



Universidad Zaragoza

Departamento de Farmacología y Fisiología

TRABAJO FIN DE GRADO

MEDICINA 2015-2016

**FISIOPATOLOGÍA DE LA
ESCLEROSIS LATERAL
AMIOTRÓFICA**

-

**PHYSIOPATHOLOGY OF
AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS**

Autor:

Audberto Ruiz Martínez

Director:

José Joaquín García García

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. Resumen / Palabras clave..... | 2 |
| 1.1. Abstract / Key Words..... | 3 |
| 2. Introducción..... | 4 |
| 2.1. Esclerosis lateral amiotrófica..... | 4 |
| 2.2. Radicales libres..... | 7 |
| 2.3. Superóxido dismutasa..... | 8 |
| 3. Fisiopatología de la Esclerosis Lateral Amiotrófica..... | 8 |
| 3.1. Estrés oxidativo..... | 9 |
| 3.2. Excitotoxicidad..... | 11 |
| 3.3. Afectación del ARN y ADN neuronal..... | 13 |
| 3.4. Disfunción mitocondrial..... | 13 |
| 3.4.1. Localización de la mutación SOD1 en la mitocondria..... | 13 |
| 3.4.2. Defecto del transporte axonal..... | 15 |
| 3.4.3. Alteración morfológica de las mitocondrias..... | 16 |
| 3.4.4. Dinámica mitocondrial en las neuronas..... | 17 |
| 3.4.5. Mecanismos en los que la mutación SOD1 interfiere en el transporte mitocondrial axonal..... | 18 |
| 3.5. Neuroinflamación..... | 21 |
| 3.6. Autoinmunidad..... | 21 |
| 3.7. Alteración del metabolismo energético..... | 22 |
| 3.8. Afectación multisistémica de la esclerosis lateral amiotrófica..... | 23 |
| 3.9. Modelos de enfermedad..... | 25 |
| 3.10. Biomarcadores de la esclerosis lateral amiotrófica..... | 25 |
| 3.10.1. Músculo..... | 25 |
| 3.10.2. Piel..... | 26 |
| 4. Conclusiones..... | 26 |
| 5. Bibliografía..... | 27 |

1. RESUMEN

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta a la motoneurona superior e inferior, mostrando una gran variedad clínica. Un 10% de los casos son heredados de forma autosómica dominante, siendo, de estos, un 20% a causa de la mutación en superóxido dismutasa (SOD), y un 40% en el gen C9ORF72.

La patogénesis de la ELA todavía sigue siendo poco clara. En esta revisión bibliográfica se ha encontrado que los principales mecanismos implicados son: el estrés oxidativo por la mutación en SOD1 observado en varios tejidos, lo que sugiere que la ELA es una enfermedad multisistémica y no sólo del tejido neuronal aunque este sea más sensible; la excitotoxicidad, por la disminución en la capacidad mitocondrial de amortiguar el calcio y la disfunción del receptor EAAT2 por la mutación de SOD; la afectación del ARN y el ADN neuronal por las mutaciones en los genes TDP43 y FUS/TLS presentes en la ELA; la disfunción mitocondrial con afectación del transporte axonal y de la producción de energía en lugares críticos, por la mutación de SOD1, repercutiendo en una axonopatía distal progresiva; la neuroinflamación, por activación de macrófagos y que cursa con elevación de marcadores de inflamación (proteína C reactiva (PCR), IL-6, IL-13, MCP-1); la autoinmunidad por anticuerpos IgG contra la membrana presináptica de las neuronas motoras; y, la alteración del metabolismo energético con hipermetabolismo. Todos estos mecanismos contribuyen a la degeneración y a la vulnerabilidad celular, en especial de las neuronas motoras. Respecto a los biomarcadores de esta enfermedad, se ha hallado el Nogo-A como marcador del daño muscular esquelético y del daño en la piel producido en la ELA, el MMP-9.

Aunque en estas últimas décadas ha habido grandes avances en la comprensión de la fisiopatología de la ELA, todavía queda mucho por entender. Todas estas hipótesis pueden contribuir a proporcionar más evidencias de los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad y llegar a mejorar la acuciante necesidad que hay actualmente por un diagnóstico precoz y un tratamiento más eficaz.

Palabras clave: SOD, fisiopatología, esclerosis lateral amiotrófica, mitocondria, macrófago, catalasa, autoinmunidad.

1.1. Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative progressive disease with loss upper and lower motor neuron, showing a great variety of clinic manifestations. 10% of the cases are autosomal dominant inherited; 20% due to the mutation in superoxide dismutase (SOD) and 40% because of C9ORF72 gene's mutation.

The ALS's pathogenesis is till now unclear. In this review were found, as the main pathogenic factors: oxidative stress by SOD1's mutation, observed in several tissues and suggesting that ALS as a multisystemic disease and it was not exclusive of neuronal tissue that was even more susceptive; excitotoxicity by decreased mitochondrial calcium buffering's capacity and EAAT2 dysfunction receiver by SOD's mutation; RNA and DNA neuronal's involvement due to the TDP43's mutation and FUS/TLS gene presents in ALS; mitochondrial dysfunction with impaired axonal transport and energy production at critical places, by SOD1 mutation, having repercussion in a distal axonopathy progressive; neuroinflammation by macrophage activation and coursing with elevated inflammation's markers (c-reactive protein (PCR), IL-6, IL-13, MCP-1); autoimmunity by IgG antibodies against the motor neuron's presynaptic membranes, and disturbance of energy metabolism with hypermetabolism. All these mechanisms contribute to degeneration and cellular vulnerability, especially in motor neurons. Referring to the biomarkers of this disease, Nogo-A was found as a damage's biomarker in skeletal muscle and MMP-9 in skin.

Although in recent decades there have been great advances in understanding the ALS's physiopathology, we know that there is a great deal still to do and to investigate. All these hypotheses can help to provide more evidences of the pathophysiological mechanisms of ALS and get to improve the need for early diagnosis and more effective treatment.

Key words: SOD, physiopathology, amyotrophic lateral sclerosis, mitochondria, macrophage, catalase, autoimmunity.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Esclerosis lateral amiotrófica

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo e irreversible de la motoneurona inferior y superior sin afectación de otros sistemas como son el sensitivo, esfinteriano y oculomotor. Es la forma más frecuente de enfermedad progresiva de la neurona motora y probablemente, el más devastador de todos los trastornos neurodegenerativos.

Anatomía patológica:

La muerte de las neuronas motoras periféricas provoca la denervación y la consiguiente atrofia de las fibras musculares correspondientes (*amiotrofia*). Y la pérdida de las neuronas motoras corticales provoca un adelgazamiento de los fascículos corticoespinales que descienden a través de la cápsula interna hasta los cordones laterales de la sustancia blanca de la médula espinal. Esta pérdida de fibras de los cordones laterales y la gliosis fibrilar proporcionan ese aspecto histológico de *esclerosis lateral* (Figura 1).

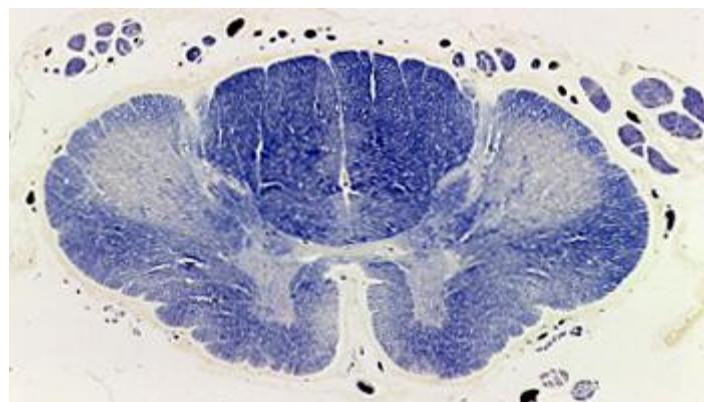


Figura 1. Esclerosis en los cordones laterales de una sección de médula espinal

Una característica notable de la enfermedad es que el proceso de muerte neuronal afecta de manera muy selectiva a un determinado tipo de células. Sin embargo, en las técnicas de inmunohistoquímica indican que en los sistemas no motores también se encuentran neuronas portadoras de ubiquitina, un marcador de degeneración. Dentro del sistema motor también se produce una afectación selectiva: las neuronas oculomotoras no se afectan, como tampoco lo hacen las neuronas parasimpáticas de la medula espinal sacra que inervan los esfínteres del recto y la vejiga (Brown RH, 2012).

Manifestaciones clínicas: (Tabla 1)

Pueden variar según sean las neuronas corticoespinales o las motoras inferiores del tallo cerebral y de la médula espinal las que más estén afectadas.

Tabla 1. Clínica de la ELA según la zona neuronal afectada.

| Sistema afectado | Síntomas y signos |
|-----------------------------|---|
| Bulbar | Disartria Disfagia Sialorrea Atrofia lingual Fasciculaciones lingüales |
| Motoneurona superior | Hiperreflexia Espasticidad (a la movilidad pasiva) Signo de Babinski Debilidad |
| Motoneurona inferior | Debilidad (de comienzo asimétrico y distal) Atrofia muscular Fasciculaciones |

Cualquier grupo muscular puede ser el primero en mostrar los signos de la enfermedad pero, con el tiempo, el trastorno adopta una distribución simétrica en todas las regiones y es característico que independientemente del grupo que se haya afectado primero, acabe afectándose tanto la motoneurona superior como la inferior. La demencia no suele constituir parte de la forma esporádica de la ELA (Berciano Blanco JA, 2012).

Aspectos epidemiológicos:

El promedio de vida es de 3-5 años aproximadamente, desde su diagnóstico y conduce a la muerte por parálisis respiratoria.

La incidencia es de 1-3 casos/100.000 habitantes/año aumentando con cada década, teniendo su máximo a los 74 años, disminuyendo posteriormente y la prevalencia de 3-7/100.000 habitantes. En Europa y EEUU la afectación en varones es algo mayor que en las mujeres (Logroscino G y cols., 2010; Jordan H y cols., 2015). Las tasas de incidencia y mortalidad de la ELA han ido aumentando en las últimas décadas pero esto puede ser debido a la mayor esperanza de vida.

Los únicos factores de riesgo establecidos para la ELA son la edad y la historia familiar, aunque también se sugiere que el tabaquismo puede ser un factor de riesgo (Armon C, 2009).

