenerative proteinopathy. *Current Opinion in Neurobiology* 2007, 17:1–8]

En el año 2008 fue publicado en la prestigiosa revista *Science*, un trabajo realizado por el grupo del Dr. Christopher Shaw, profesor de neurología y neurogenética del King's College de Londres, sobre TARDBP. Estudiaron dicho gen en 154 familias que tenían esclerosis lateral amiotrófica familiar y descubrieron una familia que tenía una mutación en el gen, que estaba presente en todos los miembros de la familia afectados, y ausente en los que no lo estaban. La mutación cambiaba sólo un aminoácido de la secuencia proteínica. El equipo también halló mutaciones similares del TDP-43 en dos casos esporádicos adicionales. Sin embargo, era necesario probar que estas mutaciones inducían una enfermedad neurológica parecida a la esclerosis lateral amiotrófica. Para responder a esta pregunta, el equipo expresó genes TDP-43 normales y mutantes en embriones de pollo y observaron que las células de espina dorsal de los pollos mutantes morían. Por tanto, no se trata simplemente de una simple variación sino que hay algo que lo hace perjudicial para las células, específicamente para las neuronas motoras. [TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 21, 319 (2008)].

Se han realizado diversos estudios llevados a cabo por diferentes grupos de investigación en los que se han encontrado hasta 30 mutaciones en el gen TARDBP en pacientes con E.L.A. Un estudio publicado en el presente año por un grupo de investigación italiano ha encontrado diversas mutaciones en 666 pacientes con ELA estando la mayoría de ellas localizadas en el exón 6. En este estudio se encontró el único paciente con demencia frontotemporal en el que se han encontrado mutaciones en TARDBP. [Lucia Corrado et al. High Frequency of TARDBP Gene Mutations in Italian Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis *HUMAN MUTATION*, Vol. 0, No. 0, 1–7, 2009]

Por tanto:

- No se han encontrado mutaciones en TARDBP en pacientes con demencia frontotemporal.
- Todos los estudios que han sido positivos en el hallazgo de mutaciones en TARDBP se han hecho en pacientes con ELA que fueron negativos

para la SOD1.

- Todos los estudios han hallado acúmulos de TDP-43 en tejido de pacientes con demencia frontotemporal, y también de ELA (excepto los que eran positivos para la SOD1)
- En los pacientes en que ha sido positivo el hallazgo de mutaciones en TARDBP se ha encontrado TDP-43 acumulada en citoplasma, cuando normalmente se localiza en núcleo (lo cual apoya la teoría del acúmulo aberrante de esta proteína en las inclusiones halladas en los pacientes).

**Lucía Fraile Lara**

**Alumna de 5º curso de la especialidad de Biosanitaria**

---

### RESUMEN DEL 7º CONGRESO DE JÓVENES INVESTIGADORES EN ELA. TURÍN, 22-24 DE MAYO.

El pasado fin de semana tuvo lugar en Turín el 7º Congreso Europeo de Jóvenes Investigadores en ELA, al cual tuve el placer de asistir gracias a la colaboración de FUNDELA y AISLA.

El Congreso tuvo como eje central de las ponencias las investigaciones básicas que se están desarrollando en los diferentes países europeos, investigaciones genéticas, neuropatología, patogenia, marcadores biológicos, epidemiología, y estudios sobre demencia en ELA, intentando esclarecer los diferentes mecanismos de producción y el manejo de pacientes con ELA.

En relación con las diferentes alteraciones genéticas presentes en pacientes con ELA destacaron los estudios llevados a cabo en Reino Unido sobre la "Evidencia de la contribución genética de las mutaciones del TARDBP en la ELA" e "Identificación de mutaciones en el FUS en la ELA"

En el apartado de neuropatología, fueron muy interesantes las ponencias sobre el impacto de la TDP-43 y del FUS en la ELA a cargo de V.Silani (Italia) y la detección de alteraciones en el ciclo del calcio en la mitocondria en las células NSC34 en pacientes con ELA realizada por J. Grosskreutz (UK).

