



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultat de Biologia

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

# Bases cel·lulars i moleculars de l'Esclerosi lateral amiotròfica (ELA).

M<sup>a</sup> Mercedes Coll Capó

**Grau Biologia**

Any acadèmic 2013-14

DNI de l'alumne: 43217615V

Treball tutelat per: Dr. Gabriel Olmos

Departament de Biologia



S'autoritza la Universitat a incloure el meu treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línea, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Paraules clau del treball:

ELA, SOD1, excitotoxicitat, neuroinflamació, TNF- $\alpha$ ...



## ÍNDEX

INTRODUCCIÓ A ELA .....	4
ETIOLOGIA DE L'ELA.....	5
ELA FAMILIAR.....	5
ELA ESPORÀDICA.....	5
MUTACIÓ DE LA SOD1.....	6
SELECTIVITAT NEURONAL DE L'ELA.....	6
PROCESSOS IMPLICATS A L'ELA .....	7
EXCITOTOXICITAT.....	8
NEUROINFLAMACIÓ.....	11
MORT NEURONAL A L'ELA.....	14
APOPTOSI.....	14
AUTOFAGIA.....	16
TERÀPIES .....	17
TERÀPIA ANTIINFLAMATÒRIA.....	18
TERÀPIA ANTIOXIDANT.....	18
FACTORS NEUROTRÒFCS.....	18
TERÀPIA GÈNICA.....	18
CÈL·LULES MARE.....	19
ESTAT ACTUAL DE L'ELA .....	19
CONCLUSIÓ.....	23
OBJECTIUS.....	24
RECERCA BIBLIOGRÀFICA.....	24
BIBLIOGRAFIA.....	25

## INTRODUCCIÓ A ELA

L'esclerosi lateral amiotròfica, descrita per Jean-Martin Charcot per primera vegada l'any 1867, és un tipus de malaltia neurodegenerativa, progressiva i letal que afecta de manera selectiva a les motoneurons. Els pacients afectats per aquesta malaltia, presenten dificultats respiratòries com a conseqüència de la degeneració i mort prematura de les motoneurons, que poden acabar provocant una paràlisi fatídica. Degut a que la malaltia afecta principalment a les motoneurons, la capacitat cognitiva dels pacients no es veu alterada, fent que els pacients siguin conscients en tot moment de la seva pèrdua progressiva i selectiva de funcions. Es troba classificada dins el grup de les malalties rares ja que afecta aproximadament al 0.05% de la població. La malaltia afecta principalment a individus entre 40 i 70 anys, especialment als homes. La incidència (nombre de nous casos per any) i la prevalença (proporció d'individus afectats a la població) és d'1-2 i 4-6 per a cada 100.000 habitants respectivament. Però si cenyim la incidència a una edat entre 60 i 69 anys, els dos casos nous es converteixen en 15, amb la qual cosa l'envelliment de la població comporta un augment significatiu.

La denominació de Charcot, trobada a l'article d'Esquerda (2005), incorpora dos aspectes clínicopatològics característics: l'esclerosi lateral i l'amiotròfica.

- esclerosi lateral: indica la pèrdua de fibres nervioses de la regió lateral de la medul·la espinal.

- amiotròfica: aquest terme fa referència a l'atrofia muscular que es produeix quan els músculs estan crònicament inactius per falta d'innervació.

L'ELA pertany a un grup de malalties conegudes com malalties de la motoneurona (MN). En aquesta malaltia se veuen afectades tant les motoneurons superiors (MNS) com les inferiors (MNI). En condicions normals, les motoneurons superiors (MNS) que es troben en el còrtex motor del lòbul frontal, envien els seus axons al tronc de l'encèfal (neurons corticobulbars) així com a la medul·la espinal (neurons corticoespinals), influint en el patró d'activitat de les motoneurons inferiors (MNI), que es localitzen en el tronc de l'encèfal i la medul·la espinal i innerven el múscul estriat. Es aquest sistema el que es veu alterat en l'ELA (McGuire et al. 1996; Mulder, 1982). A l'hora de realitzar un moviment voluntari és necessari que el cervell envii un ordre a un múscul, és aquí on intervenen les motoneurons. Les motoneurons superiors o de primer ordre són les encarregades de generar l'ordre del moviment que transmeten a les motoneurons inferiors o de segon ordre. És l'axó d'aquestes motoneurons inferiors l'encarregat de transmetre l'ordre al múscul (Fig. 1).

L'ELA és una malaltia d'origen desconegut, excepte les formes genètiques; s'han donat nombroses hipòtesis per tractar d'explicar els mecanismes que desencadenen aquesta malaltia, tot i això tot apunta a que la causa no és única, sinó multifactorial. Al no conèixer-se les causes per les que es produeix la malaltia, resulta molt difícil trobar un tractament efectiu (Gasco, 2013).

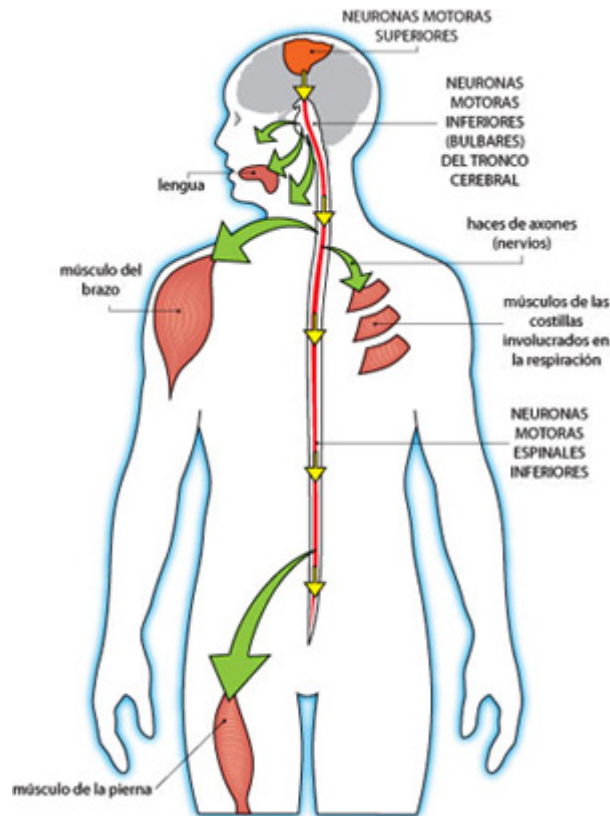


Fig. 1: tipus de motoneurons.

## ETIOLOGIA DE L'ELA

L'ELA es pot dividir en dues variants segons la seva etiologia: ELA familiar i ELA esporàdica.

- ELA FAMILIAR

L'ELA familiar suposa tan sols entre un 5% i un 10% del total de casos d'ELA (Andersen, 2003). L'herència d'aquesta malaltia és autosòmica dominant encara que s'han detectat alguns casos d'herència recessiva. L'edat mitja d'aparició d'aquesta malaltia és de 54 anys i la supervivència dels pacients sol ser menor que en cas de l'ELA esporàdica (Li, 1988; Mulder, 1986). Les seves causes són genètiques i s'associa amb alteracions de distints gens, principalment l'enzim antioxidant Cu/Zn superòxid dismutasa, coneguda com a SOD1 (Nassif, 2010). El 20% dels casos s'associa a mutacions d'aquest gen (Sathashivam, 2005). 114 de les mutacions causen malaltia i les mutacions més conegudes són la mutació G93A (canvi de guanina per alanina en la posició 93) i la mutació G85R (canvi de guanina per arginina en la posició 85) (Brown, 1977).

- ELA ESPORÀDICA

L'ELA esporàdica suposa entre el 90 i el 95% dels casos, en els que no existeix una història familiar d'ELA prèvia. L'edat mitja d'aparició és de 64 anys (Wijesekera, 2009), encara que un 5% dels casos presenta un inici de la patologia abans dels 30 anys (Haverkamp, 1995). Hi ha estudis que relacionen aquesta variant de l'ELA amb la presència de TDP-43. TDP-43 és un proteïna localitzada el nucli que

regula el processament del RNA. Una mutació en aquesta proteïna provoca una desregulació de tot aquest procés.

## MUTACIÓ SOD1

La proteïna SOD1 és un homodímer localitzat prop del reticle endoplasmàtic i està relacionat amb la resistència antioxidant. És l'encarregada de convertir l'anió superòxid ( $O_2^-$ ), resultant de la fosforilació oxidativa del mitocondri i tòxic per la cèl·lula, en peròxid d'hidrogen ( $H_2O_2$ ). Les distintes mutacions del gen SOD1 afecten tant a l'estructura primària (canvi en la seqüència d'aminoàcids), com a l'estructura terciària (problemes de plegament proteic).

Existeixen dues grans teories sobre la funció patològica de SOD1 mutada. Per una banda, la proteïna mutada pertorba el metabolisme de l'oxigen, induint estrès oxidatiu. Per una altra banda, la inestabilitat proteica induïda per la mutació, produeix agregats proteics. En qualsevol cas, l'alteració de les propietats biofísiques de la proteïna SOD1 induïx diversos fenòmens patològics en la motoneurona, com per exemple, alteracions del metabolisme DNA / RNA, del transport axonal, de la funció del reticle endoplasmàtic (RE), de l'aparell de Golgi, dels proteasomes i dels mitocondris, en les quals té lloc una disminució de la producció d'ATP, augmentant l'alliberament del calci lliure. Com a conseqüència de tot això, s'indueix estrès en el RE i s'activen les cascades apoptòtiques. El procés patològic influeix també en l'activació i disfunció dels astròcits i la micròglia. La captació de glutamat per part dels astròcits es troba reduïda, contribuint a un excés de glutamat extracel·lular i a la excitotoxicitat. La micròglia segrega citoquines ( $TNF - \alpha$ ), que podrien ser tòxiques i causar dany cel·lular. Per tant, el procés de mort de les motoneurons reflecteix una complexa interacció entre fenòmens intrínsecs i extrínsecs.