La mayoría de las presentaciones son esporádicas, pero un 10% de los casos son heredados de forma autosómica dominante, siendo ambas presentaciones indistinguibles clínicamente (Miana-Mena FJ y cols., 2011). Se han identificado varias mutaciones (Laferrière F. y Polymenidou M., 2015):

De los casos de ELA familiar, el 20% están causados por mutaciones en la enzima citosólica superóxido dismutasa (SOD1), que fue el primero conocido, identificado en 1993. En los últimos años se han hallado tres genes relaciones con la ELA familiar que indican un papel potencialmente crucial para el procesamiento del ARNm en la patogénesis de la ELA: TDP43 y FUS/TLS (fusionada en el sarcoma y translocada en el liposarcoma) representando un 5% aproximadamente cada una, de los casos de ELA familiar, y las expansiones repetidas de hexanucleótidos en C9ORF72 que son la causa genética más común de este tipo de ELA causando casi el 40% en personas de ascendencia europea (Turner MR y cols., 2013).

Respecto a la ELA esporádica la causa de la mayoría sigue siendo desconocida, aunque algunas de las mutaciones anteriores se encontraron en un pequeño porcentaje de pacientes aparentemente esporádicos (Figura 2).

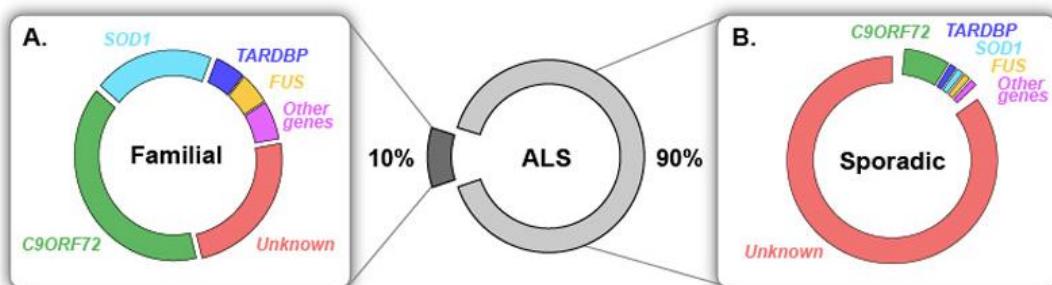


Figura 2. Causas genéticas conocidas en la ELA familiar y esporádica (Laferrière F. y Polymenidou M., 2015).

Diagnóstico:

No existe una prueba diagnóstica definitiva sino que la mayoría se diagnostican por la clínica de características progresivas y con afectación sucesiva de diferentes regiones anatómicas, junto con ausencia de dolor y de alteraciones sensitivas, la función normal de los esfínteres anal y vesical, los resultados normales de los estudios radiográficos de columna y la ausencia de alteraciones en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Todo esto está unificado en los criterios diagnósticos de El Escorial 1994 (Escorial World Federation of Neurology, 1994), que en la actualidad se siguen utilizando y sirven para incluir a los pacientes en los ensayos clínicos. Dado su mal pronóstico, deben evitarse los falsos positivos, informando al paciente solamente cuando el diagnóstico sea completamente seguro (Davenport RJ y cols., 1996).

2.2. Radicales libres

En los átomos, los electrones se encuentran ocupando orbitales y cada uno de estos contiene un máximo de 2 electrones. Un radical libre se define, como una molécula o un átomo con existencia independiente, que presenta un electrón desapareado en su orbital más externo.

Los radicales libres pueden reaccionar con otras moléculas de forma diversa. Así un radical libre puede donar su electrón no apareado a otra molécula. Por ello, son muy inestables con una vida media muy corta y altamente reactivos, pudiendo arrebatar un electrón de otra molécula para llegar a la situación de estabilidad electrónica. En todas estas reacciones, el radical libre convierte a la molécula con la que reacciona a su vez en un nuevo radical libre, y por lo tanto, una característica bastante habitual de las reacciones de los radicales libres es que se trata de procesos en cadena: un radical da lugar a la formación de otro radical. Sólo al encontrarse con antioxidantes o cuando dos radicales libres reaccionan entre sí cesa el proceso (Halliwell BH y Gutteride JMC, 1989).

Dependiendo de la molécula con la que reaccionen, lípidos (alteración de los fosfolípidos de la membrana celular), proteínas (modificaciones estructurales severas, alteración de canales iónicos y receptores de membrana) o ácidos nucleicos (bases mutadas, micronúcleos...), causan daño celular y su apoptosis.

Una especie reactiva dependiente del oxígeno es aquella molécula electrónicamente estable que con gran facilidad se convierte en radical libre. Uno de los más importantes es el radical libre superóxido (O_2^-) permanentemente elaborado por el organismo, durante el metabolismo normal cuando una molécula de oxígeno (O_2) gana un electrón adicional, por la cadena de transporte electrónico mitocondrial, la β -oxidación de los ácidos grasos, la lisis fagocitaria, el metabolismo de la CYP450,... Otra especie reactiva importante es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Guyton, 2006).

El ADN mitocondrial es especialmente susceptible al ataque por radicales libres, ya que la mitocondria es la mayor fuente de éstos, y tiene escasos sistemas protectores del ADN y muy pocas enzimas reparadoras.

Antioxidantes:

Son átomos o moléculas que evitan el daño de nuestras células al ceder electrones a un radical libre para estabilizarlo. Entre ellos encontramos: glutatión reductasa, glutatión

peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa. Ésta última es una de las enzimas antioxidantes más importantes y juega un papel sustancial en la patogénesis de la ELA. También existen antioxidantes exógenos como las vitaminas A, C y E o los quelantes de metales.

La mutación de la SOD1, causa una disminución de la capacidad antioxidante, y junto con la alteración mitocondrial, elevado estrés oxidativo por disfunción mitocondrial en las neuronas de la ELA, son un pilar fundamental en la fisiopatología de esta enfermedad.

2.3. Superóxido Dismutasa (SOD)

Es una enzima que cataliza la dismutación de superóxido (radical libre) en oxígeno y peróxido de hidrógeno. La podemos encontrar en 3 formas cuyas características se resumen en la tabla 2:

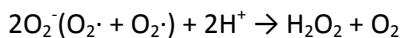


Tabla 2. Familias de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD).

| | En célula | Estructura | Cromosoma | Carenicia (ratones) | (humanos) |
|--------------|----------------------|-----------------------|----------------------|--|------------------------------------|
| SOD 1 | Citoplasma | Dímero con Cu y Zn | 21 (21q22.1) | Hepatocarcinoma, acelerada pérdida de masa muscular relacionada con la edad, temprana incidencia de cataratas y esperanza de vida reducida | ELA Sobreexpresión: Sd. Down |
| SOD 2 | Mitocondrias | Tetrámero con Mn | 6 (6q25.3) | Muerte pocos días por estrés oxidativo masivo | |
| SOD 3 | Líquido Extracelular | Tetrámero con Cu y Zn | 4 (4p15.3- p15.1) | Esperanza de vida normal | |

3. FISIOPATOLOGÍA DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

En la actualidad hay una intensa necesidad de establecer biomarcadores sensibles para el diagnóstico, la estratificación pronóstica y la actividad de la ELA. El diagnóstico de la ELA depende actualmente de la opinión de un neurólogo con experiencia en esta patología (Turner MR y cols., 2013).

Respecto a la patogénesis sigue siendo poco clara y algunos estudios han intentado aportar claridad a la fisiopatología de esta enfermedad. Entre los mecanismos propuestos destacan los siguientes: estrés oxidativo; excitotoxicidad; afectación del ADN y ARN neuronal;

disfunción mitocondrial; neuroinflamación; autoinmunidad; y alteración del metabolismo energético.

3.1. Estrés oxidativo

El interés inicial del estrés oxidativo en la ELA tomó forma con el descubrimiento de las mutaciones en SOD1, representando aproximadamente el 20% de los casos de ELA familiar causados por esta mutación. A nivel fisiopatológico la mutación SOD produce: excitotoxicidad, deterioro mitocondrial, agregación de proteínas, estrés del retículo endoplasmático y alteraciones en la señalización a partir de los astrocitos y la microglia entre otros.

La mutación de SOD1 aumenta la formación de ·OH perjudiciales y sus derivados peroxinitritos (Beckman JS y cols., 1993; Yim HS y cols., 1997). Estos radicales libres intracelulares afectan a las proteínas mitocondriales, al ADN, e inhiben actividades enzimáticas específicas mitocondriales de la cadena de transporte de electrones mitocondrial.

En ratones con la mutación SOD1 se ha observado que aparece daño oxidativo en el tejido neural, pero varios estudios han visto que si la mutación estaba solamente presente en este tejido no se producía el fenotipo ELA. Por lo que con otras mutaciones presentes en los humanos (SOD^{G93A} , $SOD1^{G85R}$ y $SOD1^{G37R}$) se ha propuesto que la ELA es una enfermedad multisistémica (Miana-Mena FJ y cols., 2011).

El daño mediado por radicales libres afecta principalmente al sistema nervioso central por el gran metabolismo neuronal y su débil concentración de antioxidantes. En un reciente estudio de la universidad de Zaragoza se demostró el efecto del estrés oxidativo en varios órganos de ratones con la mutación SOD^{G93A} y su relación con la edad. Tras la comparación de la oxidación de las proteínas y los lípidos en animales con la mutación y sanos, se obtuvo (Figura 3) que el daño oxidativo más alto se encontró en el periodo de la aparición de los síntomas motores sobre el día 100 y afectó principalmente a tejidos neuronales, médula espinal y cerebro. En la fase presintomática, día 70, la oxidación fue similar en ratones con la mutación y en controles. Dado que en los sanos los niveles de estrés oxidativo fueron estables a lo largo del tiempo, la peroxidación lipídica en el tejido neuronal es a causa de la mutación SOD1 y no por el envejecimiento del animal. Además, la afectación mayor en tejido espinal que en el cerebro se puede atribuir a la mayor proporción de neuronas motoras en este primero.

Respecto a la oxidación de proteínas, en otros estudios (Andrus PK y cols., 1998) sí que se encontraron diferencias significativas, pero puede deberse a que las muestras fueron

cogidas en región lumbar y cervical, lo que puede explicar que la pérdida de las neuronas motoras en el ratón SOD^{G93A} es mayor en estas regiones.

En cuanto a lo que sucede en otros tejidos, durante el periodo preclínico el estrés oxidativo en el músculo parece ser inferior en los animales con la mutación, lo que podría ser debido a una actividad elevada de las enzimas antioxidantes SOD1, SOD2 y catalasa (Mahoney DJ y cols., 2006).

