

Boletín Científico Nº 6

FUNDELA

REVISTA DE LA FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA EL FOMENTO DE LA INVESTIGACIÓN
EN LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA)

Número 6 – septiembre de 2004

Edita

FUNDELA (Fundación Española para el Fomento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica)

Suscripciones

- Correo electrónico: fundela@fundela.info
- Tfno: 91-453-25-95

Consejo Editorial

Dr. Jesús S. Mora Pardina y Dra. María Teresa Solas Alados

Redacción

Editorial

Dr. Francisco Rodríguez

Sesión Científica

Dr. Jesús Esteban P.

Dr. Christopher Shaw

Sesión Clínica

Dra. Nieves González

Dr. Luis Varona

Sesión Poster

Virginia Arechavala Gomeza

Noticias

Cristina García Niño

Laura Parra

Eventos

Colaboradores

Raúl Gómez Valverde, Dr. Alberto García R.

Índice de Contenidos

Contenido	Página
- Editorial	2
- 2º Parte de Resúmenes de las Ponencias. VII Jornada Científica sobre la ELA: Actualización del conocimiento de la ELA. 21 de junio de 2004 .	
Sesión Científica.....	2
Sesión Clínica.....	7
Sesión Poster	9
- Noticias	11
- Eventos	13
- Hoja de Colaboración con FUNDELA	14

Editorial

Ahora que se inicia un nuevo curso, presentamos este número del Boletín Científico de FUNDELA lleno de esperanzas en la investigación tanto básica como aplicada. Así, se presentan varios artículos relacionados con la genética de la ELA y otros que conciernen a procedimientos para reducir el impacto de la enfermedad sobre la persona. En este editorial querría hacer referencia a un concepto que nos atañe a todos: la vulnerabilidad. Nuestro equipamiento genético nos hace con frecuencia vulnerables a sufrir determinadas enfermedades, que si se presentan las circunstancias adversas necesarias, acabarán por manifestarse. También nuestra historia de vida, con lo que aprendimos en la infancia y la juventud, pueden desarrollar en nosotros una personalidad vulnerable para sufrir problemas psicológicos ante las situaciones de estrés del ambiente. Así pues, la precariedad, la falta de seguridad absoluta en el futuro es una característica humana que nos acompaña durante toda la vida y con la que hemos de aprender a vivir.

Ante esta perspectiva, sean bienvenidas todas las medidas que desde la biología (fármacos, factores de neuroprotección...), la psicología (terapias de afrontamiento, resistencia a indefensión...) o el propio entorno social (actitudes y apoyos de los que nos rodean), ayuden a reducir este grado natural de vulnerabilidad.

Esperamos que este número de FUNDELA y los posteriores puedan servir de ayuda a las personas afectadas por la ELA, tanto a los pacientes como a sus familiares, y a los profesionales que trabajamos en esta batalla que, lentamente, confiamos en que será ganada.

Anunciamos desde aquí que al coincidir, en el tiempo, el boletín con el 15th Symposium Internacional en ELA, el siguiente número saldrá en el mes de enero de 2005, con el resumen de las conferencias expuestas en el mismo.

Dr. Francisco Rodríguez Santos

2º parte de los RESÚMENES DE PONENCIAS: VII Jornada Científica sobre la ELA: Actualización del Conocimiento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica – 21 de junio de 2004

Sesión Científica

AVANCES EN GENÉTICA

Dr. Jesús Esteban Pérez

Servicio de Neurología, Hospital 12 de Octubre.
Madrid.

En el 90% de los casos la Esclerosis Lateral Amiotrófica (E.L.A.) afecta a un individuo de una familia de forma aislada (ELA esporádica). Sin embargo, ya desde 1955, se viene observando que de forma ocasional aparecen agregados familiares de pacientes con ELA (ELA familiar), comprendiendo entre un 5 a un 10% de todos los casos diagnosticados. En la mayoría de estos casos el patrón de herencia es autosómico dominante

(AD), es decir, afecta a todas las generaciones y puede transmitirse a través del padre o de la madre.

Como resultado de estas observaciones se hizo evidente que, al menos en un pequeño grupo de pacientes, la causa de la ELA era genética. Es decir, la mutación (o modificación) de un solo gen era responsable de la degeneración y muerte de las neuronas motoras y, en definitiva, del desarrollo de la enfermedad.

En 1993 se describieron las primera mutaciones que condicionan el desarrollo de una ELA. Estas se encontraban en el gen que codifica para la superóxido dismutasa citosólica asociada a Cu/Zn (abreviada SOD1). Esta proteína se encuentra muy involucrada en la defensa del organismo contra los efectos dañinos de la "oxidación". Desde entonces se han descrito en este gen más de 100 mutaciones diferentes que se asocian al

desarrollo de una ELA.. Además, el conocimiento de este defecto ha permitido crear un ratón “transgénico” obtenido al “introducirle” copias del gen defectuoso humano. Tras nacer sano, estos ratones desarrollan en la edad adulta una enfermedad debilitante progresiva por degeneración de las neuronas motoras convirtiéndose en el primer modelo animal de la enfermedad humana. Se ha aprendido mucho sobre la función de esta proteína en su estado normal y sobre los problemas que aparecen cuando es defectuosa. Sin embargo, aún no se ha descifrado el mecanismo final por el que estas mutaciones producen la degeneración de las neuronas motoras.

Adicionalmente, se han encontrado mutaciones del mismo gen hasta en un 3% de los casos de ELA esporádicos. Estos casos se explican por una baja “penetrancia” de algunas de las mutaciones. Es decir, que algunas modificaciones del gen no son suficientemente “intensas” para que se desarrolle la enfermedad en toda persona que las porte, y solo lo harán un pequeño porcentaje de ellas.

Posteriormente, en el 2001, se describió un segundo gen asociado al desarrollo de una enfermedad de motoneurona. En este caso se trata de una enfermedad muy rara, que se transmite de forma autosómica recesiva (AR) (afecta solo a una generación, en general en familias consanguíneas). Este gen se ha denominado ALSina (ALS son las siglas en inglés de ELA) y su función se conoce mal, pero se sabe que participa en la transmisión de información desde el exterior de la célula al interior.

Pero estas mutaciones sólo explican un 20% de los casos familiares (y un 3% de casos “aparentemente” esporádicos). Existe pues aún un 80% de casos familiares de ELA, en que no se conoce el gen causante. Es más, cada vez hay más evidencia de que en el resto de casos de ELA esporádica los factores genéticos son primordiales para predisponer al individuo a padecer este tipo de enfermedad. Así, es necesario seguir estudiando tanto los casos familiares como los esporádicos en busca de nuevos genes causantes o de genes de predisposición, que nos puedan ayudar a comprender mejor los mecanismos por los que se inicia y progresa la enfermedad. Esto nos permitirá encontrar remedios eficaces que puedan modificar de forma significativa el curso de la misma.

A continuación revisaré los nuevos hallazgos en este sentido que se han producido a lo largo de este año.

I- CAUSAS GENÉTICAS

En el momento actual se conocen dos genes que se asocian al desarrollo de una ELA. Uno de ellos la enfermedad se desarrolla en adultos (SOD1) y en el otro es de inicio juvenil y de herencia autosómica recesiva (ALSIN). Adicionalmente se han identificado múltiples localizaciones cromosómicas ligadas a ambas formas de la enfermedad.