Actualment, encara es desconeix el mecanisme pel qual la proteïna SOD1 mutada causa la degeneració de les neurones motores. No obstant això, el que sí sembla estar clar és que la toxicitat mediada per SOD1 no es deu a una pèrdua de la funció de l'enzim, sinó al guany d'una o més propietats tòxiques, que són independents dels nivells d'activitat de l'enzim i que resulten tòxiques per a la cèl·lula.

A partir de tres mutacions de SOD1 ( $SOD1^{G85R}$ ,  $SOD1^{G37R}$  i  $SOD1^{G93A}$ ), s'han generat ratolins transgènics que pateixen una malaltia semblant a l'ELA pròpia d'humans (Gurney, 1994). Gràcies a ells, actualment es pot avançar en la investigació d'aquesta malaltia i provar nous agents potencialment terapèutics. No hem d'oblidar que tot i que les formes esporàdiques i familiars comparteixin una bona part dels mecanismes patològics, aquests ratolins són models de ELA familiar.

## SELECTIVITAT NEURONAL

A dia d'avui no es té del tot clar perquè la malaltia només afecta a les motoneurons i, en canvi, deixa il·leses als altres tipus de neurones. La conclusió a la que s'ha arribat fins el moment fa referència a les característiques pròpies de les motoneurons com poden ser: la mida de les motoneurons amb processos axonals llargs que duen a uns requeriments d'alta activitat mitocondrial i a un contingut elevat de neurofilament, la falta d'expressió de proteïnes amortidores de calci com paralbúmina i la calbindina i la baixa expressió de la subunitat GluR2 del receptor AMPA, una expressió perisomàtica del transportador EAAT/GLT-1 molt elevada, etc.

En els darrers anys s'ha mostrat la implicació d'altres tipus cel·lulars no neuronals en la patologia. Les cèl·lules glials pròximes a les motoneurons com astròcits i micròglia activats podrien tenir un paper iniciador i/o propagador de la malaltia (Clemente et al., 2003).

Els astròcits són acompanyants essencials de les motoneurons, que els hi proporcionen suport tròfics i que mitjancen l'eliminació de glutamat de la sinapsi glutamatèrgica mitjançant l'acció dels transportadors astrogials de glutamat (EAAT2/GLT-1).

Les cèl·lules microgials, s'han postulat com a components centrals a malalties neurodegeneratives on la seva funció també inclouria la secreció de molècules tròfiques o tòxiques. Les cèl·lules de la micròglia poden definir-se com a cèl·lules glials de suport i defensa immunocomponent i són les cèl·lules immunes residents en el sistema nerviós central. L'efecte net de l'activació microglial pot ser tant la inducció de la reparació i regeneració, com el desencadenant del dany neuronal. Mitjançant l'alliberació de citocines antiinflamatòries, neurotrofines i factors de creixement, i via fagocitosis controlada amb l'eliminació de terminals axonals presinàptics de neurones danyades, la micròglia pot participar en la reparació neuronal. En canvi, mitjançant l'alliberació de citocines proinflamatòries, proteases lisosomals, radicals d'oxigen neurotòxics i fagocitosis crònica, la micròglia pot augmentar el dany neuronal.

Un treball recent demostra com les mitocòndries de les motoneurons també juguen un paper molt important en l'emmagatzematge de calci. En aquest treball s'observa com davant altes concentracions de  $Ca^{2+}$  intracel·lular, les mitocòndries de les motoneurons poden captar grans quantitats de  $Ca^{2+}$ , mentre que aquesta reacció no s'observa a les mitocòndries d'altres tipus cel·lulars com neurones del prosencèfal que no es veuen afectades per ELA

Tot i això, existeixen certs grups de motoneurons que es mostren menys resistents davant l'ELA. Un exemple són les motoneurons que controlen els músculs extrínsecs de l'ull, per aquest motiu els malalts conserven els moviments oculars fins el darrer moment; segons Stanley Apple, això es possible per la gran quantitat de parvalbúmina o calbindina, una proteïna que ajuda a neutralitzar els excessos de calci intracel·lular.

## **PROCESSOS IMPLICATS**

Els processos (cel·lulars i moleculars) implicats en la degeneració de neurones a l'ELA encara no són del tot coneguts; alguns dels que juguen un paper important en la mort de les motoneurons són: agregació de proteïnes, excitotoxicitat glutamatèrgica, disfuncions mitocondrials, neuroinflamació o estrès oxidatiu. L'ELA podria resultat de la interacció de diversos d'aquests processos (Fig 2).

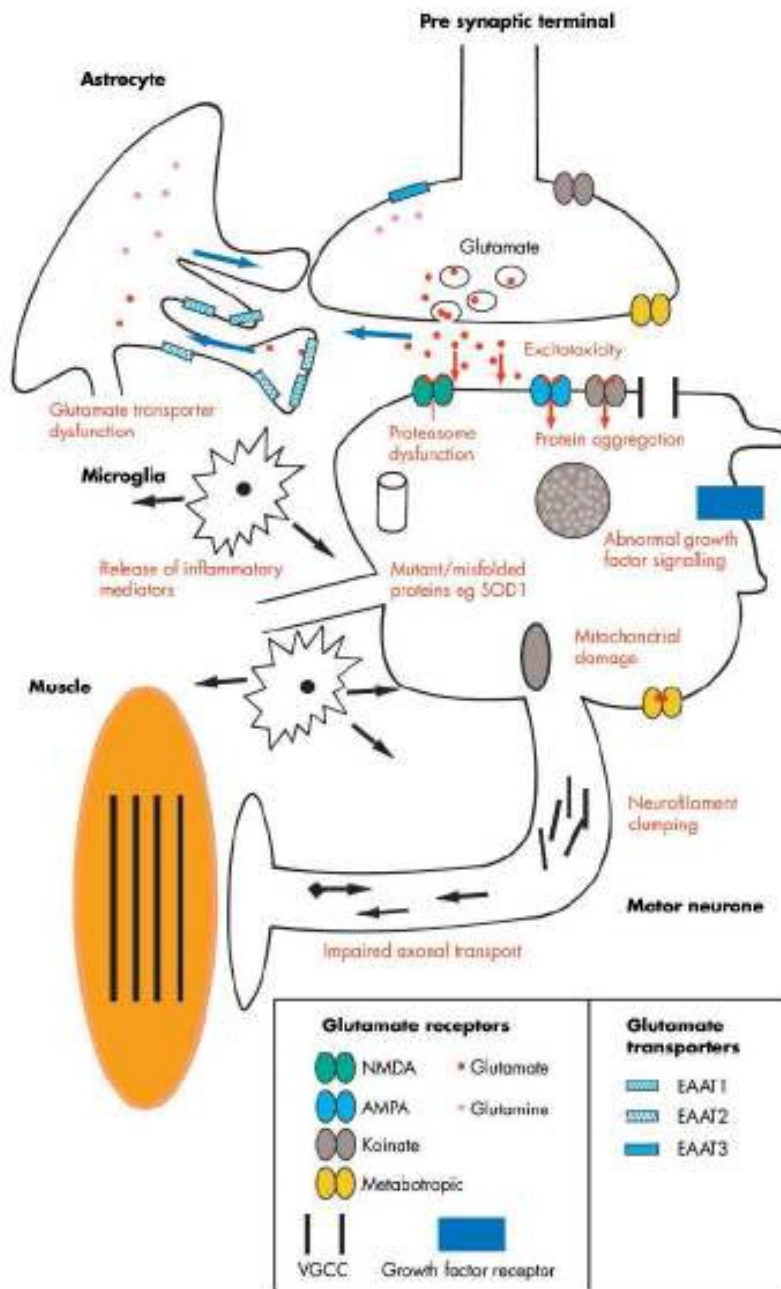


Fig. 2: relació dels diversos processos implicat en l'ELA.

## EXCITOTOXICITAT

L'excitotoxicitat és la lesió neuronal induïda per un excés d'estimulació dels receptors de glutamat (Shaw, 2005) per glutamat i altres aminoàcids. El glutamat és el principal neurotransmissor utilitzat per les neurones per generar senyals excitadores. La seva concentració en l'espai extracel·lular del cervell es troba regulada per un control molt fi, ja que l'exposició exagerada té efectes letals sobre les neurones. El glutamat exerceix la seva acció fisiològica sobre les neurones a través de receptors acoblats a proteïnes G i a l'activació de segons missatgers intracel·lulars. Quan aquests receptors s'activen per la alliberació presinàptica de glutamat, es converteixen en canals que faciliten l'entrada



postsinàptica de  $\text{Na}^+$  i  $\text{Ca}^+$  en la neurona postsinàptica. El  $\text{Na}^+$  provoca un canvi elèctric postsinàptic, el  $\text{Ca}^+$  determina l'activació de diverses vies de senyalització intracel·lular. L'elevació de  $\text{Ca}^+$  intracel·lular a partir de certs nivells provoca dany neuronal ja que posa en funcionament proteases, lipases, sintasa d'òxid nítric i altres enzims amb conseqüències letals per la neurona. També lesiona mitocondris, al produir-se en el seu interior una producció desmesurada de radicals lliures amb l'estrès oxidatiu subsegüent (Esquerda, 2005).

- RECEPTORS DE GLUTAMAT

El glutamat activa tres famílies principals de receptors: NMDA, AMPA i KA (Watkins, 1990). Ens centrarem amb els receptors AMPA per la seva gran implicació en les malalties neurodegeneratives i en concret en l'ELA. El glutamat també activa una família de receptors metabotròpics (mGluR) que en lloc d'activar directament canals iònics, estan acoblats a un sistema de missatgers secundaris (Kew & Kemp, 2005).

Els receptors AMPA són complexos heterotetràmers formats per quatre subunitats homòlogues GluR1 a GluR4 que es combinen per formar diferents subtipus de receptor. Aquests receptors intervenen en la transmissió excitatòria sinàptica ràpida. La subunitat GluR2 té un paper clau en la permeabilitat del  $\text{Ca}^{2+}$  en els receptors AMPA; els receptors homomèrics de GluR1 són permeables al  $\text{Ca}^{2+}$ , mentre que aquells receptors on està present la subunitat GluR2 són impermeables al  $\text{Ca}^{2+}$ . Les motoneurones presenten un alt percentatge de receptors AMPA permeables al calci, el que podria proporcionar una explicació a la seva alta sensibilitat a l'exitotoxicitat glutamatèrgica (Van den Bosch, 2000) (Fig. 3).