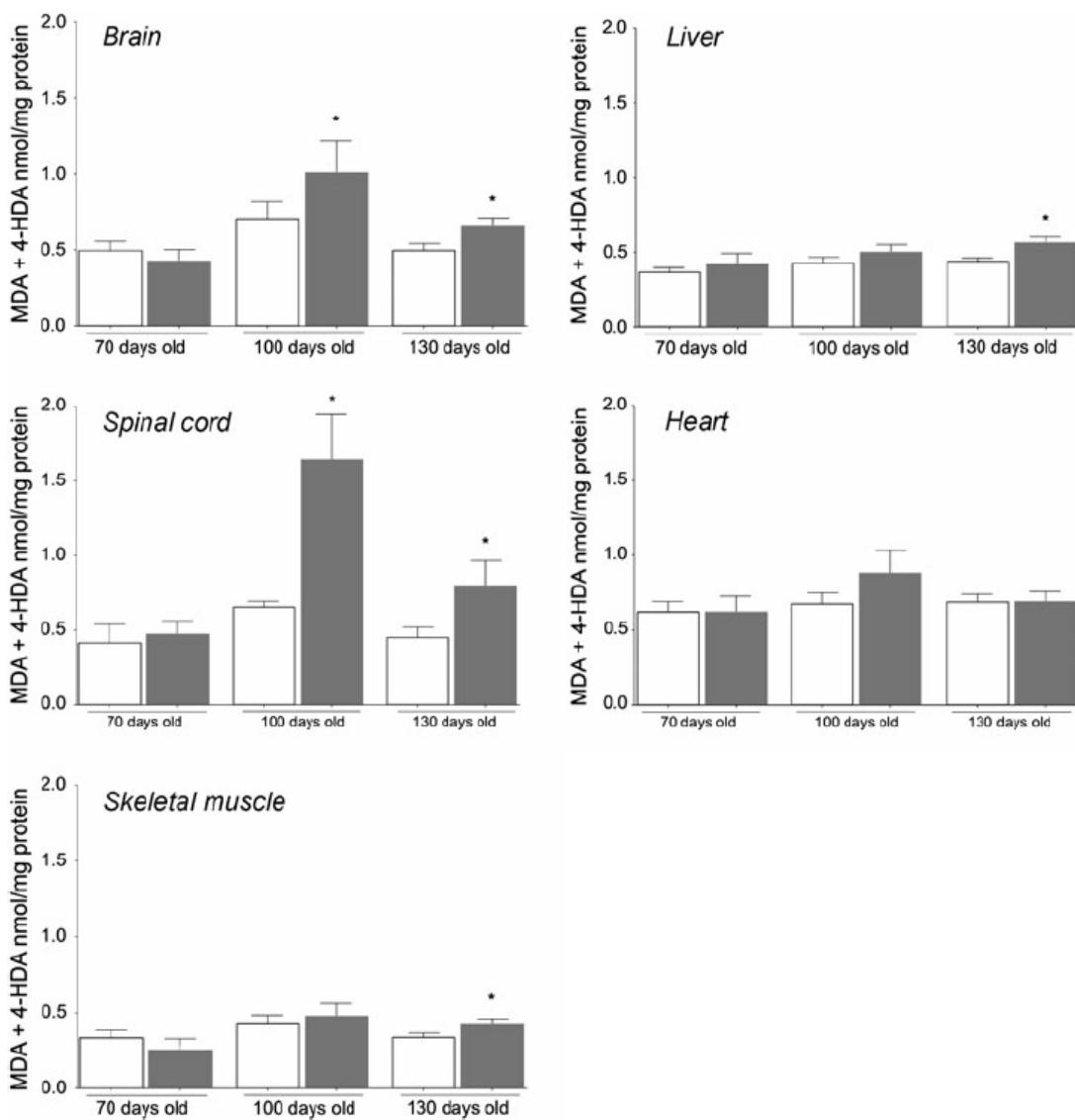


Figura 3. Peroxidación lipídica en ratones SODG93A (Miana-Mena FJ y cols., 2011).
 MDA + 4-HDA: producto de la oxidación de los lípidos por los radicales libres. Barra blanca: tejidos control y barra negra: tejidos SODG93A. * $p < 0.05$ vs control.

En el estudio de Miana-Mena y cols. sí se encontró peroxidación de los lípidos hepáticos en la fase final de la enfermedad, 130 días, que posiblemente sea un efecto secundario del proceso final de la enfermedad, además de diferencias significativas en ese

periodo en el músculo esquelético. Por el contrario en el tejido cardíaco no se encontraron daños oxidativos significativos. En conclusión, el estrés oxidativo afecta tanto a tejido neuronal y como no neuronal. El tejido no neuronal tiene un papel importante en la fisiopatología de la ELA en los ratones SOD1^{G93A}. Aunque se necesitan más estudios para explicar la importancia de los daños oxidativos en la patogénesis de la ELA.

Un meta-análisis de las intervenciones terapéuticas para examinar los efectos de los fármacos antioxidantes en el tratamiento de pacientes con ELA, no observó ningún efecto con la vitamina E administrada a dosis de 500 mg / 2 veces al día, vitamina E 1g / 5 veces al día, acetilcisteína 50 mg/kg/día sc ni para la combinación L-metionina 2g, vitamina E 400 UI y selenio 0.03 mg 3 veces al día (Orrell RW y cols., 2008). Por lo que no se encontraron diferencias significativas en la combinación de tratamientos y no hay pruebas suficientes de la eficacia de las terapias antioxidantes en el tratamiento de las personas con ELA. En cambio en ratones sí que se observó que los antioxidantes eran el tipo de fármaco más eficaz en la mejora de la supervivencia. En general, los estudios (Turner MR y cols., 2013) que han intentado explicar la modificación de la ELA con antioxidantes fueron mal diseñados, y de poca potencia, con un bajo número de participantes y de corta duración. La alta tolerancia y seguridad, el costo relativamente bajo de las vitaminas C y E, y la falta de otros tratamientos efectivos para la ELA, explican el uso continuo de estas vitaminas en el tratamiento de la ELA. Si bien no hay evidencia de ensayos clínicos sustanciales para apoyar su uso, no hay una clara contraindicación.

Aunque, hay nuevas moléculas de desarrollo *in vitro* que pueden ser capaces de generar futuros antioxidantes contra la ELA, se han probado con eficacia algunas en ratones y se está investigando el perfil farmacocinético con intención de probar esas moléculas a los que presentan la mutación SOD1^{G93A} (Barber SC y cols., 2009).

3.2. Excitotoxicidad

Es un proceso de muerte neuronal mediado por la entrada masiva de calcio (Ca^{2+}) a la neurona, provocado por la estimulación excesiva de los receptores glutamato, por la presencia de niveles elevados de éste en el espacio sináptico. En médula y cerebro de ratones transgénicos SOD1^{G93A} se ha encontrado una disminución significativa en la capacidad mitocondrial de amortiguar el Ca^{2+} liberado en el citosol neuronal, fenómeno que se observa desde el principio en el curso de la enfermedad. Esta elevación del calcio intracelular activa a fosfolipasas, endonucleasas y proteasas, caspasas, que dañan el citoesqueleto, la membrana y el ADN, produciendo finalmente la apoptosis neuronal (Turner MR y cols., 2013). En cambio no

se ha encontrado relación entre las concentraciones de aminoácidos excitadores como el glutamato y la duración de la enfermedad, el deterioro clínico o la edad del paciente. Además el metabolismo de los aminoácidos excitadores del SNC se encuentra alterado en los pacientes con ELA (Rothstein JD y cols., 1990), de ahí sus niveles elevados en el espacio sináptico.

Los niveles elevados del glutamato en el espacio sináptico son causados por los niveles reducidos de la proteína EAAT2 (Figura 4) encargada de introducir el glutamato dentro del astrocito recaptándolo, así, del espacio sináptico. Los niveles reducidos de esta proteína han sido observados hasta en el 80% de los cerebros post-mortem humanos y en la medula espinal en pacientes con ELA (Rothstein JD y cols., 1995). La disfunción de este receptor (EAAT2) se ha vinculado a la mutación de la SOD1 y contribuye a la degeneración de las motoneuronas de la ELA. Su sobreexpresión protege de la excitotoxicidad y retrasa la aparición de déficits motores (Guo H y cols., 2003).

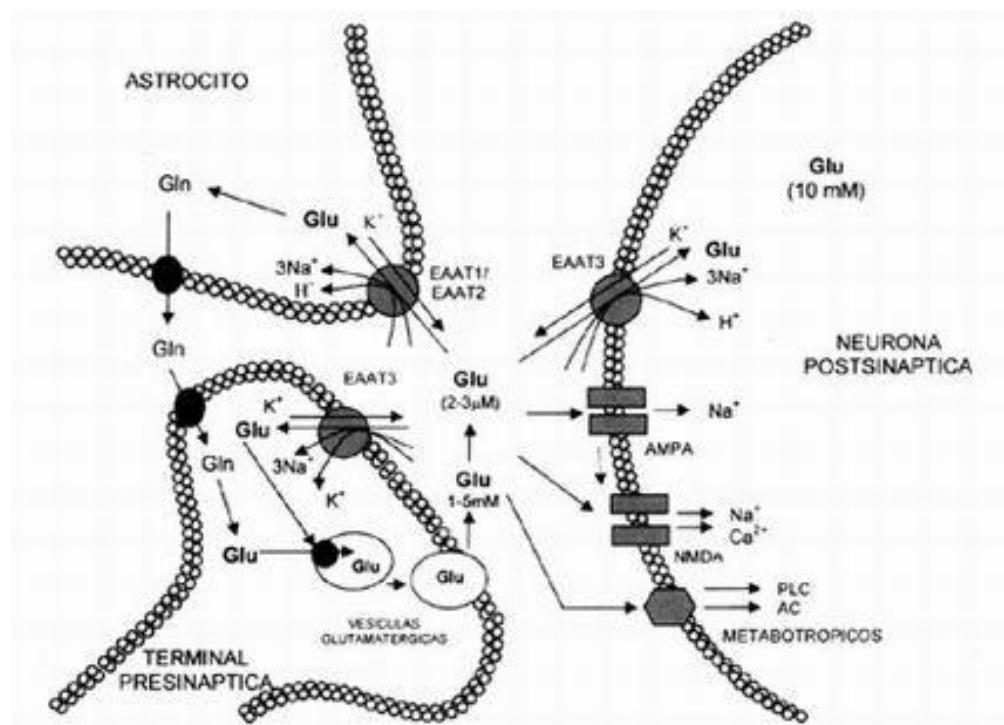


Figura 4. Sinapsis glutamatérgica. Un estímulo nervioso provoca la liberación de glutamato almacenado en vesículas sinápticas al espacio extracelular. El glutamato liberado actúa sobre sus receptores ionotrópicos (AMPA y NMDA) y metabotrópicos produciendo la excitación de la neurona postsináptica. Después de su acción sináptica el glutamato es capturado por transportadores localizados en las neuronas (EAAT3) y los astrocitos (EAAT1 y EAAT2), finalizando así la actividad de la sinapsis excitadora y manteniendo bajas las concentraciones de glutamato extracelular.

El único fármaco modificador de la enfermedad hasta el momento es el riluzol®, que parece tener una actividad anti-glutaminérgica.