Dentro de los estudios realizados sobre patogenia, destacaron el papel del axón en los desórdenes neurodegenerativos (C.Miller, UK) y la evidencia de la influencia de los astrocitos en la degeneración de la motoneurona en la ELA (D.Kieran et al, Suiza).

Fue muy interesante la ponencia llevada a cabo por M.Huisman (Holanda) sobre la elevación de los niveles séricos de hormonas sexuales en pacientes con ELA. Los niveles de estrona están elevados en mujeres y hombres con ELA y los niveles de testosterona y testosterona libre están elevados solamente en las mujeres con ELA. Esta elevación de los niveles de testosterona y testosterona libre en mujeres puede sugerir una relación entre los andrógenos y la ELA.

Dentro del campo de la epidemiología, un estudio llevado a cabo en Italia, trató de poner cifras a la supervivencia tras la traqueostomía en pacientes con ELA. Este estudio concluye que la media de supervivencia tras la realización de traqueostomía es de 253 días (339 días sin contar los casos de pacientes que fallecían en los primeros 30 días tras la cirugía). Los pacientes menores de 45 años eran más frecuentemente hombres, no encontrándose diferencias en cuanto al sexo entre aquellos que superaban los 65 años. Factores relacionados con la supervivencia tras la traqueostomía son edad, PEG/PRG, estado civil y el tratamiento en un centro específico de ELA.

Otro estudio epidemiológico sacó a la luz datos sobre incidencia y prevalencia en Holanda. La incidencia presentada fue de 1.84 casos por cada 100.000 habitantes con una prevalencia de 6.05 casos por cada 100.000 habitantes. El pico de incidencia tanto en hombres como en mujeres estaba entre los 70 y 74 años. Se encontraron además 2 zonas de relativo riesgo (3.1 en un radio de 15 km y otra con riesgo relativo de 1.8 en un radio de 27 km).

Otro tema interesante que fue tratado dentro de los estudios epidemiológicos fue "Hacer frente a la vida diaria en la ELA". Este estudio llevado a cabo en Alemania concluye que a diferencia de individuos sanos, las actividades extrínsecas motivadoras son iguales de beneficiosas que las actividades intrínsecas. Además, aquellos pacientes con mayores problemas físicos no son los pacientes con mayores síntomas depresivos, lo cual hace pensar que existe posibilidad de una buena adaptación del paciente con ELA a la enfermedad. El estudio hace hincapié en la importancia del aspecto social en estos pacientes.

En Serbia se llevó a cabo un estudio sobre la eficacia en la supervivencia de pacientes con ELA

tratados con riluzole, ventilación mecánica no invasiva (VMNI) y antioxidantes. Un grupo de estudio del Instituto de Neurología de Belgrado, llevó a cabo un seguimiento de pacientes con ELA que tomaban riluzole, un grupo que utilizaba VMNI 4 horas al día y un grupo de pacientes que sólo tomaba antioxidantes. Los resultados de supervivencia fueron: Grupo con riluzole: 36 meses, grupo de NIV: 33.2 meses y grupo de antioxidantes: 30 meses.

Un aspecto al que se le dio gran importancia fue la demencia en pacientes con ELA. Se presentó, un estudio que está siendo llevado a cabo por P. Bede et al en Irlanda, el cual trata de medir la integridad estructural y los volúmenes de regiones corticales específicas y de identificar cambios que lo correlacione con, o sean predictivos de alteración cognitiva en ELA. Las imágenes de alta resolución estructurales, dinámicas y metabólicas del cerebro pueden ser útiles para detectar dichos cambios. La ponencia expuso los métodos que se están evaluando, esperando que en fechas cercanas se obtengan datos fiables sobre los mismos.

En Holanda J.Raaphorst et al, estudian las diferencias de alteraciones cognitivas en la atrofia muscular progresiva y ELA. Los pacientes con atrofia muscular progresiva muestran peores resultados en atención y en los tests de memoria, fluencia y en el Mini-Mental test comparado con un grupo control. Los pacientes con ELA muestran más déficits en las siguientes categorías: fluidez verbal, atención y memoria de palabras, memoria visual y enunciación que los controles. Los resultados sugieren que las alteraciones cognitivas están presentes en un número pequeño de pacientes con atrofia muscular progresiva. Comparado con los pacientes de ELA, son menores los pacientes afectados y los daños cognitivos en los pacientes con Atrofia Muscular Progresiva. Estos hallazgos indican que existe una proporción de pacientes con Atrofia Muscular Progresiva con rasgos cognitivos muy similares a los de pacientes con ELA.