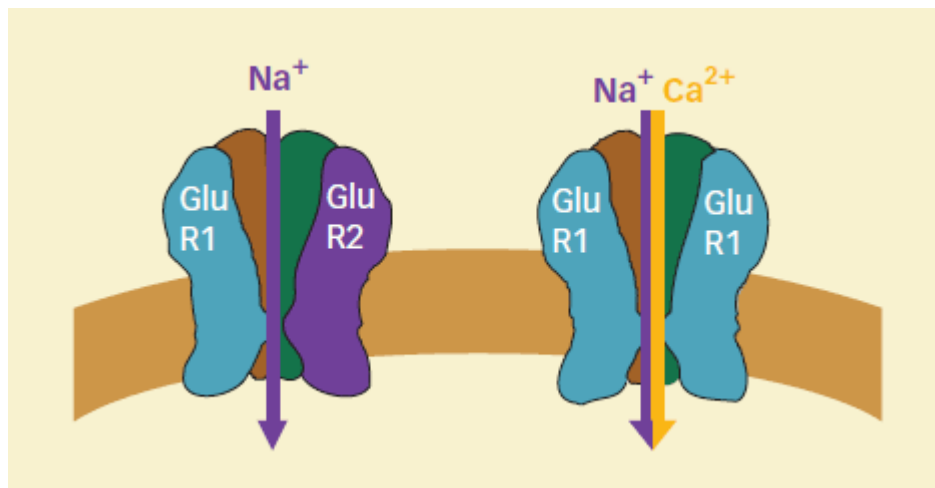


Fig. 3: subunitats dels receptors de glutamat.

- RECAPTACIÓ DE GLUTAMAT

L'acció excitadora del glutamat sobre els seus receptors és ràpida degut a la seva ràpida retirada de la sinapsi per sistemes de recaptació de glutamat; un cop alliberat a l'espai extracel·lular pels terminals presinàptics, aquest aminoàcid es retirat de cop per transportadors específics (EAAT), que el reintrodueixen a l'interior cel·lular. Gràcies a aquests transportadors, les concentracions de glutamat de l'espai extracel·lular es troben en concentracions molt baixes ( $0.6\mu\text{M}$ ). Basten concentracions de  $2\text{-}5\text{mM}$  per provocar la degeneració neuronal per excés d'estimulació dels receptors (Esquerda, 2005). Aquest manteniment de concentracions baixes extracel·lulars és vital ja que nivells elevats de glutamat poden resultar neurotòxics.

S'han clonat i seqüenciat diversos subtipus de transportadors de glutamat denominats EAAT-1, EAAT-2, EAAT-3, EAAT-4. El transportador EAAT-1 es localitza en astròcits i s'expressa predominantment en el cerebel. EAAT-2 és el principal transportador de glutamat implicat en el control de les concentracions de glutamat en la sinapsi. Es localitza en els astròcits perisinàptics i s'expressa extensament en el sistema nerviós central (SNC). EAAT-3 és el principal transportador localitzat a neurones i es pensa que és responsable de la recaptació del glutamat sinàptic en els terminals nerviosos de les neurones (Doble, 1999) (Fig. 4).

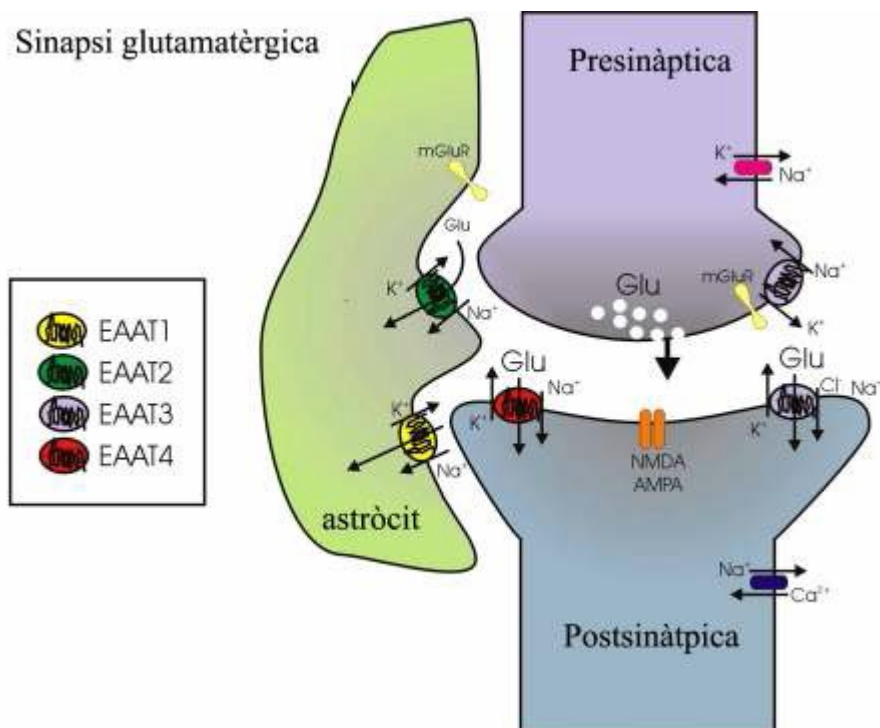


Fig. 4: recaptació de glutamat segons els diversos transportadors.

Les cèl·lules glials, en concret els astròcits, juguen un paper important en el correcte funcionament de la neurotransmissió glutamatèrgica ja que són els responsables del manteniment de les concentracions extracel·lulars de glutamat per l'acció dels transportadors específics EAAT-1 i EAAT-2. La glutamina sintetasa és l'enzima encarregat de metabolitzar el glutamat recaptat a glutamina, que s'allibera a l'espai extracel·lular, on és innòcua ja que no pot activar els receptors excitadors. El cicle

que tancat quan la glutamina és captada pels terminals nerviosos i convertida en glutamat, preparat per una nova alliberació (Doble, 1999).

- TIPUS D'EXCITOTOXICITAT:

L'excitotoxicitat clàssica és l'existència d'uns nivells elevats de glutamat per una augment de l'alliberació de glutamat o per una recaptació de glutamat ineficient dins els astròcits. Aquest fet du a una estimulació dels receptors AMPA permeables a  $Ca^{2+}$  major o més llarga, el que és el mateix, és produeix una despolarització persistent de la membrana de la motoneurona (Van den Bosch, 2006)(Fig. 5).

L'excitotoxicitat lenta es caracteritza pel fet que la neurona postsinàptica es torna més sensible a l'estimulació glutamatèrgica, mentre que la concentració de glutamat no augmenta. Aquesta sensibilització de la neurona pot ser causada per canvis en les propietats dels receptors de glutamat, que resulta en un increment del calci intracel·lular (Van den Bosch, 2006) (Fig. 5).

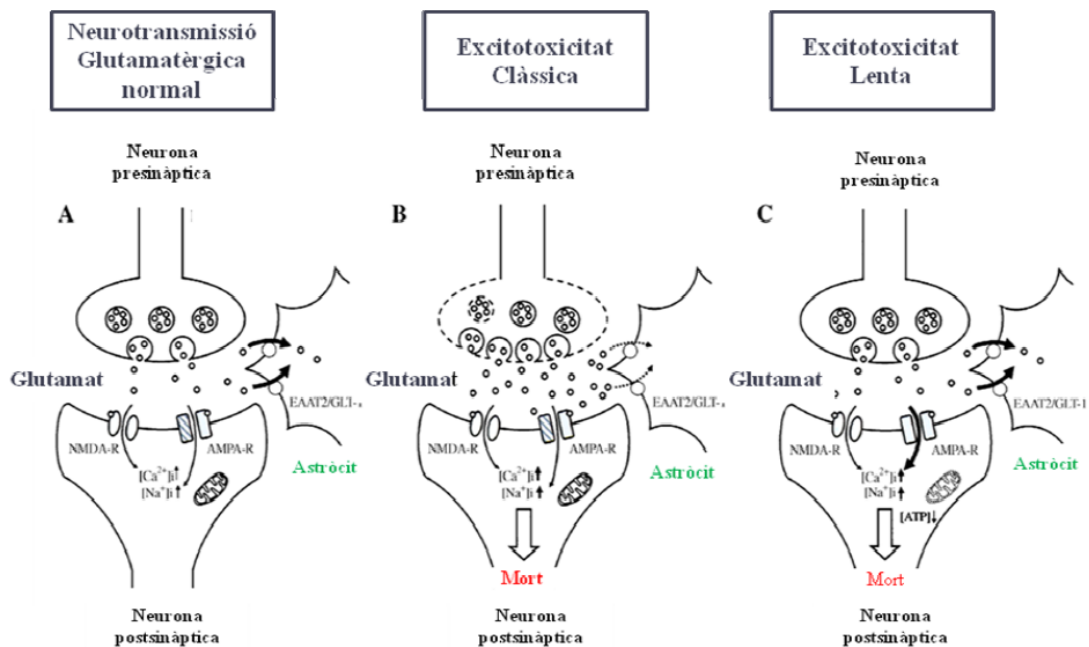


Fig. 5: tipus d'excitotoxicitat.

## NEUROINFLAMACIÓ

Fins fa poc temps, es pensava que l'ELA era una malaltia exclusivament neuronal; no obstant, recents investigacions demostren que la neuroinflamació constitueix un element principal d'aquesta malaltia. La inflamació és la reacció del sistema immunològic a invasors estranys i implica els desplaçament de leucocits a través del torrent sanguini fins el lloc de la infecció. Si aquesta reacció té lloc en el SNC, rep el nom de neuroinflamació i implica l'activació de la micròglia.

Les cèl·lules microgials són considerades una forma especialitzada de macròfags residents als SNC (Kreutzberg, 1996; Streit, 1988). Aquestes cèl·lules tenen la capacitat de respondre a qualsevol tipus de patologia amb una reacció anomenada activació microglial, on la cèl·lula adopta un fenotip activat i llavors és capaç de migrar, proliferar i fagocitar (Kreutzberg, 1996).