- ALS1. En 1991 se realizan estudios de ligamiento genético que muestran una región en el cromosoma 21 donde debe residir un gen causante de un subgrupo de 23 familiasⁱ. Un año después se define esta región en la que se encuentran tres genes conocidos. En 1992 la secuencia del gen SOD1 en individuos de estas familias muestran mutaciones, que no se encuentran en personas sanasⁱⁱ. Desde entonces se han descrito más de 100 mutaciones diferentes que afectan aproximadamente al 20% de los casos de ELA familiar. La mayoría de estas mutaciones son de tipo mutación puntual, es decir mutaciones que producen un cambio puntual de un solo aminoácido, y se encuentran distribuidas por toda la proteína. Aunque la mayoría de los pacientes son heterocigotos para la mutación (solo tienen la mutación en una de las dos copias del gen) los estudios detectan una región en el norte de Suecia y Finlandia en que los pacientes tienen que ser homocigotos (tienen que tener las dos copias del gen dañadas) para desarrollar la enfermedad. En esta región la mutación que se encuentra es la denominada D90A. La herencia es habitualmente AD salvo en la zona norte de Finlandia y Suecia que es AR. La “penetrancia” en general es alta pero puede ser incompleta (no todos los portadores de la mutación desarrollan la enfermedad), y esto aún se complica más porque además presenta una variabilidad de expresión clínica importante que incluye variabilidad en la edad de inicio (es decir, en una misma familia un individuo puede desarrollar la enfermedad en la juventud y otros en la edad adulta o senectud). Hasta un 3% de los casos esporádicos muestran mutaciones en este gen, describiéndose en estos casos familiares portadores de la misma mutación sanos. En algunos casos es posible que se trate de mutaciones de novoⁱⁱⁱ

Clínicamente son indistinguibles de los casos esporádicos con variabilidad de inicio, duración y expresión entre familias y dentro de cada familia.

Algunas mutaciones se asocian a una enfermedad de curso rápido (menos de un año) como es la mutación A4V, que además constituyen hasta el 50% de los casos de E.L.A. familiar en USA y muy rara en otras regiones. Otras mutaciones se asocian a enfermedades de larga evolución (G37R, G41D, y G93C). otras mutaciones se inician precozmente (G37R y L38V)

La mutación D90A se manifiesta como una enfermedad recesiva en el norte de Suecia y Finlandia. En esta población, hasta un 3 % son portadores de la mutación heterocigotos sanos. Las características clínicas son peculiares, iniciándose con espasmos musculares dolorosos y parestesias de las piernas y dificultades en la micción además de los síntomas de neurona motora superior e inferior más típicos. La supervivencia media es de 13 años. Sin embargo en otras poblaciones, los individuos

heterocigotos para esta mutación desarrollan la enfermedad.

Causa: animales transgénicos KO no enfermedad. Si aquellos que sobreexpresan la mutación (no si es salvaje)

- ALS2

Formas raras de ELA y ELP presentan un patrón de herencia AR se han identificado en Túnez, Kuwait y Arabia Saudí consiguiendo un ligamiento al cromosoma 2q33-35^{viii-ix}. Recientemente se ha identificado el gen responsable de estos casos^x. Se ha denominado Alsín y se trata de una proteína reguladora de la GTPasa. El gen comprende 80 Kb, contiene 34 exones y 33 intrones. Se han identificado dos tipos de transcritos en humanos, producidos por un splicing alternante después del exon 4. El transcrito mayor tiene 1657 aa, y el menor 396. Se han publicado dos mutaciones (delección Leu623delCT en el exon 9 en familia tunecina, y Ala46delA en exon 3 en familia kuwaiti) localizadas en la región codificante del gen, produciendo un cambio en el patrón de lectura (frameshift) que condiciona una terminación precoz de la transcripción. Recientemente se han descrito dos mutaciones más, una en una familia Saudí (sin afectación de NMI y con clínica más leve) y otra en una familia estudiada por el grupo de la universidad de McGill. Ambas son delecciones (la última en exon 32). Este gen contiene secuencias homólogas a dominios y motivos asociados a los Factores de intercambio de guanina para GTPasa (GEF) así como dos motivos asociados a nexos de reconocimiento de ocupación de membrana (MORN). Los estudios de expresión en humano muestran que este gen (y su ortólogo del ratón) se expresa en varios tejidos que incluye el SNC (y médula espinal). Se expresan además ambos transcritos. Dada las características clínicas de la enfermedad y las características de las mutaciones es pedicible que el gen ejerza su acción a través de una pérdida de función.

- ALS4

Recientemente se han descrito mutaciones en el gen senataxina que contiene un dominio helicasa de ADN/ARN, relacionadas con la forma familiar ALS4. Se trata de una enfermedad AD alélica (que posee defectos en el mismo gen que otra enfermedad) de otra enfermedad neurológica que afecta a los movimientos oculares y el equilibrio (ataxia con apraxia ocular tipo 2) que tiene herencia AR. En este caso las mutaciones provocan fallo en la transcripción del gen y en el caso de la ALS4 son mutaciones que permiten la codificación (aunque anormal) de la proteína.

- Resto de casos familiares de ELA.

En el 80% restante de casos de E.L.A. familiar no se conoce el gen responsable. Estudios de ligamiento han encontrado nuevos loci. (ver tabla).

	Inicio	Herencia	Locus	gen	Proteína	Mutaciones
ALS1	Adulto	AD	21q22	<i>SOD1</i>	SOD1	> 100
		AR	21q22	<i>SOD1</i>	SOD1	D90A
ALS2	Juvenil	AR	2q33	<i>ALSIN/GEF</i>	ALSIN	ELA juvenil tipo 3
ALS3	Adulto	AD	18q21	?	?	
ALS4	Juvenil	AD	9q34	Senataxina	?	
ALS5	Juvenil	AR	15q15.1-q21.1	?	?	ELA juvenil tipo 1
ALS6	Adulto	AD	16q12	?	?	
ALS7	Adulto	AD	20p tel	?	?	
ALS	Adulto	AD		?	?	80% de familias
ALS-FTD	Adulto	AD	9q21-q22	?	?	
ALS-FTD	Adulto	AD	17q21	TAU	Tau	^{iv}
ALS-X		XD	x-cent.	?	?	
SALS	Adulto	Esporádica?	21q22	<i>SOD1</i>	SOD1	N65S, I113T, G16S ^v
SALS	Adulto	Esporádica	22q12.2	NEFH	NEFH	6 mut descr.
SALS	Adulto	Esporádica		EAAT2	EAAT2	Mut. Somática
SALS	Adulto	Esporádica	5q	NAIP	NAIP	Un caso ^{vi}
SALS	Adulto	Esporádica	14	APEX	APEX	Un caso
	Adulto	Materna	MtDNA	COX1	COX	^{vii}
	Adulto	Materna	MtDNA	ATPasa 6		

Tabla 1. Alteraciones genéticas conocidas en la ELA.