En Polonia, K. Zur Wyrozumska, estudio la relación existente entre diferentes patologías como la ELA, el Parkinson y la Demencia FrontoTemporal (síndromes ELA-Plus). El estudio llevado a cabo en la Universidad de Cracovia demuestra que la concurrencia de demencia frontotemporal y parkinson en pacientes con ELA definitiva hace pensar en un patomecanismo común en estos trastornos neurodegenerativos

# People who care

Otra parte importante del congreso fue la exposición y defensa de poster, en la cual se expusieron interesantes trabajos tanto de investigación básica como clínica.

La Unidad de Neurorrehabilitación de Pisa presentó un póster en el que se mostraba la carga de los cuidadores en pacientes con ELA durante la enfermedad. Cuarenta y nueve cuidadores de pacientes con ELA fueron estudiados, separándolos en dos grupos: padres y hermanos. En ambos grupos, la presencia de síntomas bulbares severos estaba relacionada con una mayor sensación de carga en el cuidador. En el grupo de cuidadores-padres se encontró una correlación significativa entre el nivel de progresión de la enfermedad (medido mediante la escala ALSFRS) y mayores puntuaciones en el test Time-Dependence Burden y en la puntuación total sobre carga del cuidador, no siendo así en el grupo de cuidadores-hermanos, en el que no se encontró relación entre la puntuación total y la progresión de la enfermedad.

Otro estudio llevado a cabo por el Departamento de Psicología de la Universidad de Milán, la Universidad de Bérgamo y NEMO, fue presentado en este congreso. El objetivo del estudio fue determinar si la sensación de bienestar del cuidador del paciente con ELA influye en el propio bienestar del paciente. El estudio determinó que no se encontraban diferencias significativas en el nivel de ansiedad, depresión y puntuación en calidad de vida entre el cuidador y el paciente. El bienestar percibido por el paciente con ELA parece estar directamente relacionado con la calidad de vida, la presencia de alteraciones severas en el humor y la sensación de carga de sus cuidadores.

En relación con la medición de la calidad de vida, la Universidad de Ulm en Alemania, presentó otro póster en el que valoraba la percepción de la calidad de vida tanto del paciente con ELA como de sus familiares. El 24 % de los pacientes con ELA mostraron síntomas de depresión. En relación con la calidad de vida, fueron mayores las puntuaciones en las subescalas social y vida diaria que en las subescalas aspectos psicológicos y físicos. Los resultados mostraban que los pacientes con ELA presentaban mejor humor y calidad de vida que sus cuidadores, aunque las diferencias no fueron significativas.

El Departamento de Medicina Interna de la Universidad de Pisa, en Italia, presentó un póster sobre la afectación del estado nutricional en pacientes con ELA. Se estudiaron 18 pacientes con ELA, 6 con inicio bulbar y 12 con inicio espinal, con una puntuación media en el ALSFRS-r de 39.61 y una duración media de la enfermedad de 13.44 meses. En dichos pacientes se comprobó que el Índice de Masa Corporal y el porcentaje de peso perdido desde el peso inicial durante los últimos 6 meses indicaban malnutrición, siendo los valores obtenidos en los tests de Masa libre de Grasa (Fat-Free Mass) y Masa grasa (Fat Mass) significativamente menores que en pacientes sanos.