-Migració: Una de les primeres respostes de la micròglia és la seva migració al lloc on s'ha produït el dany o la inflamació (Garden and Möller, 2006).

-Proliferació: les cèl·lules microgials són capaces de proliferar en resposta a una gran varietat d'estímuls, per exemple, a degeneració neuronal. Una vegada la micròglia envaeix una zona afectada, pot estimular la seva pròpia divisió (Garden and Möller, 2006).

-Fagocitosis: La micròglia és la cèl·lula fagocítica del SNC, té la capacitat d'engolir microbis a la vegada que pot presentar les proteïnes o antígens engolits a cèl·lules T i així estimular el sistema immune adaptatiu (Witting et al., 2000).

-Presentació d'antígens: quan es genera una resposta dels sistema immune és necessari que l'antigen sigui presentat a les cèl·lules T i per tant finalment sigui engolit. En certs casos, la micròglia té la capacitat de presentar antígens a les cèl·lules T. De fet, s'han fet estudis on s'ha vist que la micròglia en teixits malalts d'ELA podria encarregar-se de la presentació d'antígens (Henkel et al., 2004).

-Secreció de factors solubles: una de les principals funcions de la micròglia és enviar senyals a altres cèl·lules, les quals regulen la resposta inflamatòria després d'un dany o una infecció. Una de les molècules responsables d'aquest procés són les citocines. Les citocines són pèptids moduladors del sistema immune, les quals inclouen interferons (IFNs) o TNFs entre d'altres (Kim & de Vellis, 2005). Normalment la micròglia activa incrementa l'expressió de citocines, entre les quals les proinflamatòries són les primeres alliberades. Aquestes molècules solen tenir efectes citotòxics sobre les cèl·lules de l'entorn. La micròglia també és capaç de sintetitzar receptors per a la majoria de citocines, d'aquesta manera es generen cercles de realimentació autocrina els quals poden ser essencials per la regulació de la resposta inflamatòria (Gargen & Möller, 2006).

La presència de neuroinflamació en l'ELA és un fet constatat per la presència de micròglia activa en les zones degenerades. De fet, la reactivitat microglial comença abans de la degeneració de les motoneurons (Hall et al., 1998). Aquesta dada suggereix que l'activació microglial podria ser un esdeveniment primari en la patogènia de l'ELA, i per tant, podria fer les motoneurons més vulnerables o, fins i tot, desencadenar el procés. En concordança amb aquesta activitat microglial s'han descrit nombroses alteracions immunològiques sistèmiques tant en pacients d'ELA com en ratolí SOD1. Troost va ser el primer en descriure la presència de macròfags i infiltració de limfòcits T en teixits de malalts d'ELA (Troost et al., 1989).

Encara que en l'ELA la paràlisi progressiva es deu a la degeneració i mort de les motoneurons, existeixen nombroses estudis que demostren que la toxicitat no depèn únicament d'aquesta cèl·lula, és a dir, la toxicitat de la motoneurona prové, a part de la pròpia motoneurona, d'altres tipus cel·lulars del seu entorn. Aquesta idea començà a prendre força quan mutacions de SOD1 sols a motoneurons o astròcits no produïen ni la degeneració ni la mort de la motoneurona. Així doncs, pel desenvolupament de la malaltia és necessari l'expressió de la SOD1 a altres tipus cel·lulars. (Clemente et al., 2003).

- CITOCINES

Les citocines són proteïnes de baix pes molecular que participen en la comunicació intercel·lular pels leucòcits i altres tipus cel·lulars en resposta a diversos estímuls (Rothwell & Hopkins, 1995). Inicialment, les citocines s'havien classificat com a proinflamatòries o antiinflamatòries, depenent del balanç sobre el sistema immune. No obstant, a part de la resposta immune, les citocines tenen altres funcions en gran varietat de processos fisiològics i patològics, els quals inclouen efectes sobre el sistema nerviós. Així doncs, les citocines executen múltiples accions sobre el SNC i SNP que poden ser importants en les malalties neurodegeneratives. El paper d'una citocina en particular pot canviar amb el temps, en un inici pot empitjorar la patologia mentre que més tard pot contribuir a reparar-la o viceversa. A més a més, els efectes de les citocines poden variar en funció del tipus cel·lular i de si l'efecte sobre la cèl·lula diana és directe o indirecte: directa implicaria la interacció de la citocina sobre receptors específics de la pròpia neurona, i indirecte implicaria l'acció de la citocina sobre altres cèl·lules, el producte de les quals interaccionarien sobre la neurona (Allan and Rothwell, 2003).

El TNF- $\alpha$  és una citocina soluble produïda com a conseqüència de l'activació del sistema immune, produït principalment per macròfags actius o per limfòcits T. El TNF- $\alpha$  no sol estar present en individus sans, encara que després d'un procés inflamatori o d'una infecció poden incrementar els nivells en sèrum i en teixit. De fet, els nivells de TNF- $\alpha$  solen correlacionar amb la severitat de la infecció. Malgrat els macròfags són la major font de TNF- $\alpha$  en una malaltia inflamatòria, un ampli nombre de cèl·lules també poden produir TNF- $\alpha$ , en són un exemple els mastòcits, els limfòcits T i B, les cèl·lules NK, els neutròfils, les cèl·lules endotelials, la micròglia, etc. (Bradley, 2008). El TNF- $\alpha$  és una molècula essencial en la regulació de la resposta immune en el sistema nerviós i en la protecció de les neurones envers els patògens. La duració de la resposta i els nivells de TNF- $\alpha$  en l'entorn cerebral determinen la funció protectora o de mort cel·lular d'aquesta citocina. Els efectes nocius del TNF- $\alpha$  en el SNC també depenen de la presència d'altres citocines produïdes, per cèl·lules residents, leucòcits infiltrats o per cèl·lules T (Babu et al., 2008).

- RELLEVÀNCIA DE LES CITOCINES EN L'ELA

Existeixen nombroses evidències cel·lulars que posen de manifest la rellevància de la micròglia en l'ELA. En diferents àrees del sistema nerviós de malalts d'ELA hi ha presència de micròglia activa la qual proporciona evidències del paper de la cascada proinflamatòria en el transcurs d'aquesta malaltia (McGueere & McGueere, 2002). En pacients d'ELA, els limfòcits infiltrats al llarg de les parets dels vasos sanguinis de la medul·la espinal i del cervell poden activar directament als macròfags/micròglia a través del contacte cèl·lula/cèl·lula o mitjançant l'alliberació de mediadors proinflamatòris, en particular, la citocina proinflamatòria IFN- $\gamma$  un dels més potents activadors microglials (Hanisch, 2002). A la vegada, la micròglia activa pot alliberar altres citocines proinflamatòries com TNF- $\alpha$  o interleucines, les qual poden desencadenar a l'hora una resposta inflamatòria generalitzada.

La producció de certs factors citotòxics per part de la micròglia, especialment el glutamat i el TNF- $\alpha$ , tenen un gran potencial neurotòxic sobre motoneurons. És interessant el fet que aquesta citocina exerceix un efecte sobre l'alliberació de glutamat en les cèl·lules microglials mitjançant la regulació a l'alta de la glutaminasa microglial, enlloc d'actuar directament sobre la neurona induint-li mort

apoptòtica (Takeuchi et al., 2006). Així doncs, el TNF- $\alpha$  podria potenciar també l'excitotoxicitat característica en l'ELA.

Per acabar, alguns fàrmacs com la talidomida i anàlegs, capaços d'inhibir l'expressió de citocines proinflamatòries com el TNF- $\alpha$ , poden d'atenuar la pèrdua de pes, millorar la funció i la supervivència de motoneurons i augmentar l'esperança de vida del ratolí transgènic (Kiaei et al., 2006). Malauradament, estudis en pacients ELA tractats amb aquests fàrmacs no han tengut èxit i fins i tot han produït bradicàrdia als malalts en tractament (Stommel et al., 2009). Tot hi això, no s'hauria de descartar la utilització d'altres fàrmacs inhibidors de l'alliberació o expressió de certes citocines proinflamatòries com a futures teràpies en l'ELA.

## MORT NEURONAL

### *APOPTOSIS*

L'apoptosi és un procés fisiològic de mort neuronal depenent d'energia pel qual les cèl·lules supèrflues o potencialment perilloses són eliminades (Kerr et al., 1972). Avui en dia es reconeix que l'apoptosi juga un paper important en el desenvolupament, homeòstasis, defensa i envelliment dels organismes pluricel·lulars, participant en el recanvi cel·lular, sistema immunitari, desenvolupament embrionari, metamorfosi etc. D'altra banda s'ha demostrat que un gran nombre de patologies són desencadenades per una desregulació de l'apoptosi, tant per excés (Alzheimer, Parkinson, ELA), com per dèficit (càncer, malalties autoimmunes...). Les alteracions que caracteritzen la mort per apoptosi són tant morfològiques com bioquímiques. Morfològiques perquè es produeix una condensació tant del citoplasma com del nucli, la cèl·lula disminueix el seu tamany i apareixen unes protuberàncies a la superfície; a més, el nucli es fragmenta i s'encapsula en vesícules envoltades de membrana. Bioquímicament es produeix una degradació del DNA genòmic (Danial and Korsmeyer, 2004). Aquests canvis morfològics i bioquímics són deguts a l'activació de unes proteases caspases, que un cop activades, proteolitzen proteïnes essencials per la cèl·lula. Les caspases actuen sobre substrats específics que participen en la replicació del DNA, splicing, reparació del DNA, proteïnes del citoesquelet, etc.

En resposta a un estímul apoptòtic, hi ha un ordre d'activació de les caspases: les caspases iniciadores (caspasa-8, -9) són les primeres que s'activen i inicien la cascada activant a les caspases efectores (caspasa-3, -6 i -7). Aquestes caspases efectores només poden activar-se per caspases iniciadores i s'encarreguen del dessensamblatge cel·lular. En aquest moment la cèl·lula arriba a un "punt sense retorn".