3.3. Afectación del ARN y ADN neuronal

En los pacientes con mutaciones en los genes TDP43 y FUS/TLS, se unen al ARN y ADN y se desplazan entre el núcleo y el citoplasma, desempeñando múltiples funciones en el control de la proliferación celular, la reparación y transcripción del ADN y la traducción génica, tanto en el citoplasma como en las espinas dendríticas, en respuesta a la actividad eléctrica. Otra hipótesis es que, TDP-43 normalmente funciona reprimiendo el empalme de las regiones no conservadas del genoma, conocido como exones crípticos. El agotamiento o agregación de TDP-43 permite el empalme de exones crípticos en el ARN mensajero, que interrumpe la traducción y conduce a la muerte celular (Ling JP y cols, 2015). Se desconoce la causa de cómo las mutaciones en FUS/TLS provocan la muerte de la neurona motora, aunque esto puede estar representado por una pérdida de la función de FUS/TLS en el núcleo o una función tóxica adquirida de las proteínas mutantes en el citosol (Brown RH, 2012).

3.4. Disfunción mitocondrial

Las mitocondrias son críticas para la supervivencia celular ya que actúan en la obtención de energía de la célula, amortiguan el calcio intracelular y regulan la apoptosis. En los tejidos afectados en la ELA hay numerosas evidencias del daño selectivo a la mitocondria, especialmente en la enfermedad hereditaria causada por mutaciones en SOD1 (Kong J y Xu Z, 1998; Turner MR y cols., 2013).

En estudios sobre ELA se ha descrito tanto *in vitro* como *in vivo* disfunción mitocondrial con alteración de la homeostasis del Ca^{2+} , disminución de la respiración mitocondrial y síntesis de ATP, alteración en la expresión de los genes relacionados con las mitocondrias y el aumento del estrés oxidativo (Rizzardini M y cols., 2005; Magrane J y Manfredi G, 2009).

La disfunción mitocondrial puede ser un desencadenante o una consecuencia del proceso neurodegenerativo pero los mecanismos precisos siguen siendo inciertos (Magrane J, Manfredi G, 2009).

3.4.1. Localización de la mutación SOD1 en la mitocondria

La SOD1 mutante se localiza en las mitocondrias, y se acumula en la membrana exterior y el interior del espacio intermembrana.

Se ha demostrado que la localización de la SOD1 mutante en la mitocondria, activa la liberación del citocromo c mitocondrial en el citosol produciendo la muerte neuronal debido a

la activación de la cascada de caspasas, mediadores de la apoptosis. En cambio, cuando la mutación se sitúa en otra organela celular como en el núcleo, la SOD1 no induce la muerte celular, ni tampoco se ha asociado con la formación de agregados citoplasmáticos. Por lo tanto, la localización mitocondrial de la mutación SOD1 (Figura 5) es esencial para la neurotoxicidad (Figura 6) en las motoneuronas de ELA familiar (Takeuchi H, y cols., 2002).

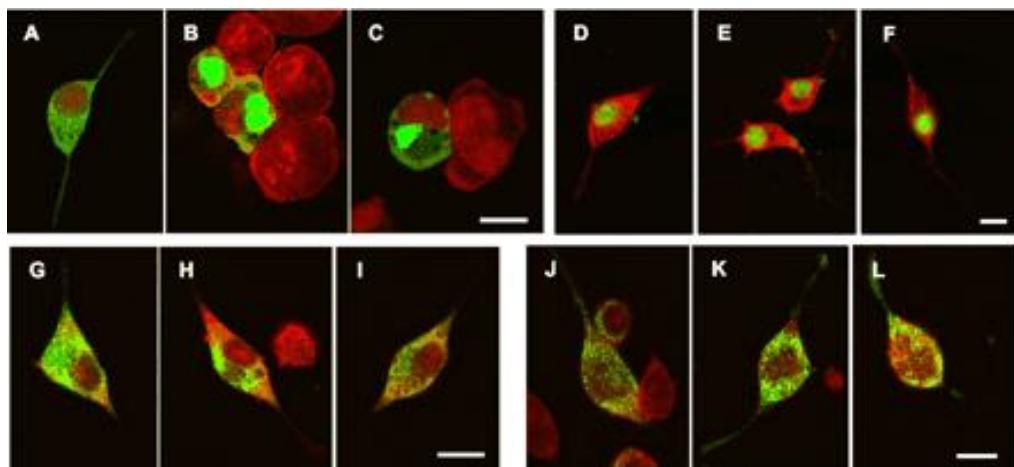


Figura 5. Localización subcelular de la SOD1-EGFP, proteína fluorescente verde, en neuronas tipo 2a. A-B-C: SOD1 en citosol (A: wtSOD1; B: mSOD1 G93A; C: mSOD1 G85R); D-E-F: SOD1 en núcleo (D: wtSOD1; E: mSOD1 G93A; F: mSOD1 G85R); G-H-I: SOD1 en retículo endoplasmático (G: wtSOD1; H: mSOD1 G93A; I: mSOD1 G85R); J-K-L: SOD1 en mitocondrias (J: wtSOD1; K: mSOD1 G93A; L: mSOD1 G85R). Escala 10μm.

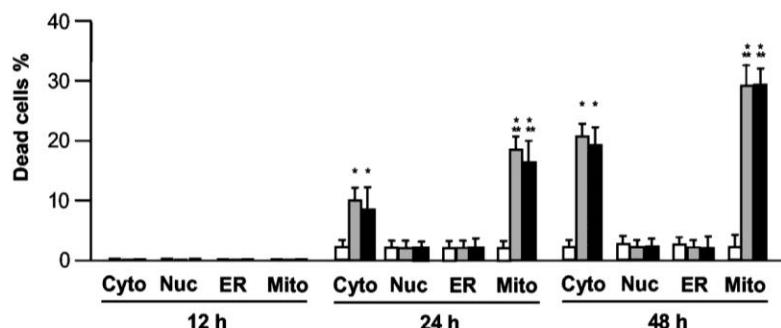


Figura 6. Muerte neuronal en función de la localización de SOD1. * p < 0,001; ** p < 0,05. Columnas blancas: wtSOD1; columnas grises: mSOD1 G93A; columnas negras: mSOD1 G85R. Las células con cito-mSOD1 mostraron menor grado de muerte celular que aquellos con Mito-SOD1, probablemente porque la mSOD1 por cito-mSOD1 se acumula menos en la mitocondria que por Mito-SOD1.

Para comprobar si la activación de la cascada de caspasas mitocondriales juega un papel importante en la muerte neuronal, se ha examinado el efecto con inhibidores amplios (zVADfmk) y específicos de la caspasa (zLEHDfmk). Esta inhibición podría ser un candidato para un abordaje terapéutico de casos de ELA familiar (Figura 7).

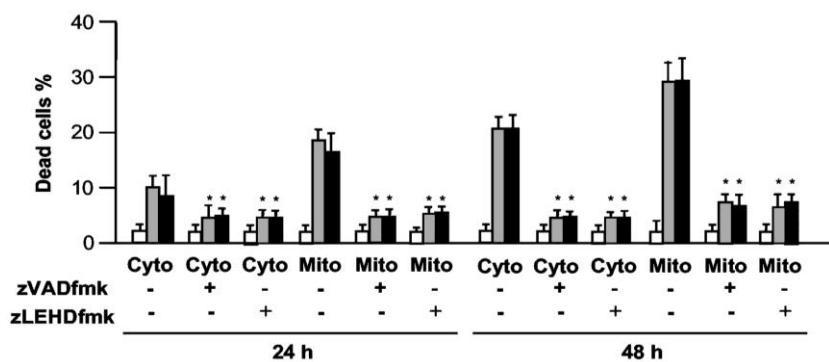


Figura 7. Demostración de cómo la vía de liberación del citocromo C y la activación de las caspasas son el principal causante de muerte neuronal mediado por mSOD1.

3.4.2. Defecto del transporte axonal

Las neuronas son células polarizadas con largas extensiones que conectan el soma con la periferia de la célula, la zona sináptica. En ellas los orgánulos celulares, como las mitocondrias y las vesículas, son constantemente transportados a lo largo de neuritas (dendrita o axón). Deben viajar por transporte anterógrado desde el soma a la porción más distal, y al revés retrógrado, para proporcionar sus funciones a la periferia de la célula (Figura 8).

Este transporte es especialmente relevante en las neuronas motoras que tienen axones largos que pueden alcanzar hasta un metro de longitud para llegar a las terminaciones nerviosas más lejanas. Por lo tanto, cualquier alteración del transporte axonal puede tener consecuencias graves en la función y supervivencia neuronal.

Las mitocondrias están muy presentes en los lugares con gran demanda de ATP y Ca^{2+} como son el soma celular, nodos de Ranvier y terminaciones sinápticas. Por lo tanto, alteraciones en el transporte mitocondrial pueden causar agotamiento de la energía local y Ca^{2+} que pueden provocar la disfunción sináptica y la pérdida de función neuronal.

En ratones $\text{SOD1}^{\text{G93A}}$ hay una disminución del transporte retrógrado en una etapa temprana de la enfermedad, coincidente con la degeneración de la unión neuromuscular y la debilidad muscular, ya que se ve una acumulación de mitocondrias y lisosomas en los axones distales, lo que sugiere un bloqueo del transporte que podría ser la causa de la mala degradación de estas mitocondrias metabólicamente disfuncionales (Magrane J y Manfredi G, 2009).

3.4.3. Alteración morfológica de las mitocondrias

En pacientes con ELA esporádica, en el soma y axones proximales de las motoneuronas situadas en las astas anteriores, se han observado mitocondrias con morfología anormal: red fragmentada, hinchazón y aumento de crestas (Figura 8) (Magrane J y Manfredi G, 2009). Entre las características patológicas observadas en las neuronas motoras de ratones SOD1^{G93A} y SOD1^{G37R} hay membranas vacuolares derivadas de la degeneración mitocondrial. En ratones G93A, la aparición de la enfermedad está precedida por un rápido aumento de la degeneración mitocondrial con muerte de motoneuronas (Magrane J y Manfredi G, 2009). Curiosamente, estas mitocondrias anormales aparecen primero distalmente, en la unión neuromuscular. Por lo tanto, las alteraciones mitocondriales pueden representar un factor desencadenante de la degeneración axonal distal y denervación, tanto en pacientes con ELA como en modelos animales.