ALS: ELA; ALS-FTD: ELA-demencia frontotemporal; ALS-X: ELA ligada al cromosoma X; SALS: ELA esporádica; AD: aurtosómico dominante; AR: autosómico recesivo; XD: ligada al cromosoma X dominante. MtDNA: ADN mitocondrial; SOD1: superóxido dismutasa 1; NEFH: neurofilamentos de cadena pesada; EAAT2: transportador de aminoácidos excitatorios 2; NAIP: proteína inhibidora de apoptosis neuronal; COX: citocromo oxidasa,

En el caso de afectaciones en el ADN mitocondrial se han descrito hasta la fecha dos casos en que aparecen mutaciones en la secuencia de los genes que codifican para la subunidad I de la Citocromo C oxidasa (COX1)^x y en la subunidad 6 de la ATPasa^{xi}. Se trata de pacientes con un fenotipo de ELA, progresión lenta, y una afectación multisistémica, en donde se deberá estudiar la presencia de una mitocondriopatía.

- Casos Esporádicos:

1. Mutaciones en el gen de NEFH. Este gen se localiza en el cromosoma 22q12.2 (muy cerca del gen NF2). La cola c-terminal de la proteína esta compuesta de una repetición de aa X-Lys-Ser-Pro-Y-Lys (XKSPYK) donde la X en un aa y Y corresponde a 1-3 aa. Existen dos variantes polimórficas de 44 y 45 repeticiones. La cola probablemente regula el diámetro del axón siendo la fosforilación del motivo KSP la responsable del espaciamento interfilamento.

En la ELA se produce un depósito de NF en el perikaria y en el axón proximal. Los ratones que expresan NF en exceso muestran degeneración de NM^{xii}. En este trabajo también demuestra que en estos ratones existe una lentitud del transporte axonal con acúmulo de NF y de proteínas (tubulina, actina) y mitocondrias. Además se han encontrado mutaciones en la región c-terminal donde se codifica para la repetición KSP del NFH en pacientes con ELA^{xiii-xiv}. Sin embargo no encuentran mutaciones en este gen en 117 casos de ELA familiar^{xv}. Tampoco lo encuentra Vechio^{xvi}.

Al-cahalbi estudia dos poblaciones de ELA (UK 209 y Escandinavia 323) con controles (219 y 228) encontrando 4 nuevas mutaciones tipo delección de la cola, en 3 pacientes con ELA esporádica y otro con ELA familiar con AD^{xvii}. El otro alelo es el largo. El cuadro familiar corresponde a una familia con cuatro afectos en dos generaciones. La madre presenta una enfermedad de demencia con dificultades para deglutir y un hijo presenta un cuadro monomiélico. La delección afecta a los nucleótidos 1989-2030 siendo el otro alelo el L en los casos afectos y S en los sanos.

Finalmente también se ha identificado una inserción de 84 bp en la cola tras analizar 164 casos y 207 controles. La inserción codifica para 4 KSP extras. El otro alelo era el corto^{xviii}.

2. Mutaciones en APEX. Se encontraron en 6 de 11 pacientes pero un estudio con 153 pacientes identificaron un desequilibrio a un marcador polimórfico en el gen y encuentra una mutación en un paciente con ELA esporádica que muestra una mutación puntual missense^{xix}. Otro estudio posterior confirma este desequilibrio^{xx}.
 3. Mutaciones somáticas del mRNA del EAAT2 en hasta 61% de los pacientes con esporádica^{xxi}. Pero se han encontrado hallazgos similares en controles^{xxii}.
- Adicionalmente.
 1. No se ha encontrado evidencia de mutaciones en otros genes envueltos en la protección de la célula contra radicales libres como el gen SOD2 y el de la Catalasa^{xxiii}.
 2. Ratones modificados genéticamente para expresar periferina en cantidades excesivas muestran afectación de neuronas motoras de aparición tardía^{xxiv}. Ratones con mutaciones en genes del citoesqueleto expresan una enfermedad debilitante como mutaciones en neurofilamentos y dinein (fenotipo LOA en ratones con neuronopatía).
 3. Una familia con enfermedad de motoneurona de inicio en adulto joven, con afectación bulbar (parálisis de cuerdas) y facial y miembros superiores,

con progresión lenta. La debilidad en miembros inferiores es más tardía. En esta familia se encuentra ligamiento a la región 2p13 con lod score de 4.05 en D2S2109 y posteriormente se detecta una mutación (gly59ser) en el gen de la dynactina (DCTN1) en todos los miembros afectos^{xxv}. Este gen codifica para la unidad mayor del complejo encargado del transporte axonal de las neuronas motoras. La mutación predice un cambio en el plegado de la proteína mutada en el dominio de unión con microtúbulo de la proteína. Ensayos in vitro confirman una disminución de la unión de la dynactina al microtúbulo.

II- GENETICA COMPLEJA

Durante el simposio también se ha presentado un nuevo estudio de gemelos. Este tipo de estudio trata de cuantificar que peso tiene la carga genética y los factores ambientales para desarrollar la enfermedad. Lo que se hace es comparar el grado de “concordancia” (cuando los dos individuos desarrollan la enfermedad) según sean gemelos dicigotos (en los que solo se comparte la mitad de los genes, como cualquier hermano) o monocigotos (en los que se comparte el 100% de los genes). Este estudio esta siendo llevado a cabo por el grupo de la universidad Northwestern de Chicago. Tras revisar los registros de enfermos de ELA identifican 23 parejas de gemelos de las que solo pueden contactar con 22 parejas. Lo interesante es que disponen de muestras de DNA de ambos gemelos en todas las parejas. Además de vigilar la “concordancia” para la ELA, se les pasa un cuestionario que incluye historia del parto, ocupación que han tenido, etnicidad, historia médica, forma de inicio, actividad física, tabaquismo, ingesta de alcohol y de sustancias de abuso, traumas físicos y exposiciones a toxinas. Por ahora los índices de concordancia son similares en los casos mono o dicigotos, pero este es un trabajo que aun esta en progreso.

También se han presentado varios trabajos sobre otros genes que pueden predisponer a padecer la enfermedad. D90A y A4V que presentan un haplotipo común de unos 250 Kb alrededor del gen que se mantiene 63 generaciones en el primer caso^{mm}.

Finalmente se han presentado trabajos en los que muestra la importancia de las células que rodean a las neuronas motoras. Así se han creado ratones “quimera” mezclando células con SOD1 sana y mutada. Cuando el porcentaje de sana a mutada es del 65 a 35%, los animales no desarrollan la enfermedad.

- SMN 4 estudios

Estudio de la presencia de SMN2 y SMN1. Los holandeses muestran que la ausencia de copia SMN1 confiere un peor pronóstico de supervivencia. 1 copia de SMN1 aumenta el riesgo de desarrollar ELA y enfermedad de neurona motora inferior. La ausencia

de SMN1 no afecta al riesgo de desarrollar ELA, pero sí de enfermedad de neurona motora inferior.

- APEX 3 estudios.

La reparación del DNA por excisión de bases se considera un proceso fundamental en la reparación del daño al DNA oxidativo. La enzima apurinic/apirimidinic endonuclease (APE) juega un papel primordial en este proceso. Varios trabajos muestran que la población de ELA presenta un exceso de mutaciones en este gen (de hasta el 70%) y una caída de los niveles y actividad de la misma. Sin embargo un estudio largo escocés no confirma estos hallazgos iniciales, y solo muestra una frecuencia de mutaciones menor del 3%. Sin embargo identifica varios polimorfismos comunes incluyendo el D148E que muestra una asociación alélica con la ELA.