- REGULADORS DE L'APOPTOSI

L'activació i inactivació de les caspases són regulades per diverses proteïnes, ions i altres factors com les famílies de proteïnes IAP i Bcl-2, calpaïna o el ió  $Ca^{2+}$ .

- Família Bcl-2: Bcl-2 dona nom a una família de proteïnes reguladores de l'apoptosi, algunes de les quals són inhibidores i altres inductores. Els membres antiapoptòtics inclouen Bcl-2,

Bcl-XL, mentre que els membres proapoptòtics inclouen Bax i Bak. Els mecanismes de regulació per aquesta família encara no es coneix en detall, però s'ha proposat que hi participen el fenòmens següents: capacitat de formar heterodímers entre membres antiapoptòtics i proapoptòtics, canvis en la localització subcel·lular i capacitat de formar canals.

- Família de IAPs: proteïnes amb capacitat d'inhibir l'apoptosis. Alguns dels membres d'aquesta família tenen la capacitat d'inhibir proteïnes efectores (-3 i -7) i iniciadores (-9).
- Calpaïna i ió calci: la calpaïna és una proteasa depenent de calci que juntament amb la caspasa-3 comparteixen diferents substrats. En l'apoptosi induïda per estrès de reticle endoplasmàtic, les funcions de la calpaïna són especialment importants per l'homeòstasi alterada del calci. D'altra banda la calpaïna és capaç de tallar Bcl-xL en la regió del bucle, el que converteix a Bcl-xL d'una molècula proapoptòtica a una antiapoptòtica (Fan et al., 2005).

- MECANISMES D'INDUCCIÓ D'APOPTOSI

1. **Via d'apoptosis per receptor de mort o extrínseca (Fig. 6)**

La vía extrínseca implica la iniciació de l'apoptosis mitjançant receptors de mort de la membrana plasmàtica. Els receptors de mort són un conjunt de receptors que en activar-se indueixen apoptosi. S'han identificat dues famílies de receptors, la proteïna Fas i TNF- $\alpha$ , que tenen en comú un domini en la regió citoplasmàtica anomenat "domini de mort", encarregat de transduir el senyal de mort. La unió dels lligands específics als receptors de mort indueixen l'oligomerització d'aquests, els quals mitjançant el reclutament de proteïnes adaptadores activen la caspasa-8 iniciadora. Finalment aquests tipus d'estímul apoptòtic provoca la proteòlisi directa de la caspasa-3 efectora.

2. **Via d'apoptosis mitocondrial o intrínseca (Fig. 6)**

La via intrínseca implica la iniciació de l'apoptosi com a resultat d'una alteració de la homeostasi intracel·lular i es independent d'estímuls mitjans per receptors, a diferencia de la vía extrínseca. En aquest procés, els mitocondris presenten una funció crucial per la seva execució. Els estímuls que inicien l'apoptosi per aquesta via poden ser positius o negatius. Els negatius impliquen l'ausència de certs factors de creixement, hormones o citoquines, lo que comporta un desbloqueig de l'apoptosi i la seva conseqüent activació. Els estímuls positius consisteixen en exposició a toxines, hipòxia, hipertermia, infeccions virals i radicals lliures que amb la seva presència estimulen l'apoptosi.

El control i la regulació ho duen a terme les proteïnes de la família de Bcl-2, que controlen la permeabilitat de la membrana mitocondrial i poden ser pro-apoptòtiques o anti-apoptòtiques. L'activació de les proteïnes pro-apoptòtiques de la família de Bcl-2 produeixen un por a la membrana externa de les mitocòndries que permet l'alliberació de nombroses proteïnes de l'espai intermembrana, entre elles el citocrom c. Aquest fet provoca l'activació de la procaspasa-9 iniciadora i la conseqüent activació de la caspasa-3 efectora. D'altra banda, les proteïnes antiapoptòtiques, impediria l'alliberació d'aquest citocrom c.

L'apoptosi intrínseca també pot operar de manera independent a les caspases, per exemple per l'alliberació des del mitocondri del factor inductor de l'apoptosi (AIF), una flavoproteïna que una vegada ha activat l'apoptosi, es transloca al nucli on participa en la degradació del DNA (Fadell & Orrenius, 2005).

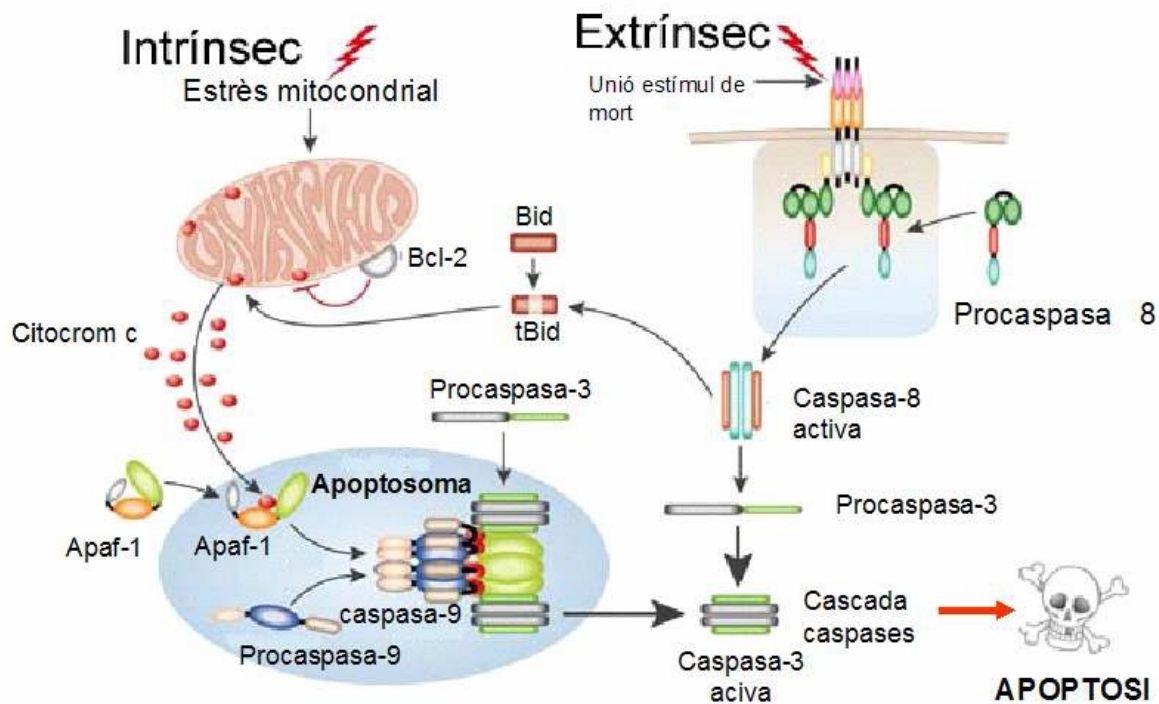


Fig. 6: vies d'apoptosis.

## AUTOFAGIA

L'autofàgia és un procés cel·lular catabòlic que s'encarrega de la degradació i reciclatge de components cel·lulars, inclosos els orgànuls citosòlics i les proteïnes mal plegades, mitjançant un increment de l'activitat lisosomàtica. Els diversos materials citoplasmàtics (proteïnes, orgànuls, etc.) són sequestrats en autofagosomes i degradats mitjançant la fusió amb lisosomes i la digestió per les hidrolases que contenen. Aquest procés es relaciona tant amb la supervivència de la cèl·lula mantenint la seva homeòstasi, com amb l'autodestrucció de la cèl·lula per una activació massiva i perllongada de la ruta autofàgica. La creixent evidència mostra que l'autofàgia pot exercir un paper important en les malalties neurodegeneratives com: ELA, Alzheimer, Parkinson, Huntington i altres. Tot i que aquestes malalties neurodegeneratives no tenen unes característiques semblants en el seu procés patològic, si que comparteixen les característiques definitòries de l'agregació intracel·lular de proteïnes. És important mencionar el paper complementari del sistema proteasoma-ubiquitina (UPS), un complex proteolític que uneix substrats ubiquitinitzats i degradats. Aquest mecanisme està interrelacionat amb l'autofàgia, i davant un acúmulo de proteïnes alterades, actua en primera



instància per eliminar-les, sempre i quan no es vegi saturat; és en aquest moment on l'autofàgia agafa el paper principal de degradació de proteïnes.

L'autofàgia ocorre a nivell basal en la cèl·lula, però certs tipus d'estrès duen a una significativa inducció d'aquest procés. La disminució dels nivells normals de nutrients és el principal estímul d'inducció de l'autofàgia. mTOR és un sensor que detecta la disminució de nutrients, permetent regular negativament l'autofàgia. mTOR controla l'estat de fosforilació de Atg13, una de les proteïnes requerides per la inducció de l'autofàgia. En condicions riques de nutrients, Atg13 es troba hiperfosforilada i mostra una baixa afinitat per Atg1, essent l'autofàgia reprimida en aquestes condicions. Durant la privació de nutrients o inhibició de mTOR amb rampamicina, Atg13 es troba hipofosforilada permetent-li interactuar amb Atg1.

Les proteïnes poden estar alterades per mutacions, modificacions post-transcripcionals, o per agressions intra- o extracel·lulars com estrès oxidatiu. La proteïna alterada és reconeguda per chaperones moleculars que permeten reparar i replegar correctament la proteïna. Si la chaperona no ha tengut èxit en la seva activitat de reparació, la proteïna alterada és enviada normalment al sistema UPS o sotmesa a l'autofàgia mitjana per chaperones. Però, si l'activitat d'aquests sistemes està impedita o la proteïna ja ha estat organitzada en complexos insolubles, la macroautofàgia és l'únic sistema capaç d'eliminar aquests complexos tòxics. En aquelles condicions en les que ni l'autofàgia pot eliminar aquestes proteïnes alterades, els agregats atrapes altres proteïnes que encara són funcionals. Si aquests agregats es formen a les neurones, es produeix una degeneració neuronal.