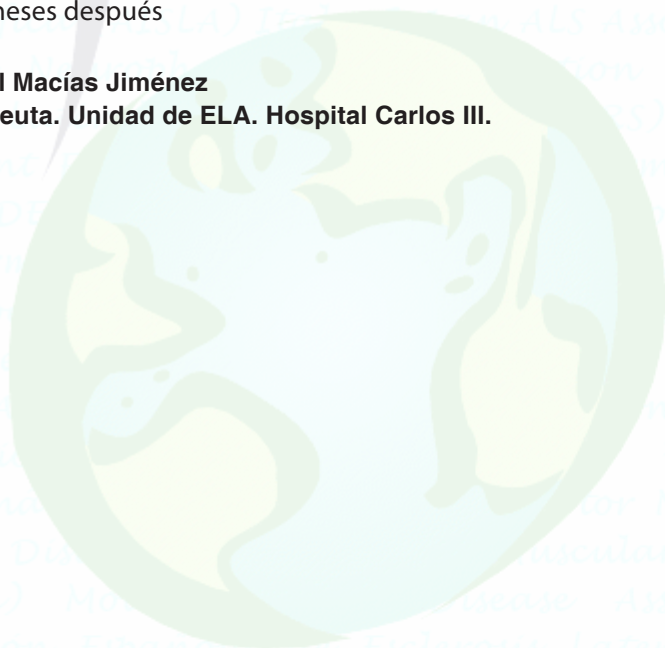
En la misma línea del estudio del estado nutricional de los pacientes con ELA, J.Dorst presentó un póster en el que se mostraban posibles factores pronósticos nutricionales en la ELA. Se valoraron 419 pacientes durante un período de 10 años. El estudio concluía que los niveles relativamente elevados de triglicéridos y colesterol en los pacientes con ELA podrían ser beneficiosos en el curso de la enfermedad, estableciéndose que en aquellos pacientes que presentaban estos niveles elevados tenían una esperanza de vida mayor estimada en 21.6 meses.

En relación a la disfagia se presentó un póster a cargo del Departamento de Neurología de la Universidad de Ulm (Alemania) en el que se mostraba cómo la disfagia podía ser el resultado de la debilidad de la musculatura inervada por los pares craneales V (Trigémino), VII (Facial), XII (Hipogloso), IX (Glossofaríngeo) y X (Vago). Estas alteraciones se observan tanto en la fase preoral, como en las fases oral y faríngea, no encontrándose alteraciones en la fase esofágica.

La Universidad de Bari presentó un póster sobre la presencia de dolor en pacientes con ELA, concluyendo que el 73.2% de los pacientes estudiados (muestra de 71 pacientes) presentaban dolor, apareciendo dolor severo en un 19.2% de los pacientes. El estudio concluyó que el dolor es un síntoma muy frecuente en los pacientes con ELA, interfiriendo en varios aspectos de la vida diaria. Los mecanismos fisiopatológicos del dolor en la ELA no están aún claros: inmovilidad, pérdida de fuerza, alteración del tono muscular, aunque los autores no descartan otros mecanismos intrínsecos que puedan concurrir en la patogénesis.

Por último, debo hacer referencia a otro trabajo interesante presentado en relación al uso de VMNI en pacientes con ELA. El efecto de la VMNI en la prolongación de la vida y la mejora de calidad de vida en pacientes con ELA y fallo respiratorio ha sido ampliamente demostrada. El póster presentado por P.Volanti (Italia) evaluaba el efecto de la monitorización prolongada en una clínica con un equipo multidisciplinar de ELA de la tolerancia a la VMNI. El tiempo medio de adaptación de la VMNI fue de 5 días, aunque los pacientes permanecían en el hospital durante un período de 2 semanas, durante el cual se monitorizaba cuidadosamente la VMNI. Es interesante el hecho de que 31 de los 32 pacientes estudiados, incluidos aquellos con síntomas bulbares severos, mantuvieron esa tolerancia a la VMNI 12 meses después

**Ana Isabel Macías Jiménez**  
**Fisioterapeuta. Unidad de ELA. Hospital Carlos III.**



**ALS/MND**

**Global Awareness Day**

**21 June**

Robert Packard center vuelve a reconsiderar la eficacia de Topiramato en el tratamiento de la ELA.

el ensayo del año 2000 se suspendió por pérdida de peso en los pacientes que lo tomaban, pero ahora se piensa que tal efecto secundario no estaría relacionado con el medicamento.

**Fuente:** [www.alscenter.org](http://www.alscenter.org) 30/4/09.

---

Científicos de la universidad de Edimburgo han descubierto que el pez cebra es capaz de reproducir neuronas motoras a partir de Células madre, para reparar daños en su medula espinal. Los investigadores están probando moléculas que estimulen la regeneración con el fin de poder aplicarlas a pacientes con ELA.