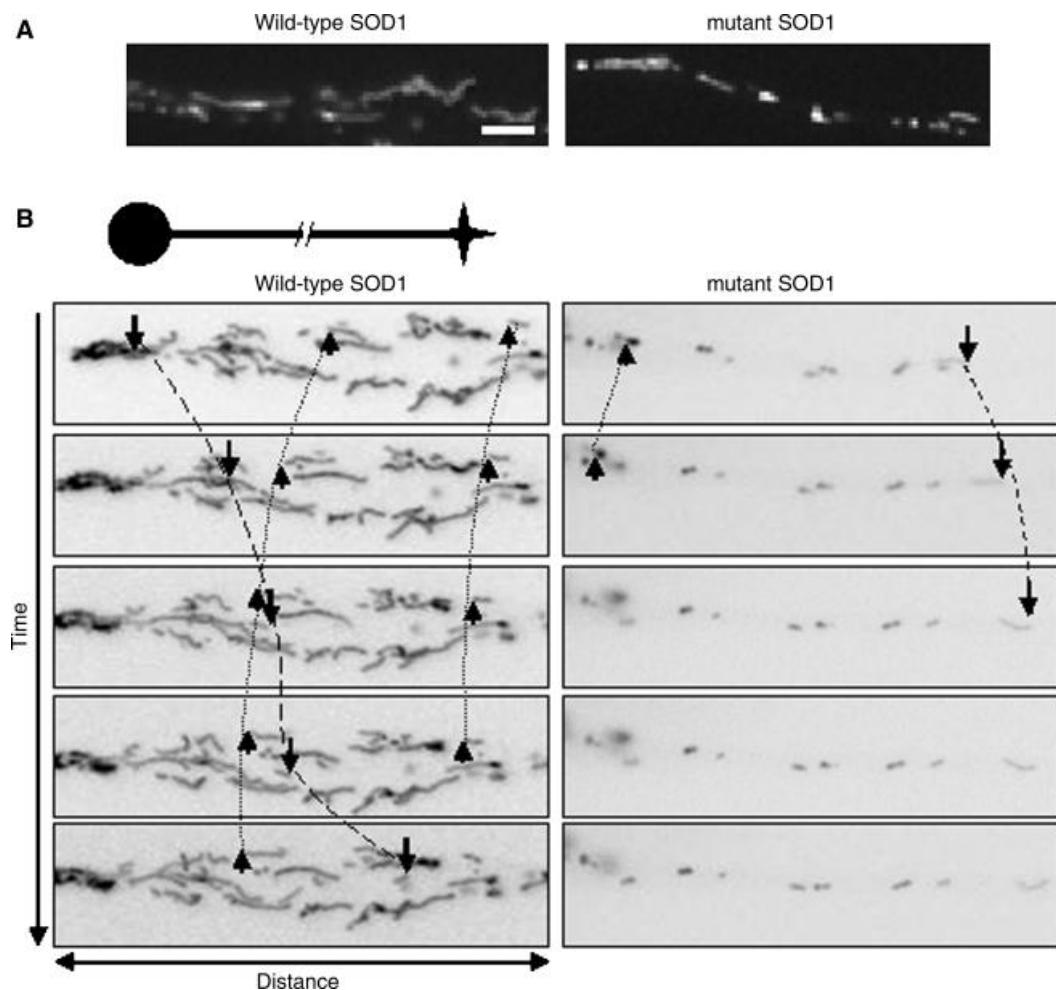


Figura 8. Motoneuronas NSC34 utilizadas para estudiar los efectos de la SOD1 mutante en la dinámica mitocondrial (Magrane J y Manfredi G, 2009). A: Las mitocondrias de las neuritas sin la mutación SOD1 son principalmente tubulares, mientras que en la SOD1 mutante están fragmentadas. B: Con la microscopía de imágenes *in vivo* podemos seguir los movimientos de las mitocondrias. Las neuronas con la mutación SOD1 aparecen casi inmóviles o con movilidad reducida.

3.4.4. Dinámica mitocondrial en las neuronas

La dirección de transporte mitocondrial se correlaciona con su estado bioenergético: con potencial normal de la membrana las mitocondrias tienden a moverse hacia la periferia, mientras que la pérdida del potencial de membrana resulta en aumento el transporte retrógrado.

Respecto al transporte anterógrado y retrógrado que hacen las mitocondrias a lo largo de la neurona lo realizan gracias a 2 adaptadores: miro y milton, a los que se le une la kinesina para el transporte anterógrado. El transporte retrógrado lo realiza la dineina unida a la mitocondria mediante la dinactina. En cambio, la sinaptina une la mitocondria y los microtúbulos, inmovilizándolos. La miosina, uniéndose a los filamentos de actina, también puede interactuar con las mitocondrias modulando el transporte en las zonas carentes de microtúbulos (Figura 9).

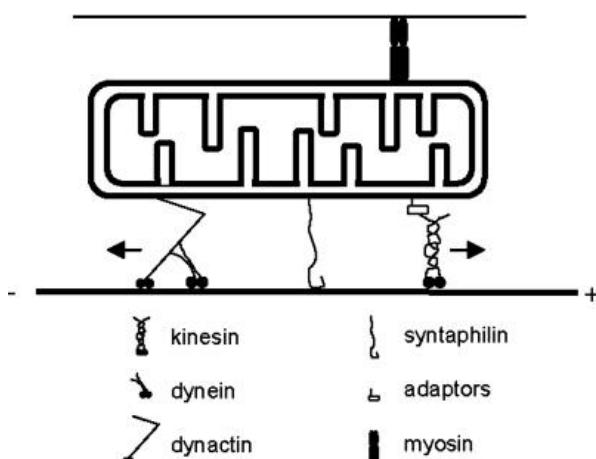


Figura 9. Maquinaria molecular implicada en el transporte mitocondrial (Magrane J y Manfredi G, 2009)

Las mitocondrias forman una red altamente dinámica e interconectada que se somete a una continua remodelación por alternancia de fusión y fisión (Figura 10). Se ha descrito que estos procesos están implicados en varias enfermedades degenerativas como la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth y la atrofia óptica que causan mitocondrias tubuladas e hiperlargas por falta de fisión. Por ello se cree que la presencia de fragmentación de mitocondrias por falta de fusión en la ELA, estaría producido por la afectación de dichos mecanismos.

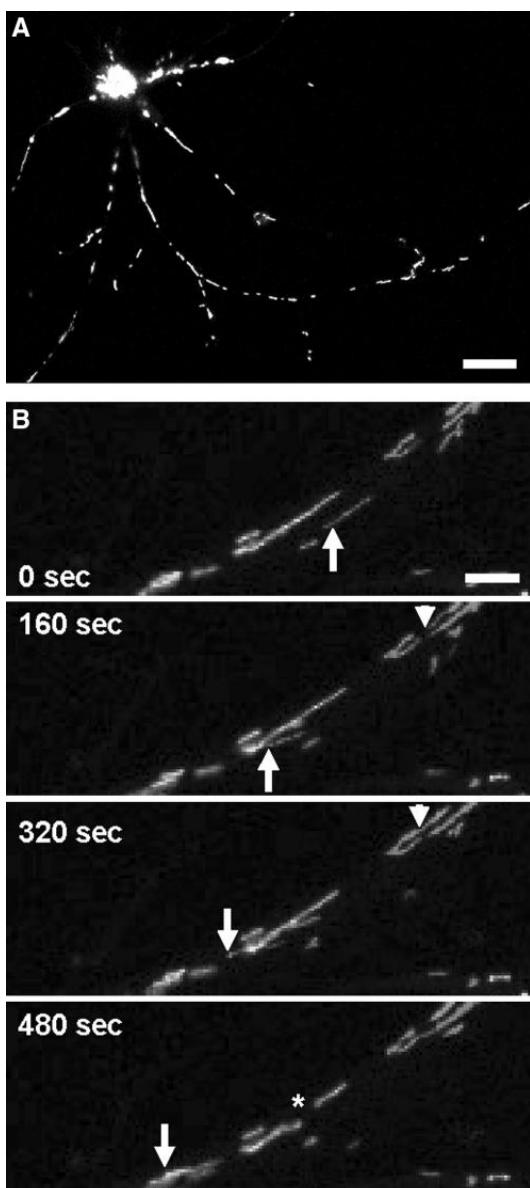


Figura 10. Mitocondrias marcadas con anticuerpos fluorescentes *in vitro*. A: Neurona cortical en la que se ven mitocondrias llenando el soma neural y las neuritas. Escala 25 micras.B: Dinámica mitocondrial. Mitocondrias en movimiento (flecha), eventos de fusión (punta de flecha) y eventos de fisión (asterisco). Escala: 2,5 micras.

3.4.5. Mecanismos en los que la mutación SOD1 interfiere en el transporte mitocondrial axonal

La mutación de SOD1 puede afectar potencialmente al transporte mitocondrial mediante varios mecanismos (Figura 11), por lo que las mitocondrias ya no pueden llegar a los sitios celulares donde más se necesitan, entre ellos destacan:

- 1) La acumulación anormal de SOD1 mutante alrededor o en el interior de las mitocondrias podría desencadenar el daño y la disfunción metabólica mitocondrial (Vijayvergiya C y cols., 2005). La mutación SOD1 interfiere en la fusión y fisión de la mitocondria, ya que ambos procesos dependen de la motilidad mitocondrial alterados también por esta mutación (Chan DC, 2006).
- 2) La SOD1 mutada activa una quinasa que fosforila proteínas axonales de los

neurofilamentos. Estos forman agregados con la SOD1 mutante que podrían actuar como bloqueos físicos en el transporte axonal, el citoesqueleto, o las 2 cosas. 3) La enzima mutada también puede interactuar con los motores kinesina-1 y dineina (Zhang F y cols., 2007) y con los adaptadores moleculares, milton y miro, alterando el transporte axonal mitocondrial. Las mitocondrias deficientes podrían suministrar niveles bajos de ATP a estos motores. Aunque esta falta de energía local no sería suficiente para explicar el deterioro de transporte en las neuronas motoras de la ELA. Por lo que otros factores además el deterioro bioenergético contribuyen a los defectos motores. 4) Puede interferir en las vías de señalización intracelulares que regulan la estabilidad del citoesqueleto y controlan el transporte mitocondrial.

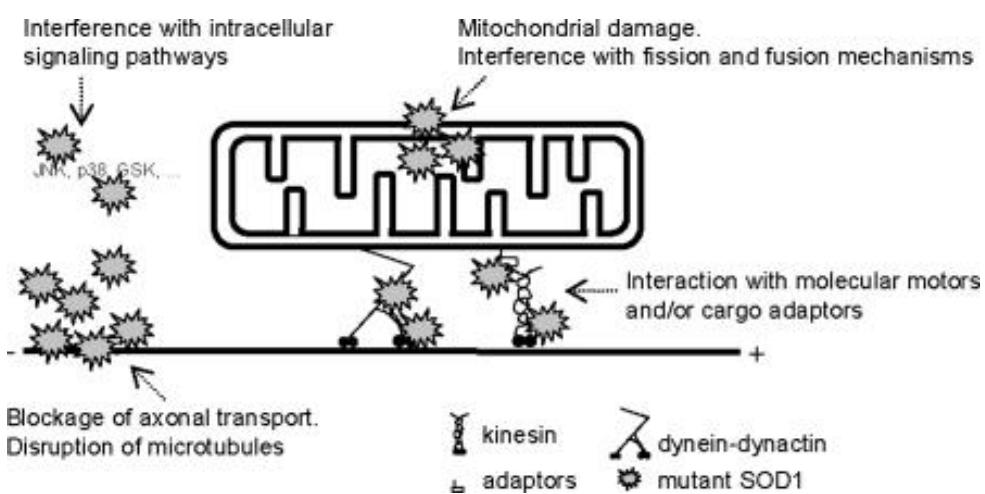


Figura 11. Diferentes niveles a los que actúa la SOD1 mutante en la dinámica mitocondrial (Magrane J y Manfredi G, 2009).