También se ha publicado un estudio en la población de Irlanda en busca de mutaciones en el gen APEX y valoración del polimorfismo D148E. Estudian 120 pacientes con ELA esporádicos y un número igual de controles. Un estudio SSCP y HPLC confirma la asociación entre el polimorfismo D148E y la presencia de ELA. Otro polimorfismo, el Q51H, también se encuentra más representado en los pacientes con ELA que en controles. Cerca del gen APEX en el cromosoma 14 se encuentra al gen de la angiogenina que comparte varias características funcionales con el VEGF. La secuencia del gen (angiogenina) en 40 pacientes con ELA esporádica muestra que este locus es muy polimórfico.

- VEGF 1 estudio

La forma VEGF δ/δ en ratón desarrolla MND (Nat Genet 2001)

Una reducción de la transcripción y de la traducción en ELA en las formas de VEGF con haplotipo AAG y AGG. Ello supone un incremento del riesgo de padecer ELA esporádica. Nuevas posibilidades terapéuticas.

Además, recientemente un ratón que carece del elemento que responde a la hipoxia en el promotor del gen que codifica para la VEGF muestra síntomas clásicos de ELA. Sin embargo aun no se han encontrado mutaciones en este gen en humanos.

BIBLIOGRAFIA

ⁱ Siddique T, Figlewicz DA, Pericak-Vance MA et al. Linkage of a gene causing familial amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 21 and evidence of genetic locus heterogeneity. *New Eng J Med* 1991; 324: 1381-1384.

ⁱⁱ Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.

ⁱⁱⁱ Orrel RW, habgood J, Rudge P et al. Difficulties in distinguishing sporadic from familial amyotrophic lateral sclerosis.

Ann Neurol 1996; 39: 810-812.

^{iv} Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, et al. Association of missense and 5-prime splice site mutations in tau with inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998; 393: 702-705.

^v Kawamata J, Shimohama S, Takano S, Harada K, Ueda K, Kimura J. Novel G16S (GGC-AGC) mutation in the SOD-1 gene in a patient with apparently sporadic young-onset amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mutat* 1997; 9 (4): 356-358.

^{vi} Jackson M, Morrison KE, Al-Chalabi A et al. Analysis of chromosome 5q13 genes in a ALS: homozygous NAIP deletion in a sporadic case. *Ann Neurol* 1996; 39: 796-800

^{vii} Comi GP, Bordoni A, Salani S et al. Cytochrome c oxidase subunit 1 microdeletion in a patient with motor neuron disease.

Ann Neurol 1998; 43: 110-116

^{viii} Hentati A, Bejaoui K, Pericak-Vance MA, Hentati F, Speer MC, Hung WY, Figlewicz DA, Haines J, Rimmler J, Ben Hamida M, Brown RH jr, Siddique T. linkage of recessive amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 2q33-q35.

Nature Genet 1994, 7: 425-428.

^{ix} Hosler BA, Sapp PC, Berger R; et al. Refined mapping and characterization of the recessive familial amyotrophic lateral sclerosis locus on chromosome 2q33.

Neurogenetics 1998, 2: 34-42.

^x Yang Y, Hentati A, Deng HX, Dabbagh O, Sasaki T, Hirano M, Hung WY, Ouahchi K, Yan J, Azim AC, Cole N, Gascon G, Yagmour A, Ben-Hamida M, Pericak-Vance M, Hentati F, Siddique T. the gene encoding Alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis.

Nature Genet 2001, 29: 352.

^{xi} Finsterer J. Mitochondriopathy mimicking ALS.

Neurologist 2003, 9 (1): 458.

^{xiii} Collard JF, Cote F, Julien JP. Defective axonal transport in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis.

Nature 1995, 375: 61-64

^{xiiii} Figlewicz DA, Krizus A, Martinoli MG, Meininger V, Dib M, Rouleau GA, Julien JP. Variants of the heavy neurofilament subunit are associated with the development of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1757-1761.

^{xiv} Al-Chalabi A, Andersen PM, Nilsson P, et al. Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis.

Hum Mol Genet 1999; 8: 157-164.

^{xv} Rooke K, Figlewicz DA, Han F, Rouleau GA. Analysis of the KSP repeat of the neurofilament heavy subunit in familial amyotrophic lateral sclerosis.

Neurology 1996, 46: 789-790

^{xvi} Vecchio JD, Bruijn LI, Xu Z, Brown RH Jr, Cleveland DW. Sequence variants in human neurofilament proteins:

Absence of linkage to familial amyotrophic lateral sclerosis.

Ann Neurol 1996, 40: 603-610

^{xvii} Al-Chalabi A, Andersen PM, Nilsson P, Chioza B, Andersson JL, Russ C, Chaw CE, Powell JF, Leigh PN. Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis.

Hum Molec Genet 1999, 8: 157-164

^{xviii} Tomkins J, Usher P, Slade JY, Ince PG, Curtis A, Bushby K, Shaw PJ. Novel insertion in the KSP region of the neurofilament heavy gene in amyotrophic lateral sclerosis.

Neuroreport 1998, 9: 3967-3970

^{xix} Olkowski ZL, Mutant AP endonuclease in patients with ALS.

Neuroreport 1998, 9: 239-242.

^{xx} Hayward C, Colville S, Swingler RJ, Brock DJH.

Molecular genetic analysis of the APEX nuclease gene in ALS.

Neurology 1999, 52: 1899-1901

^{xxi} Nagai M, Abe K, Okamoto K, et al. Identification of alternative splicing forms of GLT-1 mRNA in the spinal cord of amyotrophic lateral sclerosis patients.

Neurosci Lett 1998; 244: 165-168

^{xxii} Meyer T, Fromm A, Munch C, et al. The RNA of the glutamate transporter EAAT2 is variably spliced in amyotrophic lateral sclerosis and normal individuals

J Neurol Sci 1999; 170: 45-50

^{xxiii} Parboosingh JS, Roueal GA, Meninger V, et al.

Absence of mutations in the Mn superoxide dismutase or catalase genes in familial Amyotrophic Lateral Sclerosis.

Neuromusc Disord 1995; 5: 7-10

^{xxiv} Beaulieu JM, Nguyen MD, Julien JP. Late onset death of motor neurons in mice overexpressing wild-type peripherin.

J Cell Biol 1999; 147: 531-544

^{xxv} Puls I, Jonnakuty C, LaMonte BH, Holzbaur EL, Tokito M, Mann E, Floeter MK, Bidus K, Drayna D, Oh SJ, Brown RH, Ludlow CL, Fischbeck KH. Mutant dynactin in motor neuron disease.

Nature Genet 2003, 33: 455-456

Sesión Clínica

FASES AVANZADAS EN LA ENFERMEDAD

Dr. Luis Varona

Servicio de Neurología. Hospital de Basurto. Bilbao

La ELA como enfermedad crónica que lleva asociada la discapacidad física, invariablemente provoca en los que la sufren trastornos emocionales, sociales y espirituales. También estos han de ser abordados por el equipo de profesionales de la salud, aunque con más frecuencia de la que quisiéramos cuanto podemos hacer es escuchar y compartirlos.