El procés d'autofàgia té lloc a través d'una seqüència d'etapes (Huet, 2010). Comença amb la formació del fagòfor que és una cisterna de doble membrana que reconeix les molècules o òrgans que han de ser destruïts. Les membranes del fagòfor creixen fins unir els seus extrems per formar un compartiment tancat denominat autofagosoma. L'autofagosoma pot rebre vesícules desde els endosomes, que aporten proteïnes lisosomals i bombes de protons, lo que va provocant l'acidificació del fagosoma. El compartiment resultant es denomina anfisoma. Finalment, l'anfisoma es fusiona amb els lisosomes, permetent la degradació del contingut intern de l'autofagosoma juntament amb la seva membrana interna. El compartiment que es crea després de la fusió rep el nom de autolisosoma (Fig. 7)

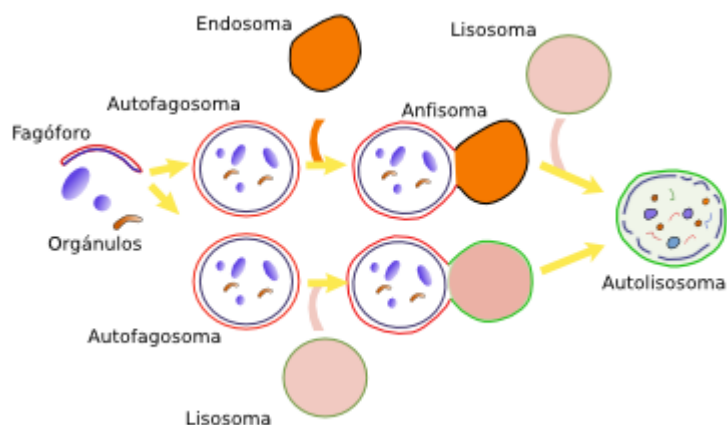


Fig. 7

## TERÀPIES

Tots els mecanismes patològics descrits fins al moment podrien ser objecte d'una intervenció terapèutica. La realitat és que cap dels fàrmacs provats en els models transgènics de ratolins ha resultat ser efectiu en pacients humans. Només el Riluzol, un fàrmac antiglutamaèrgic que frena l'alliberació de glutamat, ha prolongat uns mesos la supervivència dels pacients amb ELA entre 2 i 3 mesos.

### TERÀPIES ANTIINFLAMATÒRIES

Aquests tipus de teràpies tenen com a dianes principals a les cèl·lules microgials ja que el seu paper en la degeneració neuronal es coneix prou bé.

Un dels compostos que s'ha estudiat com a possible teràpia antiinflamatòria és la minociclina, un antibiòtic derivat de d'una tetraciclina que inhibeix l'activació de la micròglia mitjançant l'inhibició de l'alliberació de la iNOS. Aquest anitibiòtic també és antiapoptòtic ja que disminueix l'alliberació del citocrom c i l'activitat de diverses caspases. Aquest efecte antiapoptòtic fa que no es tingui del tot clar sobre quin tipus de cèl·lules pot actuar aquest fàrmac. Com amb la resta de fàrmacs provat, la minociclina sembla no tenir efecte terapèutics en humans. També s'ha recurrit a inhibidors de la COX-2 o de TNF- $\alpha$ .

### TERÀPIES ANTIOXIDANTS

Aquesta és una de les teràpies més emprades en l'ELA. El primer compost antioxidant que es va utilitzar va ser la vitamina E a l'any 1940 (Wechsler, 1940), com a complement dels menjars dels pacients, juntament amb blat germinat i complexos de vitamnina B. La creatina, que promou l'absorció de glutamat en les vesícules sinàptiques i estableix el complex de transferència mitocondrial a través de la inhibició de la obertura de porus mitocondrials va mostrar inclús millors resultats que el Riluzol quan va ser administrat de forma oral a ratolins mutans SOD1. Malauradament els assajos amb humans, no han aportat cap benefici. Un altre antioxidant que ha perllongat la supervivència de ratolins SOD1 és el coenzim Q10, un cofactor de la cadena de transport d'electrons que funciona com un radical lliure.

Recentment s'han trobat nous antioxidants que aconseguixen augmentar significativament la supervivència del ratolí mutant de la SOD1, en són exemples: la catalasa modificada, que detoxifica el peròxid d'hidrògen i inhibeix la formació de NO, les carboxifullerenes o l'acetilsalicinat lisina.

### FACTORS NEUROTRÒFICS

Els factors neurotròfics (FNT) són proteïnes que afavoreixen la supervivència de certs tipus neuronals, i de vegades, promouen la regeneració axonal i la diferenciació durant l'embriogènesis. Alguns dels factors neurotròfics que han despertat més interès són el CNTF, el GDNF, l'IGF-1 o el VEGF.

El problema de l'ús terapèutic d'aquests factors neurotròfics és la seva administració ja que han d'actuar directament sobre les neurones i no travessen la barrera hematoencefàlica. Vàries són les estratègies provades fins al moment per aconseguir que aquests factors arribin a l'entron neuronal:

una d'elles és l'administració directe en el líquid cefaloraquídi, també s'empelen les injeccions intramusculars ja que les motoneurons de la mèdula espinal proullonguen els seus axons cap als músculs, on els factors neurotròfics podrien ser captats pels terminals neuromusculars i transportats retrògradament cap al soma cel·lular de les motoneurons espinals, una altra estratègia és introduir el gen mitjançant un vector víric per aconseguir la síntesis del factor neurotròfic per la pròpia motoneurona.

El factor neurotròfic VEGF constitueix un factor de risc per patir ELA ja que s'han identificat polimorfismes en la regió promotora d'aquest factor tròfic. La injecció intramuscular de dos d'aquests factors neurotròfics (VEGF i IGF-1) mitjançant vectors vírics ha aconseguit allargar la vida de ratolins amb ELA. Per altra banda, la infusió intracerebroventricular de VEGF recombinant millora l'expectativa de vida i el símptomes de ratolins amb ELA.

### *TERÀPIA GÈNICA*

Un estudi realitzat pel grup LAGENBIO, va demostrar que la teràpia gènica mitjançant la utilització de vectors no virals podria resultar interessant. En aquest estudi, es va mostrar que el fragment C de la toxina tetànica, la funció natural consisteix en arribar al SNC, on la toxina tetànica exerceix la seva funció patològica, podria ser d'utilitat per transportar gens de factors neurotròfics fins a les neurones, sense necessitat d'usar un vector viral, sinó DNA nu (Moreno, 2010) i sense el perill de la toxicitat, ja que aquest fragment de la toxina no resulta tòxic (Halpern, 1990). A més d'això, es va veure que el mateix fragment C de la toxina tetànica aïllat exercia per si mateix una acció neuroprotectora sobre les motoneurons in vivo, cosa que ja s'havia demostrat anteriorment en cultius de motoneurons in vitro.

### *CÈL·LULES MARE*

Actualment, les cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS), que s'obtenen a partir de la transformació d'altres cèl·lules de l'organisme en cèl·lules mare induïdes, per convertir-les posteriorment en el tipus cel·lular desitjat, en aquest cas, en motoneurons. El seu ús podria permetre la producció de cèl·lules pròpies del pacient concret i el tractament, no només de l'esclerosi lateral amiotròfica, sinó de moltes malalties neurodegeneratives i d'altres tipus.

## **ESTAT ACTUAL**

### *TREHALOSA*

Un dels darrers estudis sobre un possible tractament per l'ELA ha estat duit a terme per un grup d'investigadors chilens. En aquest estudi en fase experimental, un sucre anomenat trehalosa és capaç d'efer retrocedir l'avanç de l'ELA, ja que ensenya a les cèl·lules a eliminar proteïnes anormals. La trehalosa és un disacàrid que indueix l'autofàgia mTor independent. L'administració de trehalosa a rates transgèniques SOD1 mutants, prolongava la vida i atenuava significativament la progressió dels signes de malaltia. Aquests efectes es varen associar amb una disminució dels agregats de SOD1 i de una major supervivència de les motoneurons. Els efectes protectors de la trehalosa es van associar

amb un augment dels nivells de l'autofàgia en les motoneurons. Els experiments amb cultius cel·lulars de laboratori van demostrar que la trehalosa feia que les proteïnes mutants SOD1 es degradessin pel mecanisme d'autofàgia en les cèl·lules NSC34 motoneurons i també protegia les neurones motores primàries contra la toxicitat generada pels astròcits transgènics mutants SOD1. El tractament amb trehalosa conduïa a un increment significatiu de la regulació en l'expressió de gens clau relacionats amb l'autofàgia. D'acord amb aquests canvis, l'administració de trehalosa millora l'activació de l'autofàgia en les neurones (Castillo et al., 2009).

### *TNF- $\alpha$*

Un altre objectiu dels estudis actuals d'ELA és el paper de la citoquina proinflamàtica TNF- $\alpha$ , com a vincle entre la neuroinflamació i la excitotoxicitat. La següent figura (Fig. 8) representa com la citoquina TNF- $\alpha$  vincula la resposta neuroinflamatòria a la toxicitat per glutamat. Dins aquest esquema es poden considerar tres cercles viciosos interrelacionats. La citoquina IFN- $\gamma$ , alliberada per les cèl·lules T infiltrades, activa la producció i alliberació de TNF- $\alpha$  a la micròglia. TNF- $\alpha$ , a través de la senyallització de TNFR1 promou encara més alliberació de TNF- $\alpha$  microglial i també induïx l'alliberació de glutamat a través de canals "gap junctions". En els astròcits, TNF- $\alpha$  estimula TNFR1 per induir l'exocitosi de glutamat que no pot ser recaptat fàcilment pels transportadors de glutamat dels astròcits, augmentant així les concentracions extracel·lulars de glutamat. A les neurones, TNF- $\alpha$ , a través de TNFR1, incrementa ràpidament la sinapsis excitatòria mitjançant la inducció dels receptors AMPA permeables a  $Ca^{2+}$  i dels receptors NMDA i disminuint la superfície d'expressió dels receptors inhibidors GABA. L'excés de  $Ca^{2+}$  intraneuronal induïx la mort neuronal i genera ROS que alteren el transport de glutamat dels astròcits veïns. Les neurones que es moren mantenen la micròglia en estat actiu, alliberant TNF- $\alpha$  (Olmos and Lladó, 2014).