Debido a la alteración de la dinámica mitocondrial, se ha observado una acumulación anormal de mitocondrias en los somas y axones proximales de las uniones neuromusculares de casos esporádicos y familiares con ELA y en la presinápsis de la motoneurona en los ratones G93A (Sasaki S e Iwata M, 2007). Una pérdida de las mitocondrias en los terminales del axón se ha asociado a una transmisión sináptica defectuosa, y cuando las mitocondrias se acumulan en el cuerpo de la célula, se ha demostrado que es debido a mutaciones que inactivan a Miro-1, produciéndose degeneración y atrofia muscular ya que la unión neuromuscular carece mitocondrias para la liberación de neurotransmisores y Ca^{2+} . Además, cuando se activa Miro en los mutantes recobran su viabilidad, el transporte a lo largo de la neurona, la estructura de los botones sinápticos, la organización de los microtúbulos presinápticos y el tamaño de los músculos postsinápticos. El aumento de la función de Miro también provoca una acumulación anormal de las mitocondrias en los botones sinápticos distales. Por todo ello, se ha

demostrado que Miro controla el transporte anterógrado de las mitocondrias y su adecuada distribución dentro de las terminaciones nerviosas (Guo X y cols., 2005).

En las fases tempranas de la ELA, la presencia de mitocondrias anormales y vacuoladas en la unión neuromuscular de ratones con la mutación SOD1 (Figura 12), se ha correlacionado con el inicio de la denervación y sugiere ser un evento patogénico primario (Gould TW y cols., 2006). Este hecho ayuda a entender porque la neuropatía en la ELA se inicia y progresiva desde la porción distal a la proximal de las neuronas motoras y causa parálisis incluso en ausencia de degeneración en el soma neuronal de la médula espinal (Fisher LR y cols., 2004).

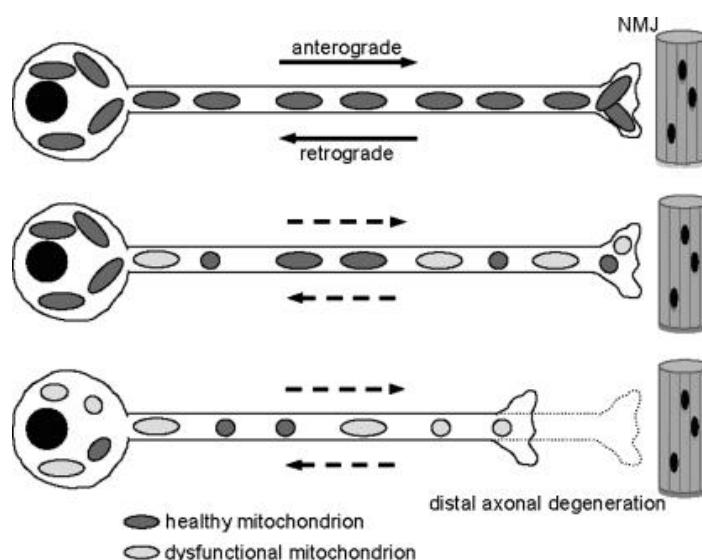


Figura 12. Modelo de la dinámica mitocondrial en ELA familiar SOD1 mutante. NMJ: unión neuromuscular.

En las neuronas motoras de la ELA, las mitocondrias se hacen más pequeñas y disfuncionales, y por lo tanto, el suministro de ATP se reduce, y se deteriora el tampón Ca^{2+} en las sinapsis. Como consecuencia de ello, las sinapsis se pierden también por esto, y se inicia un proceso de muerte y regresión del axón, que conduce a una axonopatía distal progresiva.

En conclusión, numerosas evidencias sugieren que hay afectación mitocondrial en el curso de la degeneración de las motoneuronas y que la disfunción de las mitocondrias puede participar activamente en la desaparición de estas motoneuronas. La alteración de la producción de energía por parte de las mitocondrias puede tener consecuencias catastróficas, especialmente en neuronas largas que se sustentan en gran medida en el transporte axonal. También puede tener consecuencias en el mal manejo del Ca^{2+} y en la activación de las vías de apoptosis.

3.5. Neuroinflamación

Una reciente hipótesis todavía por confirmar en la etiopatogenia de la ELA es el papel que desempeña la inflamación y otros procesos inmunitarios (Philips T y Robberecht W, 2011).

En algunos modelos experimentales, se ha relacionado la progresión de la ELA con la activación sistémica de los macrófagos, células gliales de la médula espinal y la alteración de los marcadores de superficie de los macrófagos (Zhang R y cols., 2009). En estudios realizados en pacientes con ELA se han detectado elevaciones de los marcadores de inflamación como: interleucina 6 y 13, proteína de quimiotaxis macrofágica (MCP-1),.... Este tipo de quimiocinas encontradas también en el líquido cefalorraquídeo, pueden contribuir a amplificar o iniciar la inflamación de la ELA (Van Dyke JM y cols. 2016).

Además, después de un trasplante de médula ósea los macrófagos del donante se encontraban presentes en los lugares de pérdida neuronal, lo que sugiere una migración continua de estos monocitos en los pacientes con ELA (Appel SH y cols., 2008).

Los marcadores de activación de los macrófagos encontrados en sangre de pacientes con ELA son similares a los encontrados en sangre de pacientes con SIDA-demencia, donde se ha demostrado que los macrófagos invaden el SNC e inducen la neurodegeneración (Turner MR y cols., 2013).

Las neuronas lesionadas, a través de la secreción de sustancias proinflamatorias, pueden activar a los astrocitos que a su vez promueven aun más el daño mitocondrial y la apoptosis en la neurona motora.

3.6. Autoinmunidad

Aunque se ha propuesto la participación de la autoinmunidad como mecanismo etiopatogénico en la ELA, los datos actuales no son concluyentes, pero sí se pueden extraer algunas conclusiones (Pagani MR y cols., 2011):

En primer lugar, al ser pacientes muy heterogéneos los mecanismos autoinmunes encontrados en algunos de ellos no se pueden generalizar a todos los individuos con ELA. Además no está claro si la autoinmunidad está implicada en la patogénesis o simplemente aparecen como un epifenómeno, ya que las terapias inmunosupresoras han fracasado en su intento de suprimir o retrasar la enfermedad. También debe considerarse que los tratamientos utilizados no fueran los apropiados por los múltiples problemas presentados en los pacientes

como la edad, las dificultades alimentarias o la avanzada evolución de la enfermedad que pueden sin duda dificultar la obtención de una respuesta positiva a la terapia. Importante reseñar que si se identifican los primeros eventos en la patogénesis de la ELA los tratamientos podrían ser muy efectivos ya que la terapia actúa a ese nivel porque cuando ya hay clínica, con pérdida de motoneuronas, estos no son capaces de frenar o revertir la enfermedad.

Una de las hipótesis autoinmunes refiere que sólo se han observado anticuerpos IgG, en pacientes con ELA esporádica, no en la familiar, contra uno o más antígenos de la membrana presináptica de las motoneuronas, uniéndose entre ellos y desencadenando un sistema de señalización que provoca un influjo de Ca^{2+} , y activa a los receptores de rianodina e inositol trifosfato (IP3) aumentando los niveles de Ca^{2+} intracelular, modulando de esta forma la transcripción sináptica (Pagani MR y cols., 2006), lo que sugiere que los anticuerpos pueden estar implicados en la patogenia de la enfermedad.

La disregulación de la homeostasis del Ca^{2+} intracelular puede conducir a estrés en el retículo endoplásmico y a disfunción mitocondrial con la consiguiente activación de las vías de apoptosis como la caspasa 3 (Demestre M y cols., 2005), contribuyendo de esta manera a la pérdida selectiva de motoneuronas y la denervación.

Además, la hipótesis autoinmune de que el daño neuronal se inicia en los terminales nerviosos, es consistente con la observación de que la ELA es una patología que afecta primero a los axones distales de las motoneuronas tanto en los ratones SOD1 como en los pacientes con ELA (Fisher LR y cols., 2004).

Todavía se desconocen muchos mecanismos subyacentes a la generación de anticuerpos en esta enfermedad. La identificación de los autoantígenos permitirá desarrollar modelos animales específicos, terapias con dianas moleculares más específicas y pruebas bioquímicas para la detección precoz de la ELA.

3.7. Alteración del metabolismo energético

Los estudios en modelos animales han demostrado de forma convincente que en la ELA toda la energía corporal está deteriorada y que esto contribuye a la degeneración de las neuronas motoras (Turner MR y cols., 2013).

Como la ELA consiste en una pérdida progresiva de neuronas motoras y de masa muscular, se cree que en la patogénesis puede estar implicada además de la disfunción mitocondrial de las neuronas motoras, la del músculo esquelético. La esperanza de vida en

ratones SOD1^{G93A} aumenta con mayores niveles de creatina, vector inmediato y directo para transportar ATP y proveer de energía a las miofibrillas musculares. Por otra parte, los pacientes con ELA presentan un estado de hipermetabolismo, por lo que al estudiar estas alteraciones en la homeostasis energética en relación con la enfermedad, se demostró variaciones importantes en una serie de indicadores metabólicos en ratones con ELA que muestran un déficit metabólico (Figura 13) (Dupuis L y cols., 2004). Por lo que, con una dieta hipercalórica en las fases tempranas de la enfermedad, aumentó la supervivencia media en un 20%. El estado nutricional y el índice de masa corporal son factores pronósticos de la supervivencia en la ELA (Dupuis L y cols., 2004).

El estado funcional del paciente y la concentración de lípidos en suero también se correlacionan positivamente con la supervivencia. En conclusión, el hipermetabolismo principalmente de origen muscular, puede representar un aumento de la vulnerabilidad de las neuronas motoras.

Cabe señalar que el paciente con ELA presenta entre sus primeros síntomas disfagia, como consecuencia de la participación bulbar, lo que afecta a su estado nutricional. La intolerancia a la glucosa observada en estos pacientes y el efecto de dietas específicas de cada región o país también tienen una marcada influencia sobre las concentraciones de lípidos en sangre y el estado nutricional. Alterando todo esto las reservas energéticas de un paciente con ELA y su afectación en las neuronas motoras.