Este planteamiento es esencial en las enfermedades en las que aun queda lejos poder ofrecer una curación; desde el mismo momento del diagnóstico se deben ofrecer cuidados paliativos, que buscan la atención activa e integral, enfocados en la calidad de vida de paciente y familia.

En la ELA en fase avanzada el profesional de la salud comprueba en toda su extensión la evolución de la "enfermedad" al "enfermo". La vivencia de unos síntomas inicialmente estereotipados hace que se transformen y obliguen a un acercamiento individualizado, "a medida" para cada paciente. Conceptos tan en boga como "calidad de vida" por fuerza los definimos en función de a quien los aplicamos. Con frecuencia paciente y su familia tienen malestares, miedos y dudas no explicitadas. Nos corresponde facilitar nuestra accesibilidad y la

coordinación con otros profesionales de atención primaria y especialistas. Incluso las medicinas alternativas deben estar normalizadas si ese es el deseo informado de quien las requiere. Es un momento oportuno para hablar, si no se ha hecho antes, de los documentos de voluntades anticipadas, que tienen valor moral y legal, comprometiendo a todos cuantos intervendrán en la atención al enfermo de ELA.

El dolor y la desesperanza son los factores que mas influyen en el sufrimiento al final de la vida. Disponemos de medidas eficaces para desterrar el dolor, a través de fisioterapia, tratar calambres y espasticidad, y analgésicos si fuera preciso. Muchos pacientes en esta fase ya tienen sistemas de ventilación mecánica a domicilio, y la mayoría no desean ser sometidos a traqueostomía una vez informados de pros y contras. En fase terminal, que se suele intuir, puede aparecer ansiedad y aumento del trabajo respiratorio que se puede rebajar con fármacos adecuados y eficaces. No se produce asfixia y generalmente sobreviene una sensación de somnolencia y paz.

Nuestro trabajo no ha terminado aún; ofrecer acompañamiento a la familia tras el fallecimiento del enfermo es el siguiente paso lógico y obligado, sobre todo cuando lo probable es que el cansancio –no solo físico-

halla mermado gravemente la capacidad de aceptar y sobreponerse de todo el tejido familiar.

El enfermo de ELA participará casi hasta el momento final en todo este proceso de atención de sus necesidades. A los profesionales de la salud nos toca mejorar en accesibilidad, detectar el sufrimiento, los miedos, y ayudar a desarrollar mecanismos de aceptación.

PLAN NUTRICIONAL

Dra. Nieves González. Gumersindo Fernández Vázquez.

Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Carlos III. Madrid

Durante la evolución de los pacientes con ELA se observan con frecuencia alteraciones nutricionales de distinto grado en correlación con el grado de disfunción de la capacidad vital pulmonar. Resultan de la disfunción motora progresiva de la musculatura esquelética que interviene en el proceso de la alimentación: adquisición, elaboración, ingesta, masticación y deglución de los alimentos. Ello supone un riesgo de distintos grados de malnutrición calórico-proteica, déficits vitamínicos o de hidratación, que a su vez pueden repercutir negativamente en la función motora, respuesta inmunitaria y en la calidad de vida general de estos pacientes. El impacto cuantitativo de estos problemas es, en gran parte desconocida, debido a la escasez de estudios clínicos de diseño apropiado.

I. VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL

IA. Objetivo: establecer el estado energético-proteico, hidroelectrolítico y las consecuencias clínicas de posibles déficits vitamínicos.

IB. Parámetros y técnicas:

Antropometría: Peso, talla, índice de masa corporal ($IMC = \text{Peso(Kg)}/\text{Talla}^2(\text{m}^2)$), pliegues cutáneos (tricipital y braquial), perímetro abdominal, circunferencia muscular braquial media, índice creatinina-talla.

Estudio analítico: albúmina, transferrina, ferritina, hemograma, iones, lípidos, vitaminas.

IC. Interpretación:

- 1. IMC apropiado (20-26)** es una estimación simple de las reservas energéticas, excluyendo edemas, deshidratación y atrofia muscular. La intensidad de la pérdida de peso involuntaria en función del tiempo, incluso dentro de cifras de IMC aceptables, constituye un signo de alarma de desnutrición calórica o calórico-proteica. Por el contrario, la ganancia de peso por encima de valores apropiados, es signo de sobrepeso u obesidad, con impacto también

negativo sobre la motricidad y función respiratoria. No se ha definido cuál sería el rango apropiado de IMC específicamente para estos pacientes, por lo que es necesario recurrir a lo establecido para la población general. Es útil referir la pérdida de peso al peso habitual del paciente (en %) y en función del tiempo de observación: se considera una pérdida de peso severa cuando es mayor del 5% en un mes o del 10% en seis meses.

- 2. Los pliegues cutáneos tricipital y subescapular**, reflejan los depósitos grasos periféricos y, por tanto, el balance calórico. Cifras de pliegues < P10 indican malnutrición calórica importante.
- 3. El perímetro abdominal**, excluyendo ascitis, refleja la grasa subcutánea central y su disminución indica un balance calórico negativo por desnutrición calórica.
- 4. La circunferencia muscular braquial media** (Circunferencia braquial media- Pliegue tricipital x 0.31416) y la eliminación de creatinina en orina de 24 h en % para el teórico de la misma talla, reflejan la masa muscular somática. Su descenso significativo (< 80 % del teórico) indica una disminución de la masa muscular por la ELA o por malnutrición proteica.
- 5. La albúmina y transferrina** reflejan la síntesis de proteínas por el hepatocito (proteínas viscerales de recambio lento), siendo buenos índices de nutrición proteica apropiada, en ausencia de hepatopatía. Su grado de descenso permite clasificar el grado de desnutrición proteica:

MALNUTRICIÓN PROTEICA	ALBÚMINA	TRANSFERRINA
Leve	2.8-3.5	150-200
Moderada	2.1-2.7	100-150
Severa	< 2.1	< 100

ID. Resultados: Con la valoración nutricional periódica podemos conocer si el estado nutricional es apropiado o inadecuado y su evolución en respuesta al tratamiento

II. INTERVENCIÓN NUTRICIONAL EN ELA

- 1. Detección precoz** de déficits nutricionales mediante evaluaciones periódicas (trimestrales) del estado nutricional y la encuesta dietética que tiene como objetivo averiguar si la ingesta de nutrientes es apropiada, en cantidad y calidad.

2. Prevención de la malnutrición o tratamiento mediante:

- EDUCACIÓN DIETÉTICA Y NUTRICIONAL DEL ENTORNO FAMILIAR.
- RECOMENDACIONES PARA MITIGAR LAS DIFICULTADES DE MASTICACIÓN Y LA DISFAGIA LEVE:
 1. Evitar alimentos sólidos crujientes, resquebrajables.
 2. Utilizar alimentos de textura sólida, pero blanda y homogénea mediante:
 - * Formas de cocinado o elaboración (como yogur, cuajada, flan, pudding, tortilla, gelatina, buñuelos, mermelada y cremas).
 - * Gelificación de líquidos y sopas con espesantes comerciales.
 - * Suplementos calórico-proteicos comerciales de consistencia “pudding”.
- PLANTEAMIENTO PRECOZ DE ALTERNATIVAS COMO LA GASTROSTOMÍA ENDOSCÓPICA PERCUTÁNEA (GEP). En caso de disfagia importante o déficits nutricionales incipientes no aliviados con las medidas anteriores. Es muy importante tener en cuenta que la alimentación por sonda y oral no son excluyentes, pudiendo el paciente comer normalmente los alimentos que desee y utilizar la sonda para aquellos alimentos que no pueda o quiera tragar.
- SELECCIÓN DEL TIPO DE ALIMENTOS: la alimentación natural y las fórmulas nutricionales tienen ventajas e inconvenientes, la opción se basa sobre todo en el grado de colaboración familiar: si es alta es preferible utilizar alimentos naturales. Si es baja, sería prioritaria la fórmula nutricional. En todo caso ambas se complementan y pueden compaginarse.