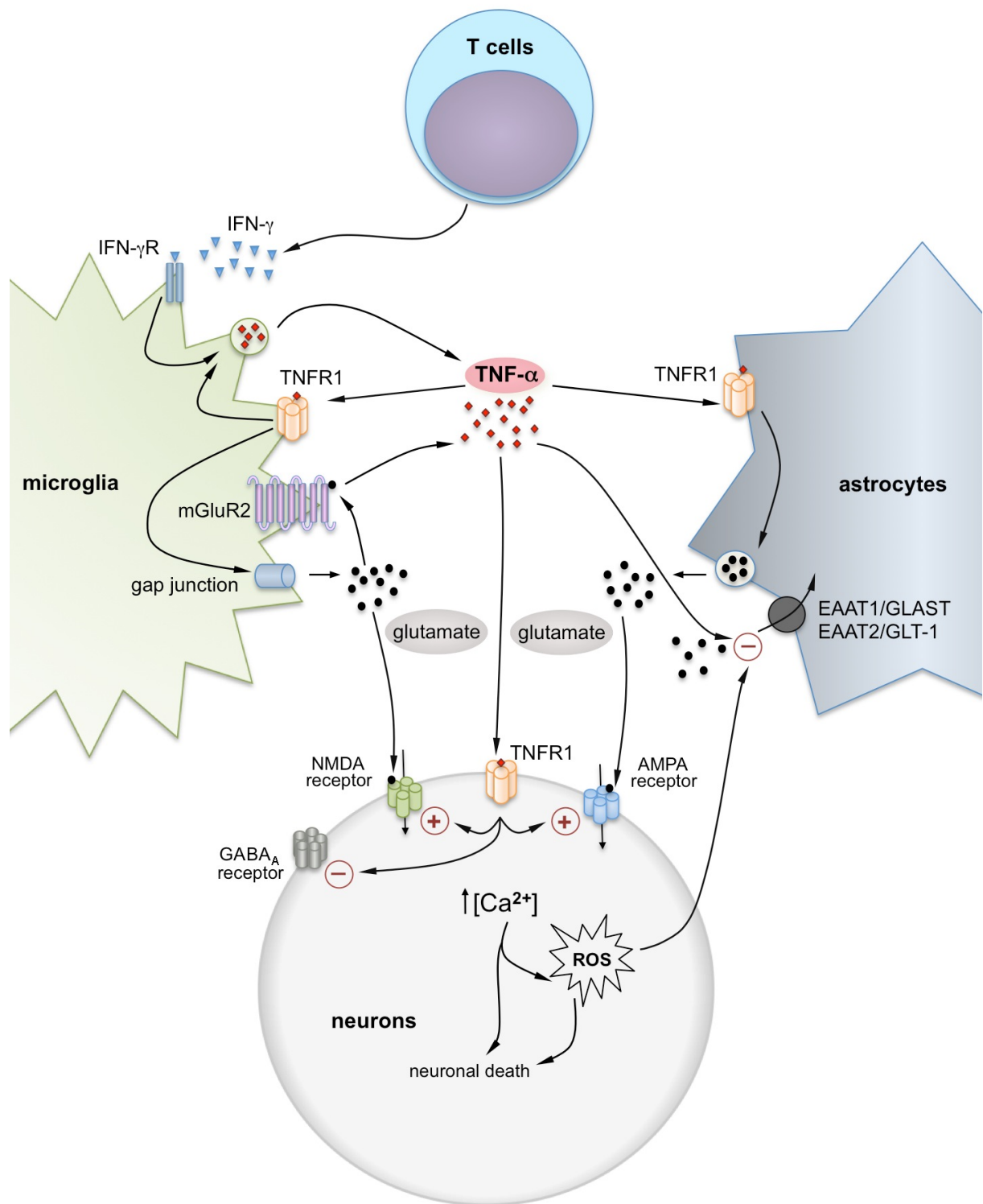


Fig. 8: implicació del TNF- $\alpha$ .

## TDP-43 I FUS/TLS

Aquestes proteïnes també han estat l'objectiu de nombrosos estudis recents. Al 2006, la proteïna TDP-43 va ser identificada com el principal component ubiquitinitzat dipositat en els cossos d'inclusió que es troben en malalties neurodegeneratives com l'ELA i la degeneració lobular frontotemporal (FTLD-U)(Neumann et al. 2006). En els teixits neuronals d'individus afectats, TDP-43 es troba localitzada en el citoplasma per formar agregats insolubles. A més, es subjecte de degradació, ubiquitinització i fosforilació. Al 2008, un seguit de treballs han descrit mutacions en el gen TDP-43, com a causa primària de l'ELA (Banks, 2008).

El factor nuclear TDP-43 (*TAR DNA-binding protein*) és una proteïna d'unió al RNA de 414 aminoàcids codificada pel gen *TARDBP*, altament conservada i ubiqüa que es troba en el nucli (Banks et al., 2008). TDP-43 és una proteïna multifuncional involucrada en diversos processos del processament del RNA incluint la transcripció, splicing del pre-mRNA, el transport del mRNA i la translocació, tot i que les funcions cel·lulars exactes pareixen difícils de trobar (Fig. 9) (Warraich ST, et al., 2010).

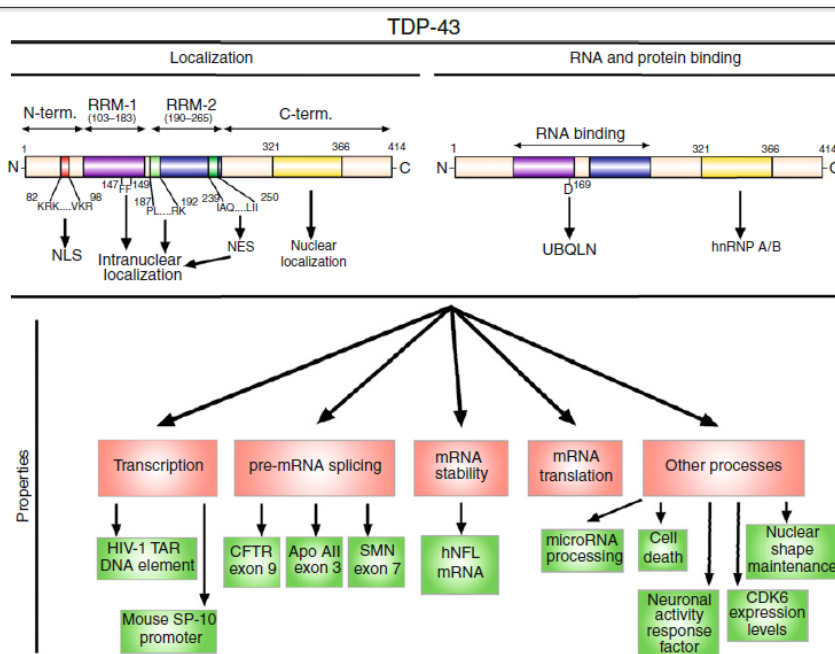


Fig. 9: localització i funcions del TDP-43.

En quant al paper de TDP-43 en els mecanismes fisiopatològics de neurodegeneració, és important establir si el procés es desencadena per una augment de la funció de TDP-43 (fragments citotòxics), per una pèrdua de funció de TDP-43 (ausència del nucli), o per una combinació de les dues. En el cas de pèrdua de funció, l'agotament nuclear per sí sol seria molt eficaç en l'efecte perjudicial sobre el metabolisme cel·lular, independentment dels agregats citoplasmàtics que tenen un efecte tòxic; en aquesta situació de pèrdua de funció, la cèl·lula sofreix perquè els processos controlats per TDP-43 es queden sense regulació. Per un altre banda, en els casos de ganància de funció, la interrupció dels processos nuclears controlats per TDP-43 seria molt limitada pels mecanismes de compensació; en aquesta situació, la majoria dels efectes nocius deriven de la toxicitat directa de qualsevol de les proteïnes alterades de TDP-43 a través de la fosforilació, ubiquitinització o la lliberació de fragments C-citotòxics després de la degradació (Fig. 10). Cal mencionar que les mutacions de TDP-43 es troben

tan sols en un 2-3% dels casos d'ELA amb agregats de TDP-43 i per tant l'augment de la degradació i toxicitat representaria patogènia en la minoria dels pacients. Per aquesta raó les mutacions podrien considerar-se més com un factor predisposador que com un factor causal.

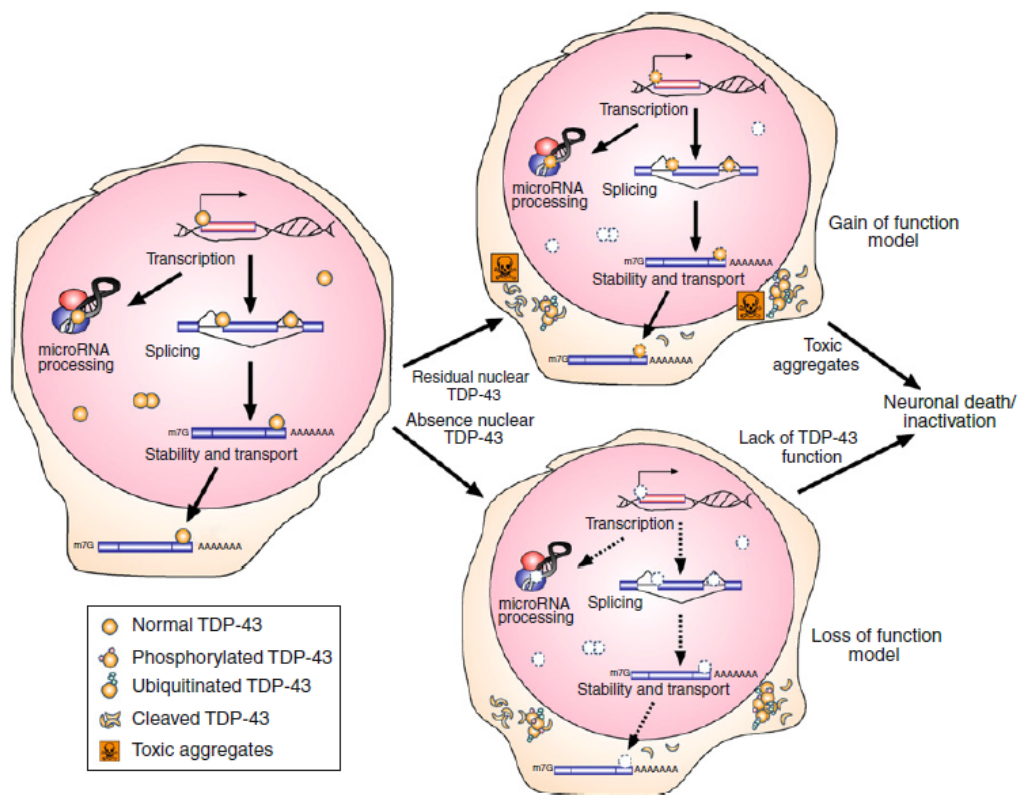


Fig. 10: mecanismes patològics de TDP-43.