3.8. Afectación multisistémica de la esclerosis lateral amiotrófica

Varios estudios (Pramatarova A y cols., 2001; Clement AM y cols., 2003; Miana-Mena FJ y cols., 2011) han confirmado que la ELA es una enfermedad multisistémica, aunque sea con predisposición neuronal. Ya que si se restringe la mutación SOD1^{G37R} o SOD1^{G93A} o SOD1^{G85R} en ratones a neuronas motoras es insuficiente para desarrollar ELA clínicamente.

La expresión de SOD1^{G93A} exclusivamente en músculo esquelético provoca atrofia muscular severa, disminución de la fuerza, modificación en el aparato contráctil y disfunción mitocondrial, producidos por la acumulación del estrés oxidativo que sirven como moléculas de señalización para iniciar la autofagia causando la degradación intracelular (Dobrowolny G y cols., 2008).

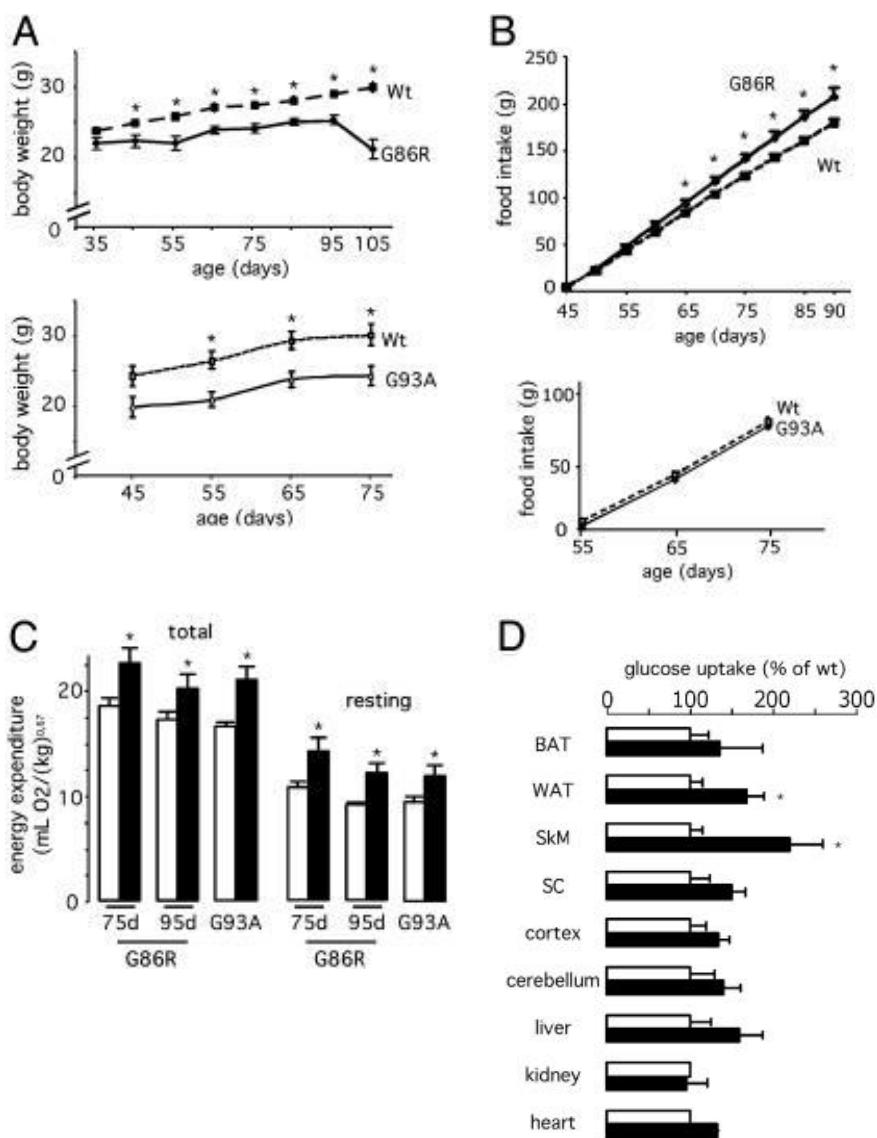


Figura 13. Los ratones SOD1 mutantes exhiben un estado metabólico alterado con aumento de la lipólisis e hipermetabolismo del músculo esquelético. *, $p < 0.05$ (A) Masa corporal de ratones G86R (superior) y G93A (inferior), comparado con los ratones wild type (wt). (B) Efecto de la ingesta de alimentos en los ratones. (C) Gasto de energía total en actividad (izquierda) y en reposo (derecha) en ratones G86R (75 y 95 días de edad) y G93A (75 días de edad). Barras blancas: ratones sanos; barras negras: ratones con la mutación. (D) Captación de glucosa en los tejidos a los 75 días de edad en ratones WT y G86R en presencia del radiomarcador 2-desoxiglucosa. Los tejidos incluyen el tejido adiposo pardo (BAT), el tejido adiposo blanco (WAT), la médula espinal (SC), el músculo esquelético de las extremidades posteriores (SkM), el córtex, el cerebelo, el hígado, el riñón y el corazón. Los datos se expresan como porcentaje en relación con el correspondiente tejido WT, barras blancas. Diferencias significativas sólo en WAT y SkM.

3.9. Modelos de enfermedad

Hasta el momento no se ha logrado ningún modelo experimental ideal de esta enfermedad que reproduzca todas las características patológicas y comportamientos observados en la ELA. Sin embargo, estos modelos sí que han proporcionado una valiosa plataforma para profundizar en el conocimiento de la ELA con el objeto de aumentar la esperanza de desarrollar terapias de gran rendimiento.

3.10. Biomarcadores de la esclerosis lateral amiotrófica

Los fluidos biológicos humanos útiles para identificar un biomarcador en la ELA incluyen: líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre, orina y saliva. El LCR es un excelente biofluido debido a su proximidad a las células que desarrollan muerte celular, mientras que la sangre, aunque es más accesible, tiene concentraciones bajas de estos marcadores.

En la actualidad se utilizan biomarcadores que reflejan pérdida neuronal, siendo el más reproducible los neurofilamentos, y los que indican procesos neuroinflamatorios como el TDP-43 o algunas interleucinas (2, 6, 10, 15 y GM-CSF).

3.10.1. Músculo

El músculo esquelético puede representar una valiosa fuente de biomarcadores en la ELA, ya que es uno de los tejidos más afectados con denervación progresiva y atrofia, y además, es de fácil acceso a la biopsia. El único biomarcador que ha sido probado de forma prospectiva es el axón repelente Nogo-A, con elevadas concentraciones en músculos con ELA antes de la denervación, hallado tanto en pacientes vivos como post-mortem (Dupuis L y cols., 2002). Aunque hay limitaciones para este marcador como la invasividad de la biopsia muscular, su dificultad para realizar estudios longitudinales y las diferencias de afectación entre distintos músculos dependiendo del lugar de inicio de la enfermedad.

Nogo-A puede utilizarse en la práctica clínica para acortar la demora en la introducción de los fármacos neuroprotectores (Pradat PF y cols. 2007). Aunque se está intentando buscar biomarcadores sanguíneos de la afectación muscular como la creatin fosfato quinasa para las miopatías.

3.10.2. Piel

La piel también se afecta con el progreso de la ELA. Una característica de ésta en los pacientes con esta enfermedad es que no desarrollan úlceras por presión incluso en la etapa terminal de la enfermedad (Ono S, 2000). Un descubrimiento adicional fue que las pequeñas fibras nerviosas distales de la epidermis estaban afectadas en la ELA (axonopatía distal), lo que nos indica neuropatía de pequeñas fibras (Weis J y cols., 2011). Todos estos cambios nos pueden ayudar a estudiar el mecanismo de las alteraciones en el citoesqueleto y el transporte axonal en esta enfermedad. Como es un órgano de fácil acceso y hay relación entre los biomarcadores y los hallazgos en el sistema nervioso central, es uno de los principales recursos para el diagnóstico, la estadificación y la evaluación de la terapia que se aplique. El biomarcador más importante es el MMP-9 que se encuentra elevado tanto en la piel como médula espinal y LCR (Fang L y cols., 2009; Fang L y cols., 2010). Además en la piel de los pacientes con ELA hay un aumento de la degradación del colágeno I y IV teniendo como característica una piel como el cuero curtido, sin elasticidad.

4. CONCLUSIONES

Mucho se desconoce de la fisiopatología de la ELA a pesar de los grandes avances que se han producido en las 2 últimas décadas. Respecto a lo encontrado en esta revisión podemos concluir:

Primero, hay un claro papel fisiopatológico en esta enfermedad de la mutación SOD, repercutiendo en: un estrés oxidativo elevado en la neurona, una disminución de la capacidad mitocondrial para amortiguar el Ca^{2+} produciendo excitotoxicidad, la neurotoxicidad según su localización en la motoneurona y la afectación del transporte mitocondrial axonal mediante diferentes mecanismos.

Segundo, los niveles reducidos de la proteína EAAT2 hallados en pacientes con ELA también producen excitotoxicidad neuronal por acúmulo de glutamato en el espacio sináptico.

Tercero, la mutación en los genes TDP43 y FUS/TLS se ha visto que afecta al ARN y al ADN neuronal.

Cuarto, se ha descrito disfunción mitocondrial en la ELA con alteración de la homeostasis del Ca^{2+} , disminución de la respiración mitocondrial y síntesis de ATP, alteración en la expresión de los genes relacionados con las mitocondrias,...produciendo todo esto finalmente la muerte neuronal por degeneración axonal y denervación.

Quinto, la neuroinflamación por medio de macrófagos, astrocitos, interleucinas y otras sustancias proinflamatorias puede favorecer e inducir la neurogeneración.

Sexto, una hipótesis autoinmunitaria en esta enfermedad son los anticuerpos IgG observados contra la membrana presináptica de las motoneuronas.

Y séptimo, la energía corporal deteriorada en los pacientes con ELA contribuye a la degeneración de las motoneuronas.

Está claro que hay una acuciante necesidad en lograr un diagnóstico precoz y una terapia eficaz para interrumpir el curso de la ELA. Un tratamiento eficaz aliviará a los pacientes con esta enfermedad y proporcionará una evidencia más fuerte de los mecanismos implicados en ella, pero este diagnóstico precoz sigue siendo necesario para tratar la ELA tan pronto como sea posible y asegurarnos una recuperación completa de las funciones motoras.

El diagnóstico precoz a través de marcadores biológicos parece ser una tendencia prometedora en la investigación de la ELA, ya que están surgiendo muchos potenciando el diagnóstico, el pronóstico y facilitando así el desarrollo terapéutico. Otro campo de investigación actual es el de la genética en esta enfermedad, ayudándonos así a detectar a los pacientes con mayor riesgo y realizarle un seguimiento para ese diagnóstico precoz tan importante.

5. BIBLIOGRAFÍA

Andrus PK, Fleck TJ, Gurney ME, Hall ED. Protein oxidative damage in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurochemistry*. 1998; 71:2041–48.