Sesión Poster

MUTANTES DE SOD1: PLEGAMIENTO DEFECTUOSO Y AGREGADOS

Virginia Arechavala Gomeza , Steven J Banner ,

Christopher CJ Miller , Christopher E Shaw

Department of Neurology, Institute of Psychiatry, De Crespigny Park, London SE5 8AF, UK.

Estructura de la Cu/Zn Superóxido dismutasa (SOD1)

- Pequeño homodímero citosólico.
- Zinc estructural y cobre catalítico dentro de un canal activo.
- El superóxido es atraído por el canal cargado positivamente y es dismutado por el cobre catalítico.(CuII)

Más de 100 mutaciones, un solo desenlace.

- >100 mutaciones diferentes en >80 aminoácidos descritas.
- Todas asociadas con ELA.
- Las mutaciones están repartidas por toda la proteína.
- Pero, ¿cómo matan motoneuronas las mutaciones de SOD1?

Toxicidad de la SOD1: Hipótesis catalíticas vs agregación

SOD1 mata motoneuronas por un aumento de función tóxica

- **Hipótesis catalíticas**
- Daño oxidativo por cobre libre o sustratos aberrantes que liberan radicales libres
- **Hipótesis sobre agregados**
- Presencia de inclusiones SOD1-positivas en motoneuronas enfermas.
- También presentes en líneas celulares no neuronales e incrementado por la presencia de inhibidores del proteasoma.¹

OBJETIVOS

Para resolver dudas sobre si la toxicidad de SOD1 se debe a mecanismos catalíticos o a agregados (o ambos) se han transfectado células no neuronales CHO (Chinese Hamster Ovary) y estudiado las características de los agregados formados. En este poster, se han estudiado los siguientes puntos:

- **Agregados en células CHO vs agregados in vivo**

Comparando la presencia de SOD1 de alto peso molecular en una serie de mutantes SOD1 transfectados en células CHO con los encontrados en el ratón transgénico G93A.

- **Función del cobre y zinc en la agregación**

Las hipótesis catalíticas dependen de cobre unido a SOD1. Estudios recientes muestran toxicidad en modelos SOD1^{2,3} libres de cobre. Para averiguar si la toxicidad pudiera estar ligada a la presencia de agregados, se usó mutagénesis dirigida para crear nuevos mutantes incapaces de aceptar cobre o zinc, basados en SOD1 WT o G37R.

- **Posible función de la dimerización en la agregación.**

Estudios anteriores han mostrado especies de alto peso molecular que se corresponden con 2-3 monómeros de SOD1. WT SOD1 es un homodímero y las mutaciones pueden interferir con la dimerización. Para crear monómeros que nos ayudaran a responder a esta pregunta se crearon mutaciones en el dominio de interacción del homodímero (F50E,G51E).

Conclusiones

Presencia de agregados en líneas celulares no neuronales transfectadas con mutantes SOD1.

Los agregados en células CHO se asemejan a los presentes en lisados de ratón G93A. Todos los mutantes SOD1 utilizados mostraron una disminución de la solubilidad en el detergente. Los agregados se encuentran exclusivamente en el pellet, mientras que los monómeros de la proteína mutante están preferentemente en la fracción soluble. La inhibición del proteasoma (con ALLN) aumenta la cantidad de SOD1 detectable en agregados.

Función del cobre en la agregación

Los mutantes deficientes de cobre basados en WT no muestran bandas de alto peso molecular en este modelo celular no neuronal. Los basados en G37R no ven sus agregados reducidos por la deficiencia de cobre, sugiriendo que el cobre no está directamente relacionado con la formación de estos agregados. Sin embargo, G37R deficiente de cobre corre a un nivel más bajo en el gel que el original G37R, en sus formas monoméricas y de alto peso molecular, sugiriendo un aumento en el desdoblamiento de la proteína.

Función del zinc en la agregación

La deficiencia de zinc no parece ser suficiente para generar bandas de alto peso molecular en los mutantes basados en WT SOD1, ni tampoco de reducir las presentes en G37R. Sin embargo, tanto WT Zn- Como G37R Zn- muestran cambios en su solubilidad en detergentes y corren a un nivel más bajo en geles de acrilamida, al igual que mutantes con bajo contenido en metales, como G85R. Esto, y la presencia de bandas de menor peso molecular que los

monómeros puede indicar que los mutantes deficientes de zinc podrían ser estructuralmente inestables y más propensos al desdoblamiento.

Dimerización y agregación

La mutación del dominio de unión del homodímero no previene la agregación de los mutantes G37R y G85R. El mal plegamiento de la proteína causado por mutaciones puede, por lo tanto, crear nuevos dominios de interacción que resulten en agregación, (Ejemplo: en un lugar distinto al habitual dominio en WT SOD1). Esta nueva interacción podría aumentar la posibilidad de la agregación de SOD1. La posible presencia de multímeros en el monómero creado a partir de la proteína WT podría indicar que la desaparición del dominio de unión del homodímero sea un paso común en la formación de agregados.

Referencias:

- 1 Johnston, J. A., et al. (2000). "Formation of high molecular weight complexes of mutant Cu, Zn-superoxide dismutase in a mouse model for familial amyotrophic lateral sclerosis." *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**(23): 12571-6.
- 2 Wang J, et al (2003). "Copper-binding-site-null SOD1 causes ALS in transgenic mice: aggregates of non-native SOD1 delineate a common feature." *Hum Mol Genet.* 2003 Nov 1;12(21):2753-64.
- 3 Subramaniam, J. R., et al. (2002). "Mutant SOD1 causes motor neuron disease independent of copper chaperone-mediated copper loading." *Nat Neurosci* **11**: 11.
- 4 Estevez AG, Crow JP, Sampson JB, Reiter C, Zhuang Y, Richardson GJ, et al. Induction of nitric oxide-dependent apoptosis in motor neurons by zinc-deficient superoxide dismutase [see comments]. *Science* 1999; 286: 2498-500.

(POSTER PRESENTADO EN INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ALS, NIZA MAYO 2004)

Noticias

NATURE MEDICINE

Volumen 10, Number 4 – April 2004

EL TRATAMIENTO CON ARIMOCLOMOL, UN COINDUCTOR DE LAS PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO, RETRASA LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD EN RATONES CON ELA.