**Fuente:** Universidad de Edimburgo. 30.4.09

---

La incidencia de ELA en Suecia se incremento desde el 2,32 por ciento por cien mil personas y año en 1991 hasta el 2,98 por ciento en 2003 a 2005, representa un incremento anual del 2 por ciento en esos quince años.

se necesitan mas estudios para saber las causas.

**Fuente:** Archivos de Neurología. N° 4, Abril, 2009

---

### **UN GEN "PROTECTOR" AUMENTA LA SUPERVIVENCIA EN LA ELA.**

Un equipo internacional de investigadores dirigidos por el Dr. Ammar Al-Chalabi del King's College, Centro de Investigación en Neurodegeneración, y por el Dr. Robert Brown de la U. de Massachusetts, Escuela Médica, analizaron 300.000 variaciones

génicas en 2.359 pacientes y 2.814 controles de seis países (USA, Canadá, México y Europa), ha encontrado un gen cuyos poseedores tienen una tasa mayor de supervivencia superior del orden de un 40%; siendo el primer gen que se halla con este significado en el caso de la ELA.

Los pacientes que tienen ambos alelos cambiados sobreviven más que los que tienen sólo uno y éstos, más de los que no tienen ningún cambio.

---

El gen, denominado KIFAP3, (proteína 3 asociado a la familia de kinesinas), es conocido por pertenecer a la superfamilia de proteínas motoras KINESINAS cuya función (entre otras) consiste en participar en el transporte axonal. La alteración en el transporte axonal es una de las causas que se proponen como componentes de la etiopatogenia de la ELA. Hay estudios que asocian a la SOD1 mutante con la KIFAP3 en la alteración de dicho transporte.

**Fuente:** Asociación de Enfermedad de Monoteurona UK. [www.mndassociation.org](http://www.mndassociation.org) 11/5/09.

**Estudio original saldrá en la revista PNAS**

---

### **NUEVAS INVESTIGACIONES SOBRE CELULAS MADRE APLICADA A LA ELA.**

El Dr. FRAN FRISEN de Instituto Karolinska, Suecia, experto en células madre aprecia un gran avance en el tratamiento con células madre en distintos campos de la medicina. Concretamente, él trabaja con el compuesto sNN0031, de la empresa sueca Neuronova, que ha aplicado a modelos animales con EP. La droga se administra en el LCR y ha demostrado una gran recuperación de los animales y la formación de nuevas células.

### **El año pasado comenzó un ensayo clínico para tratamiento de la ELA.**

**Fuente:** [www.medicalnewstoday.com](http://www.medicalnewstoday.com) 24/5/09.

---

### **CREAN MONOS TRANSGENICOS FLUORESCENTES PARA EL ESTUDIO DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS QUE INCLUYEN LA ELA..**

Un grupo de científicos japoneses del Instituto Central de Experimentación Animal de la Universidad de Keio, Japón, liderados por Erika Sasaki, han conseguido por vez primera la creación de monos transgénicos incorporando a su genoma, a través de un adenovirus, el gen de la fluoresceína verde. Además, han logrado por vez primera que dicho gen sea heredado por la descendencia con gran estabilidad.

**Fuente:** [www.iol.co.za](http://www.iol.co.za), 28/5/09.

---

La empresa DAVALINE, propietaria del compuesto AIMSPRO, comunica que ha sido autorizado como medicamento huérfano para el tratamiento de la ELA.

Se trata de un medicamento antiinflamatorio de suero caprino hiperinmune. Los primeros ensayos clínicos se iniciarán próximamente, según la empresa.

**Fuente:** [www.davalinternational.com](http://www.davalinternational.com)

---

### **PRAMIPEXOLE.**

El Dr. Lecomis, encargado del Ensayo Clínico con PRAMIPEXOLE, anuncia que, dados los resultados positivos obtenidos en Fase II, comenzará la Fase III en unos dos meses..

**Fuente:** [www.researchalscenter.org](http://www.researchalscenter.org) y Als Tdi forum. (7/6/09).

---