Curiosament, TDP-43 no és la única proteïna de unió a DNA/RNA trobada recentment que estigui involucrada en l'ELA. De fet, estudis recents sobre la implicació de la proteïna FUS/TLS en una sèrie de pacients afectats per les formes familiar d'ELA suggereix que les alteracions en el processament de DNA/RNA poden ser un punt clau per la investigació i per a la millora de la comprensió de les malalties neurodegeneratives (Kwiatkowski et al., 2009; Vance et al., 2009).

Sospitosament, mentre TDP-43 està present en les formes esporàdiques i familiars de FTLD-U i en les formes esporàdiques i no-SOD1 familiars (Kwong et al. 2008; Neumann et al. 2006), no es troba en les formes familiars de ELA que tenen la mutació SOD1 (Mackenzie et al. 2007; Tan et al. 2007) o en els models transgènics SOD1<sup>G93A</sup>, SOD1<sup>G37R</sup> i SOD1<sup>G85R</sup> (Robertson et al. 2007).

## CONCLUSIÓ

L'ELA és una malaltia neurodegenerativa de la qual actualment es coneixen els gens implicats en les formes familiars d'ELA i s'han descrit els mecanismes responsables de les formes familiar i esporàdiques d'ELA. També s'ha arribat a la conclusió que aquesta malaltia no és el resultat d'un procés aïllat, sinó que resulta de la interrelació de diversos processos com la excitotoxicitat i la neuroinflamació. Una vegada coneguts els processos responsables de la malaltia, s'han pogut

dissenyar diverses teràpies per intentar aturar o disminuir els efectes de l'ELA. Tot i així, gairebé cap dels fàrmacs i teràpies ha tengut gran èxit en pacients humans. Encara queda molt camí per arribar a una solució definitiva per aquesta malaltia.

## **OBJECTIUS**

Els objectius marcats a l'hora de realitzar aquest treball han estat els següents:

- Entendre l'ELA i els mecanismes implicats en aquesta malaltia.
- Averiguar quin és l'estat actual de la malaltia.
- Ser capaç de sintetitzar tota la informació trobada.

## **RECERCA BIBLIOGRÀFICA**

La recerca bibliogràfica ha constatat de dues parts

1: articles aportats per part del tutor.

2: recerca d'altres articles mitjançant el cercador PubMed utilitzant les següents paraules clau:

-ALS and excitotoxicity

-ALS and neuroinflammation

-ALS and proinflammatory cytokines

-ALS and TNF- $\alpha$  or IFN- $\gamma$

-ALS and oxidative stress

-ALS and TDP-43

-ALS and FUS



## REFERÈNCIES

- Allan SM, Rothwell NJ. (2003). Inflammation in central nervous system injury. *Philosophical Transactions of the Royal Society (London)*, 358(1438), 1669-1677.
- Andersen, P.M. (2003). Genetic Aspects of Amyotrophic Lateral Sclerosis/Motor Neurone Disease, in *Motor Neuron Disorders, Butterworth Heinemann: Philadelphia*, p. 207-208.
- Banks GT, Kuta A, Isaacs AM, Fisher EM. (2008). TDP-43 is a culprit in human neurodegeneration, and not just an innocent bystander. *Mamm Genome*; 19:299-305.
- Bradley, J. R. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of pathology*. 214: 149-160.
- Brown, R.H., Jr. (1997). Amyotrophic lateral sclerosis. Insights from genetics. *Arch Neurol*. 54(10): 1246-50.
- Castillo, K. (2013). Trehalose delays the progression of amyotrophic lateral sclerosis by enhancing autophagy in motoneurons. *Epub*. 9(9): 1308-20.
- Clemente, A. M. et al. (2003). Wild-Type Nonneuronal Cells Extend Survival of SOD1 Mutant Motor Neurons in ALS Mice. *Science*. 302: 113.
- Davis, A., Gilchrist, J., Kasarskis, E. J., Munsat, T., Valdmanis, P., Rouleau, G. A., et al. (2009). Esquerda J.E. (2005). Esclerosis lateral amiotrónica. *Mente y cerebro*, 14.
- Fadeel B., Orrenius S. (2005). Apoptosis: a basic biological phenomenon with ranging-implications in human disease. *J Intern Med*. 258(6): 479-517.
- Garden G. and Möller T. (2006) Microglia biology in health and disease. *J. Neuroimmune Pharmacol*. 1, 127–137
- Gasco, S. (2013). Autofagia y apoptosis: mecanismos de regulación celular en un modelo murino de ELA. *Universidad de Zaragoza*. Recuperado el 3 de Marzo de 2014, de: <http://zaguan.unizar.es/TAZ/VET/2011/11706/TAZ-TFM-2013-616.pdf>
- Halpern, J.L., et al. (1990). Cloning and expression of functional fragment C of tetanus toxin. *Infect Immun*. 58(4): p. 1004-9.
- Hanisch, U-K. (2002). Microglia as a source and target of cytokines. *Glia*. 40: 140-155.
- Haverkamp, L.J., V. Appel, and S.H. Appel. (1995). Natural history of amyotrophic lateral sclerosis in a database population. Validation of a scoring system and a model for survival prediction. *Brain*. 118 ( Pt 3): p. 707-19.
- Huett, A.; Goel, G.; Xavier, R. J. (2010). A systems biology viewpoint on autophagy in health and disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 26(4): p. 302-9.
- Kerr et al. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*. 26, 239.

- Kew, J.N. & Kemp J.A. (2005). Ionotropic and metabotropic glutamate receptors structure pharmacology. *Psychopharmacology*. 182(2): 320.
- Kim, S.U.; de Vellis, J. (2005). Microglia in health disease. *J Neurosci Res*. 81(3): 302-13.
- Kwiatkowski, T. J., Jr., Bosco, D. A., Leclerc, A. L., Tamrazian, E., Vanderburg, C. R., Russ, C., Kwong LK, Uryu K, Trojanowski JQ, Lee VM (2008) TDP-43 proteinopathies: neurodegenerative protein misfolding diseases without amyloidosis. *Neurosignals*. 16:41-51
- Li, T.M., Alberman E. & Swash M.(1988). Comparison of sporadic and familial disease amongst 580 cases of motor neuron disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 51(6): p. 778-84.
- Mackenzie IR, Bigio EH, Ince PG, Geser F, Neumann M et al (2007) Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Ann Neurol* 61:427–434
- McGueere, P.L. & McGueere E.G. (2002). Inflammatory process in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle and nerve*. 26: 459-470.
- McGuire, V., et al.(1996). Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in three counties in western Washington state. *Neurology*. 47(2): p. 571-3.
- Moreno-Igoa, M., et al. (2010). Fragment C of tetanus toxin, more than a carrier. Novel perspectives in non-viral ALS gene therapy. *J Mol Med (Berl)*. 88(3): p. 297-308.
- Mulder, D.W. (1982). Clinical limits of amyotrophic lateral sclerosis. *Adv Neurol*. 36: p. 15-22.
- Mulder, D.W., et al. (1986). Familial adult motor neuron disease: amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, 36(4): p. 511-7.
- Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. Nassif, M., et al. (2010). Amyotrophic lateral sclerosis pathogenesis: a journey through the secretory pathway. *Antioxid Redox Signal*. 13(12): p. 1955-89.
- Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC et al (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314:130–133
- Olmos, G.; Lladó, J. (2014). Tumor necrosis factor alpha: a link between neuroinflammation and excitotoxicity. *Mediators of inflammation Article ID 861231*.
- Robertson J, Sanelli T, Xiao S, Yang W, Horne P et al (2007) Lack of TDP-43 abnormalities in mutant *SOD1* transgenic mice shows disparity with ALS. *Neurosci Lett* 420:128–132
- Rothwell, N. J., & Hopkins, S. J. (1995). Cytokines and the nervous system II: actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci*. 18, 130–136.
- Sathasivam, S. & Shaw P. J. (2005) Apoptosis in amyotrophic lateral sclerosis--what is the evidence? *Lancet Neurol*. 4(8): p. 500-9
- Shaw, P. J. (2005). Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 76: p. 1046-1057.

Streit, W. J. et al. (1988). Functional plasticity of microglia. *Glia*. 1: 301-307.

Tan CF, Eguchi H, Tagawa A, Onodera O, Iwasaki T et al (2007) TDP-43 immunoreactivity in neuronal inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis with or without *SOD1* gene mutation. *Acta Neuropathol* 113:535–542

Van den Bosch et al. (2003). Chloride Influx Aggravates Ca<sup>2+</sup>-Dependent AMPA Receptor-Mediated Motoneuron Death. *The Journal of Neuroscience*. 23 (12): 4942-4950.

Warraich ST, et al. TDP-43: A DNA and RNA binding protein with roles in neurodegenerative diseases. *Int J Biochem Cell Biol* (2010).

Wechsler I.S. (1940). The treatment of amyotrophic lateral sclerosis with vitamin E (tocopherols). *American Journal of Medical Science*;200:765-78.

Wijesekera, L.C. & Leigh, N. P. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Di*. 4: p. 3.