Dairin Kieran, Bernadett Kalmar, James R T Dick, Joanna Riddoch-Contreras, Geoffrey Burnstock & Linda Greensmith

El arimoclomol es un análogo del bimoclomol, un derivado de la hidroxilamina que actúa como un coinductor de la expresión de las proteínas de choque térmico (PCT). Los compuestos de esta pequeña molécula interactúan y amplifican la respuesta de choque térmico, un potente y probado mecanismo citoprotector, al menos en enfermedades agudas. En la enfermedad crónica, la respuesta de choque térmico parece ser insuficiente para soportar la exposición prolongada de la célula a un ambiente o condiciones estresantes. Las PCT se regulan en el tejido humano de pacientes con ELA y en el ratón con la mutación SOD1. En las motoneuronas, la toxicidad de la proteína mutada SOD1 puede reducir la disponibilidad de estas proteínas de choque térmico, y por tanto alterar sus funciones anti- apoptosis (muerte celular) normales y reducir sus efectos citoprotectores. Las estrategias encaminadas a incrementar los niveles de estas proteínas de choque térmico pueden, por tanto, ser eficaces en la protección de las motoneuronas frente a la muerte celular en la ELA. De hecho, se ha demostrado que elevando los niveles de PCT mediante el tratamiento con un coinductor de PCT se rescata a las motoneuronas de la muerte en un modelo de degeneración de neurona motora con daño nervioso.

En el estudio se examinó si el arimoclomol podía evitar la pérdida progresiva de motoneuronas y de función muscular en ratones con la mutación SOD1. En estos ratones tratados con arimoclomol hubo un incremento significativo en la supervivencia de las unidades motoras. Se estudió también el patrón de fatiga muscular calculándose un índice de fatiga. En los ratones tratados el músculo permaneció soportó mejor la fatiga, con un índice de fatiga significativamente mejor.

Se determinó la supervivencia de las neuronas motoras y se vio que el tratamiento con arimoclomol incrementó significativamente la supervivencia de las motoneuronas. En los ratones tratados hubo un aumento del 74% en la supervivencia de las motoneuronas con respecto al grupo de ratones no tratados. Además, el estudio mostró que el arimoclomol rescató un número considerable de motoneuronas grandes, las cuales son especialmente vulnerables a la muerte celular en la ELA.

La supervivencia de las motoneuronas también fue mayor (incremento del 56%) en los ratones tratados con arimoclomol en la etapa final de la enfermedad.

La mejora en la supervivencia de las neuronas motoras se reflejó en el retraso en la aparición de muchos de los signos de la enfermedad. Asimismo, se observó un incremento del 22% en el promedio de vida de estos ratones.

Los resultados del estudio mostraron que el tratamiento con arimoclomol retrasa significativamente la progresión de la enfermedad en los ratones con la mutación SOD1, incluso administrado después del inicio de los síntomas.

Una nueva línea de investigación en ELA (PUTTING THE HEAT ON ALS)

Susanna C. Benn & Robert H Brown, Jr.

Un intensificador de la respuesta de shock térmico alivia los síntomas de la neurodegeneración y prolonga la esperanza de vida en un modelo murino de ELA, incluso cuando es administrado después del comienzo de los síntomas.

En pacientes con ELA, también conocida como enfermedad de Lou Gehrig, la degeneración de las neuronas motoras causa una debilidad muscular progresiva, atrofia y parálisis. El fallo respiratorio lleva de forma inexorable a la muerte, normalmente en 4 o 5 años. No existe un tratamiento definitivo para esta enfermedad; el Riluzole, el único fármaco aprobado para la ELA, es el mejor de los casos paliativo, y prolonga la supervivencia sólo en un 10 - 15%. La causa de la mayoría de los casos de ELA no está definida, pero un pequeño porcentaje de casos (en torno al 2 - 3%) están causados por mutaciones en el código genético de la superóxido dismutasa-1 Cu/Zn citosólica.

En este aspecto, *Kieran et al.* proporcionan evidencia de que una nueva categoría de moléculas puede mejorar la enfermedad. Estos investigadores muestran que el tratamiento diario con Arimoclomol, un coinductor de las proteínas de shock térmico, enlentece el proceso de la muerte de las neuronas motoras y por ello prolonga la supervivencia en un modelo de ratón transgénico SOD1-G93A de ELA.

Varios índices de viabilidad de las neuronas motoras, incluyendo recuentos celulares y mediciones del número de unidades motoras y del índice de fatiga muscular (una medida de la disfunción temprana de las neuronas motoras) confirman el beneficio del Arimoclomol, particularmente para neuronas motoras grandes. El tratamiento es notable tanto por su grado de

efectividad como porque funciona en ratones que ya son sintomáticos.

A pesar de las intensivas investigaciones, los mecanismos patogénicos no han sido identificados con certeza para ningún tipo de ELA. Está claro que en roedores transgénicos niveles elevados de proteína SOD-1 mutante matan a las neuronas motoras de una forma dosis-dependiente. En estos modelos, múltiples procesos contribuyen a la muerte de las neuronas motoras, incluyendo la temprana alteración del plegamiento y la agregación de la proteína SOD-1 mutante, la excitotoxicidad mediada por un fallo del transporte sináptico del glutamato al interior de las células gliales, la disminución de la generación de energía debida a la disfunción mitocondrial y el transporte axonal debilitado.

Tanto en roedores como en humanos, las neuronas motoras afectadas motivan la proliferación de los astrocitos circundantes y de las células microgliales en la sustancia gris espinal afectada. La expresión genética y los estudios bioquímicos revelan señales de inflamación, así como activación de la ciclooxigenasa. Estos hallazgos son evidentes tanto en casos de ELA esporádicos como en aquellos asociados con SOD-1 mutante. El proceso de la muerte de la neurona motora no es autónomo celular. De hecho está íntimamente relacionado con el contexto de las células circundantes; la muerte celular de las neuronas motoras que expresan proteína SOD-1 mutante puede ser evitada por células circundantes no neuronales.

Varios aspectos de los nuevos hallazgos son notables. Primero, el Arimoclomol prolonga la supervivencia cuando es administrado después del comienzo de la enfermedad. Hasta hoy, más de 70 fármacos han sido probados en estos ratones, pero no se han publicado informes sobre compuestos que sean beneficiosos cuando su administración empieza después de que la enfermedad ha comenzado. Es más, pocos compuestos prolongan la supervivencia más del 10%, incluso cuando se comienzan a administrar presintomáticamente.

En segundo lugar, este estudio provee una nueva aproximación terapéutica a esta enfermedad: intensificación de la respuesta de shock térmico. Indirectamente, esto sostiene la hipótesis de que el talón de Aquiles celular en la ELA hereditaria (y posiblemente también esporádica) es la acumulación de proteína SOD-1 con alteración del plegamiento y algunas proteínas fijadoras asociadas. Tal acumulación podría tener consecuencias posteriores terribles, incluyendo toxicidad directa para las organelas celulares y disfunción proteosomal. En este sentido, *Kieran et al.* han validado estudios *in vitro* tempranos que muestran que la expresión de la proteína-70 de shock térmico (HSP-70) disminuye los efectos neurotóxicos de la SOD-1 mutante expresada de forma aguda.

En tercer lugar, este estudio sugiere que manipulando la vía completa del shock térmico se consigue una neuroprotección más profunda que cuando se alteran niveles de moléculas HSP individuales.

La expresión transgénica de HSP-70 sola no enlentece la progresión de la enfermedad en estos ratones con ELA. En contraste, el Arimoclomol lo hace, presumiblemente porque actúa fisiológicamente. Los autores documentan que el Arimoclomol induce la fosforilación de una proteína de shock térmico (induciendo el factor HSF-1 y por ello regulando por encima la expresión de la HSP-70 y la HSP-90). La molécula puede también regular por encima cochaperonas como HSP-40, CHIP y Bag.