Appel SH, Engelhardt JI, Henkel JS, Siklos L, Beers DR, Yen AA, Simpson EP, Luo Y, Carrum G, Heslop HE, Brenner MK, Popat U. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. 2008; 71:1326–34.

Armon C. Smoking may be considered an established risk factor for sporadic ALS. *Neurology*. 2009; 73(20):1693.

Barber SC, Higginbottom A, Mead RJ, Barber S, Shaw PJ. An in vitro screening cascade to identify neuroprotective anti-oxidants in ALS. *Free Radical Biology & Medicine*. 2009; 46:1127–38.

Beckman JS, Carson M, Smith CD, Koppenol WH. ALS, SOD and peroxynitrite. *Nature*. 1993; 364:584.

Berciano Blanco JA. Síndromes espinocerebelosos y enfermedades de la motoneurona. Farreras P, Rozman C. *Medicina Interna* 17^a ed.: Elsevier España. 2012.

Brown RH Jr. Esclerosis lateral amiotrófica y otras enfermedades de la neurona motora. Harrison principios de medicina interna. Volumen 2. 18^a ed. España: McGraw Hill. 2012.

Chan DC. Mitochondrial fusion and fission in mammals. *Annual review of cell and developmental biology*. 2006; 22:79–99.

Clement AM, Nguyen MD, Roberts EA, Garcia ML, Boillée S, Rule M, McMahon AP, Doucette W, Siwek D, Ferrante RJ, Brown RH Jr, Julien JP, Goldstein LS, Cleveland DW. Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science*. 2003; 302(5642):113.

Davenport RJ, Swingler RJ, Chancellor AM, Warlow CP. Avoiding false positive diagnoses of motor neuron disease: lessons from the Scottish Motor Neuron Disease Register. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 1996; 60: 147-51.

Demestre M, Pullen A, Orrell RW, Orth M. ALS-IgG-induced selective motor neurone apoptosis in rat mixed primary spinal cord cultures. *Journal of Neurochemistry*. 2005; 94:268–75.

Dobrowolny G, Aucello M, Rizzuto E, Beccafico S, Mammucari C, Boncompagni S, Belia S, Wannenes F, Nicoletti C, Del Prete Z, Rosenthal N, Molinaro M, Protasi F, Fano G, Sandri M, Musaro A. Skeletal muscle is a primary target of SOD1G93A-mediated toxicity. *Cell Metabolism*. 2008; 8:425–36

Dupuis L, Gonzalez de Aguilar JL, di Scala F, Rene F, de Tapia M, Pradat PF, Lacomblez L, Seihlan D, Prinjha R, Walsh FS, Meininger V, Loeffler JP. Nogo provides a molecular marker for diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Disease*. 2002; 10:358–65.

Dupuis L, Oudart H, Rene F, Gonzalez de Aguilar JL, Loeffler JP. Evidence for defective energy homeostasis in amyotrophic lateral sclerosis: benefit of a high-energy diet in a transgenic mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004; 101:11159–64.

Escorial World Federation of Neurology criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological sciences* 1994; 124 (Suppl.): 96-107.

Fang L, Huber-Abel F, Teuchert M, Hendrich C, Dorst J, Schattauer D, Zettlmeissel H, Wlaschek M, Scharfffetter-Kochanek K, Tumani H, Ludolph AC, Brettschneider J. Linking neuron and skin: matrix metalloproteinases in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Journal of the Neurological Sciences*. 2009; 285:62–6.

Fang L, Teuchert M, Huber-Abel F, Schattauer D, Hendrich C, Dorst J, Zettlmeissel H, Wlaschek M, Scharfffetter-Kochanek K, Kapfer T, Tumani H, Ludolph AC, Brettschneider J. MMP-2 and MMP-9 are elevated in spinal cord and skin in a mouse model of ALS. *Journal of the Neurological sciences*. 2010; 294:51–6.

Fischer LR, Culver DG, Tenant P, Davis AA, Wang M, Castellano-Sanchez A, Khan J, Polak MA, Glass JD. Amyotrophic lateral sclerosis is a distal axonopathy: evidence in mice and man. *Experimental Neurology*. 2004; 185:232–40.

Gould TW, Buss RR, Vinsant S, Prevette D, Sun W, Knudson CM, Milligan CE, Oppenheim RW. Complete dissociation of motor neuron death from motor dysfunction by Bax deletion in a mouse model of ALS. *The Journal of Neuroscience*. 2006; 26:8774–86.

Guo H, Lai L, Butchbach ME, Stockinger MP, Shan X, Bishop GA, Lin CL. Increased expression of the glial glutamate transporter EAAT2 modulates excitotoxicity and delays the onset but not the outcome of ALS in mice. *Human Molecular Genetics*. 2003; 12:2519–32.

Guo X, Macleod GT, Wellington A, Hu F, Panchumarthi S, Schoenfield M, Marin L, Charlton MP, Atwood HL, Zinsmaier KE. The GTPase dMiro is required for axonal transport of mitochondria to Drosophila synapses. *Neuron*. 2005; 47:379–93.

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiología médica*. 11 ed. Barcelona: Elsevier; 2006.

Halliwell BH, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, 1989.

Jordan H, Rechtman L, Wagner L, Kaye WE. Amyotrophic lateral sclerosis surveillance in Baltimore and Philadelphia. *Muscle Nerve*. 2015; 51(6):815-21

Kong J, Xu Z. Massive mitochondrial degeneration in motor neurons triggers the onset of amyotrophic lateral sclerosis in mice expressing a mutant SOD1. *Journal of neuroscience*. 1998; 18(9):3241

Laferrière F, Polymenidou M. Advances and challenges in understanding the multifaceted pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Swiss Medical Weekly*. 2015; 145:w14054.

Ling JP, Pletnikova O, Troncoso JC, Wong PC. TDP-43 repression of nonconserved cryptic exons is compromised in ALS-FTD. *Science*. 2015; 349(6248):650.

Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, Chiò A, Mitchell D, Swingler RJ, Millul A, Benn E, Beghi E, EURALS. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2010; 81(4):385.

Magrane J, Manfredi G. Mitochondrial function, morphology, and axonal transport in amyotrophic lateral sclerosis. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2009; 11:1615–26

Mahoney DJ, Kaczor JJ, Bourgeois J, Yasuda N, Tarnopolsky MA. Oxidative stress and antioxidant enzyme upregulation in SOD1-G93A mouse skeletal muscle. *Muscle & Nerve* 2006; 33:809–16.

Miana-Mena FJ, González-Mingot C, Larrodé P, Muñoz MJ, Oliván S, Fuentes-Broto L, Martínez-Ballarín E, Reiter RJ, Osta R, García JJ. Monitoring systemic oxidative stress in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*. 2011; 258:762-9.

Ono S. The skin in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and other motor neuron disorders*. 2000; 1:191–9.

Orrell RW, Lane RJ, Ross M. A systematic review of anti-oxidant treatment for amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. 2008; 9:195–211.

Pagani MR, Gonzalez LE, Uchitel OD. Autoimmunity in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Past and Present. *Neurology Research International*. 2011; 2011:497080.

Pagani MR, Reisin RC, Uchitel OD. Calcium signaling pathways mediating synaptic potentiation triggered by amyotrophic lateral sclerosis IgG in motor nerve terminals. *Journal of Neuroscience*. 2006; 26:2661–72.

Philips T, Robberecht W. Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease. *The Lancet Neurology*. 2011; 10:253–63.

Pradat PF, Bruneteau G, Gonzalez de Aguilar JL, Dupuis L, Jokic N, Salachas F, Le Forestier N, Echaniz-Laguna A, Dubourg O, Hauw JJ, Tranchant C, Loeffler JP, Meininger V. Muscle Nogo-A expression is a prognostic marker in lower motor neuron syndromes. *Annals of Neurology*. 2007; 62:15–20.

Pramatarova A, Laganiere J, Roussel J, Brisebois K, Rouleau GA. Neuron-specific expression of mutant superoxide dismutase 1 in transgenic mice does not lead to motor impairment. *Journal Neuroscience* 2001; 21:3369–74.

Rizzardini M, Mangolini A, Lupi M, Ubezio P, Bendotti C, Cantoni L. Low levels of ALS-linked Cu/Zn superoxide dismutase increase the production of reactive oxygen species and cause mitochondrial damage and death in motor neuron-like cells. *Journal Neurology Science*. 2005; 232:95–103.

Rothstein JD, Tsai G, Kuncl RW, Clawson L, Cornblath DR, Drachman DB, Pestronk A, Stauch BL, Coyle JT. Abnormal excitatory amino acid metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*. 1990; 28:18–25.

Rothstein JD, van Kammen M, Levey AI, Martin LJ, Kuncl RW. Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*. 1995; 38:73–84

Sasaki S, Iwata M. Mitochondrial alterations in the spinal cord of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of neuropathology and experimental neurology*. 2007; 66:10–16

Takeuchi H, Kobayashi Y, Ishigaki S, Doyu M, Sobue G. Mitochondrial localization of mutant superoxide dismutase 1 triggers caspase-dependent cell death in a cellular model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *The Journal of biological chemistry*. 2002; 277:50966–72.

Turner MR, Bowser R, Bruijn L, Dupuis L, Ludolph A, McGrath M, Fischbeck KH. Mechanisms, models and biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*. 2013; 14, 19–32

Van Dyke JM, Smit-Oistad IM, Macrander C, Krakora D, Meyer MG, Suzuki M. Macrophage-mediated inflammation and glial response in the skeletalmuscle of a rat model of familial amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Experimental Neurology*. 2016; 277:275-82

Vijayvergiya C, Beal MF, Buck J, Manfredi G. Mutant superoxide dismutase 1 forms aggregates in the brain mitochondrial matrix of amyotrophic lateral sclerosis mice. *The journal of Neuroscience*. 2005; 25:2463–70.

Weis J, Katona I, Muller-Newen G, Sommer C, Necula G, Hendrich C, Ludolph AC, Sperfeld AD. Small-fiber neuropathy in patients with ALS. *Neurology*. 2011; 76:2024–9.

Yim HS, Kang JH, Chock PB, Stadtman ER, Yim MB. A familial amyotrophic lateral sclerosis-associated A4V Cu, Zn-superoxide dismutase mutant has a lower Km for hydrogen peroxide: correlation between clinical severity and the Km value. *Journal Biology Chemistry*. 1997; 272:8861–3.

Zhang F, Strom AL, Fukada K, Lee S, Hayward LJ, Zhu H. Interaction between familial ALS-linked SOD1 mutants and the dynein complex: implications of retrograde axonal transport in ALS. *The journal of biological chemistry*. 2007; 282:16691–9.

Zhang R, Miller RG, Gascon R, Champion S, Katz J, Lancero M, Narvaez A, Honrada R, Ruvalcaba D, McGrath MS. Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *Journal of Neuroimmunology*. 2009; 206:121–4.