En cuarto lugar el estudio sugiere que otros activadores de la respuesta de shock térmico también pueden demostrar beneficios en los ratones SOD1-G93A y enfermedades asociadas. Entre los ejemplos se encuentra la Carbenoxolona, un fármaco antiulceroso que activa directamente el promotor de la HSP-70; también el compuesto herbal Celastrol; también el antiinflamatorio indometacina que entre otros mecanismos, activa el ligador de DNA de la HSF-1.

Este estudio debería generar a continuación varias investigaciones. Lo que es más importante, será crucial mostrar que estas observaciones son robustas. Los hallazgos actuales son el resultado de estudios en un número relativamente pequeño de ratones, así que la repetición es de extraordinaria importancia.

También será importante estudiar más sobre como actúa el Arimoclomol. Por ejemplo, que quinasas y fosforilasas afectan al HSF-1, y si éstas son también dianas del fármaco. También tiene interés la posibilidad de que las sustancias que regulan por encima coordinadamente las HSPs y sus cochaperonas sean terapéuticas en otras enfermedades neurodegenerativas, muchas de las cuales son una consecuencia de la inestabilidad proteica (por ejemplo, β -amiloide en la Enfermedad de Alzheimer, &-synucleina en la Enfermedad de Parkinson, huntingtina en la Enfermedad de Huntington, y proteína priónica en la Enfermedad de Creutzfeld-Jacob)

Será importante establecer si la potenciación del shock térmico y de las respuestas de las proteínas chaperonas es beneficioso en los casos de ELA que no surgen de las mutaciones del gen SOD1. Porque los fenotipos celulares y bioquímicos de ELA esporádica y familiar se superponen considerablemente, podemos anticipar que la inducción de HSF-1 será beneficiosa para todos los tipos de ELA. Al no existir, no obstante, un modelo animal para la ELA esporádica, esto sólo será resuelto con ensayos clínicos en humanos.

Los efectos neuroprotectores de la activación de las HSP posiblemente se extiendan a situaciones tales como accidentes cerebrovasculares o traumatismos del cerebro y médula espinal. El Bimoclomol, un análogo del Arimoclomol, induce la expresión de la HSP-70 y previene la degeneración neuronal en un modelo neonatal de muerte de neuronas motoras y sensoriales, y en modelos de neuropatía diabética, daño cardiovascular, isquemia y daño por reperusión.

El conocimiento de los defectos genéticos que causan la neurodegeneración en la ELA ha llevado a profundizar en la patogénesis molecular, y a desarrollar

modelos de enfermedad en ratones transgénicos y sistemas sencillos *in vitro*. La esperanza última en estas herramientas es que facilitarán el descubrimiento de

nuevos fármacos y terapias. Este estudio de *Kieran et al.* es un paso importante en esta dirección.

Eventos

Con motivo del 2º aniversario de FUNDELA, el próximo día 13 de noviembre se realizará una **Cena benéfica en apoyo a la investigación en ELA**, como habrá una reunión informativa previa, la hora prevista de empezar es a las 20.30 horas. La cena se llevará a cabo en el restaurante – **Venta Magullo** – Crta. Soria Plasencia s/n, Segovia. www.venta-magullo.net . El precio de la cena es 35 €por persona. Si no podéis venir, también podéis ayudarnos con vuestra donación, con la cantidad que ustedes crean conveniente, cualquier ayuda nos vendrá bien, para poder seguir trabajando y cumplir así nuestros objetivos de investigación; existe la fila cero con el número de cuenta en la Caja Madrid: 2038-1816-26-6000378548

Este evento se está llevando a cabo gracias a la colaboración de la familia de Miguel Martín, afectado de ELA, y a la colaboración de varios voluntarios de FUNDELA.

Con este tipo de actividades queremos lograr una mayor concienciación de la sociedad sobre la importancia de la investigación en ELA.

ESTÁIS TODOS INVITADOS A PARTICIPAR

Hoja de Colaboración con FUNDELA

Actualmente estamos trabajando en los siguientes proyectos de investigación, para lo cual solicitamos su *donación económica*:

1. CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y MOLECULAR DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA) FAMILIAR EN ESPAÑA. (PROYECTO MULTICENTRICO COORDINADO): BASE DE DATOS NACIONAL, CALIDAD DE VIDA E IMPACTO SOCIO SANITARIO.

Este proyecto de Investigación coordinado tiene como objetivos principales:

- a) La caracterización del fenotipo y genotipo de las formas familiares de Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) en el territorio español,
- b) Creación de un registro nacional de esta enfermedad que permita conocer la prevalencia en la población española
- c) Caracterización de Calidad de Vida y Situación Asistencial Social y Sanitaria de todas las familias estudias que participaran en el estudio. Elaboración de un programa de Promoción de Salud Mental que contribuya eficazmente a la consecución y mejora del paciente y sus familiares.

Equipo del Dr. Mora (Hospital Carlos III de Madrid) y Equipo del Dr. Esteban (Hospital 12 de Octubre). 2001-2006

2. Boletín Científico Información sobre avances en la ELA, folleto enviado vía internet, que luego será expuesto en la página web. Las noticias son de carácter científico de avances, descubrimientos, ensayos clínicos etc. La Periodicidad es Trimestral y está dirigido a enfermos, familiares y profesionales que están en relación con la ELA en España y países de habla hispana. El objetivo principal es poder llegar al mayor número posible de personas

Comité Asesor Científico de FUNDELA

3. Ensayo clínico multinacional aleatorio doble ciego, con placebo controlado, con grupos paralelos de mecanismo de ONO-2506PO en presencia de Riluzol en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica.

Equipo del Dr. Mora (Hospital Carlos III de Madrid). 2003-2004

Por medio de la donación de Euros, que les envío por:

- ▲ ▲ **Cheque bancario que adjunto, a favor de FUNDELA**
 - ▲ ▲ **Transferencia a la cuenta: 2038 / 1816 / 26 / 6000378548**
 - ▲ ▲ **Domiciliación a mi c/c o libreta/...../...../.....**
- ▲ Unica ▲ Trimestral ▲ Semestral ▲ Anual

Para que pueda deducir la aportación en mi próxima Declaración de Renta, mis datos personales, confidenciales, de uso exclusivo de FUNDELA y que puedo comprobar y rectificar cuando desee, son:

Nombre:NIF:.....

Dirección:.....

CP/Ciudad/Provincia:.....

Teléfono/s:..... E-mail:.....

Firma:

Fecha:

FUNDELA CONSIDERARÁ PUBLICAMENTE A PERSONAS O ENTIDADES COMO:

Amigo/a: En donaciones hasta 1.000 Euros

Benefactor/a: En donaciones hasta 3.000 Euros

Benefactor/a Mayor: En donaciones hasta 10.000 Euros

Protector/a: En donaciones hasta 30.000 Euros

Protector/a Mayor: Donaciones hasta 100.000 Euros

Mecenas: En donaciones superiores

**Recorte esta hoja y envíela a: FUNDELA,
Sinesio Delgado, 10. 28029 Madrid**