

## Ratones SOD1G93A: auténticos aliados contra la lucha de la esclerosis lateral amiotrófica

María Flores Gómez<sup>1</sup>, Germán Domínguez Vías<sup>1,2</sup> ✉



<sup>1</sup>Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada (Campus de Ceuta, España).

<sup>2</sup>Área de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz (España)

✉ Autor de correspondencia: germandv@go.ugr.es



UNIVERSIDAD DE GRANADA

### INTRODUCCIÓN

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es la enfermedad neurodegenerativa más letal conocida hasta ahora. La mayor parte de las investigaciones sobre la ELA se ha llevado a cabo mediante el estudio de la mutación génica de la enzima SOD1. Uno de los ratones más empleado en los laboratorios de investigación es el denominado SOD1G93A (figura 1), el modelo más reclutado para el estudio de la ELA de origen familiar. Este animal desarrolla un fenotipo y unas características patológicas similares en humanos que dará una visión de la rápida evolución de la enfermedad en estos animales, convirtiéndolos en un modelo óptimo, o verdaderos ángeles de la guarda, para el estudio en el laboratorio de los mecanismos involucrados en la progresión de la ELA, así como para testar posibles tratamientos terapéuticos antes de ser aplicados en estudios clínicos.

La SOD1 es una enzima abundante y ubicua expresada en el citosol. La SOD1 dismuta o cataliza la conversión del anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), un subproducto natural de la respiración, a peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) o agua. El primer mecanismo patogénico propuesto fue la pérdida o disminución de esta actividad detoxificadora. Aunque sólo un 20% de los casos de ELA familiar se han relacionado con la mutación de la SOD1, la mayoría del conocimiento de la patogénesis de la ELA deriva de estudios de muerte celular iniciada por la proteína SOD1 mutada, ya que dicha mutación daña muchas funciones celulares. La SOD1 mutada afecta negativamente al metabolismo del ADN/ARN; al transporte axonal; a la capacidad tamponadora de Ca<sup>2+</sup> de la mitocondria, así como a su producción de ATP; a las funciones del retículo endoplásmico, del aparato de Golgi y del proteosoma; y produce la activación de cascadas apoptóticas. Estos son mecanismos intrínsecos de la motoneurona (MN) que inducen su muerte, pero la SOD1 mutada también puede activar mecanismos dañinos extrínsecos a la MN.

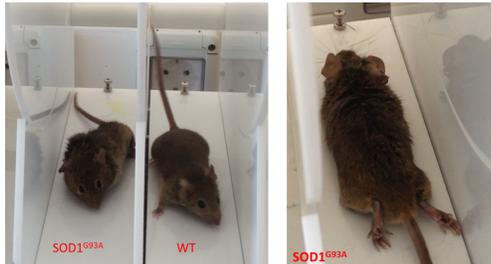


Figura 1. Claras diferencias morfométricas entre ratones SOD1<sup>G93A</sup> y su hermano sano de camada (WT). Aparición de "joroba" (lordosis lumbar) y atrofia de patas traseras en SOD1<sup>G93A</sup>.

### OBJETIVOS

- 1) Mostrar el modelo murino SOD1G93A que se emplea en investigación para desarrollar el fenotipo de la ELA.
- 2) Conocer la evolución de la enfermedad tras la administración de fármacos que buscan ralentizar el avance de la enfermedad.
- 3) Conocer las diferentes pruebas de diagnóstico para evaluar parámetros generales, fuerza muscular y coordinación motora.

### MATERIAL Y METODO

#### El ratón transgénico SOD1<sup>G93A</sup>: un modelo de ELA

El ratón SOD1G93A se reconoce por manifestar las misma sintomatología que en pacientes de ELA, acompañada de la degeneración de las MNs que preceden a la muerte del animal en torno a los 140 días de edad. La rápida evolución de la enfermedad en estos animales los convierte en un modelo óptimo para el estudio en el laboratorio de los mecanismos involucrados en la progresión de la ELA, así como para testar posible tratamientos terapéuticos antes de ser aplicados en estudios clínicos.

Después del nacimiento de estos animales, una prueba de ADN (genotipado) confirmaría la presencia o ausencia de este gen SOD1 mutado. Con la ayuda de un control positivo (C+), la aparición de una banda extra (figura 2) en un gel de agarosa confirmaría que el animal desarrollará la sintomatología de la ELA a partir de los tres meses de edad (figura 3), siendo de utilidad para el desarrollo previo de diseños experimentales.

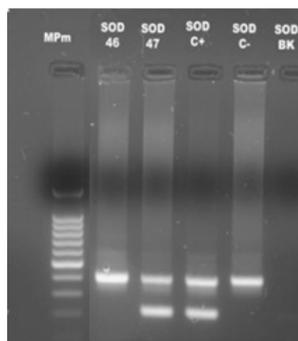


Figura 2. Genotipado de ratones. Ejemplo de gel de agarosa para identificar los animales que expresan el transgén SOD1<sup>G93A</sup>. Obsérvese como el ratón 47 posee una banda inferior al igual que el animal utilizado como control positivo que expresa el transgén humano (SOD C+). En el control negativo (SOD C-), que no porta el transgén, esta banda inferior está ausente.

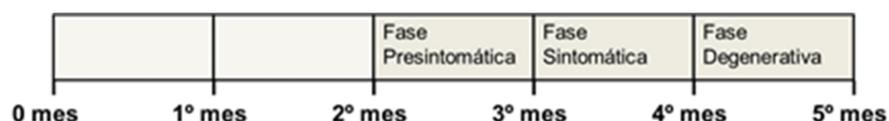


Figura 3. Etapas de la enfermedad en un ratón SOD1G93A. La enfermedad se desarrolla a partir del segundo mes de vida, apareciendo los primeros síntomas serios al tercer mes y alcanzando la fase crítica a partir del cuarto mes.

### RESULTADOS

#### Determinación del peso corporal

El grupo de ratones modelo de ELA, SOD1G93A, presentaron una disminución progresiva de su peso corporal (figura 4), que comienza a ser significativa a partir de la semana 11 de edad (-6,9% ± 0,0%) con respecto a sus controles (sanos o hermanos de camada no transgénicos).



Figura 4. La alteración del metabolismo energético es el argumento que parece tener más relevancia para explicar el inicio y progresión del deterioro de los pacientes y animales modelos de ELA.

#### Prueba de rotarod: capacidad de caminar sobre un cilindro rodante

La prueba de rotarod (figura 5) es la técnica más comúnmente empleada también para determinar el inicio y progreso de la enfermedad en animales SOD1G93A. se utiliza habitualmente para evaluar la coordinación motora general, la fuerza muscular y el equilibrio de los animales. El tiempo de corte del test para cada animal se situó en 180 s. Desde la semana 9 de edad se observó una reducción en el tiempo medio de caída que llegó a ser significativo a partir de la semana 15 de edad.



Figura 5. Prueba de Rotarod. Si el ratón no cae en un tiempo máximo de 180 seg, se le asigna este valor para el cálculo de la media poblacional.

#### Prueba de footprint: patrón motor del animal durante el paseo

Estudiamos parámetros locomotores durante el paseo por un pasillo del animal mediante la prueba de footprint para la longitud del paso y la distancia de separación entre las patas traseras (figura 6). La determinación de este parámetro evaluó el grado de atrofia muscular que presentaban las patas traseras. Las primeras anomalías de medición, de la longitud del paso y la distancia de base de las patas traseras, se detectaron a la semana 17-18 de edad.

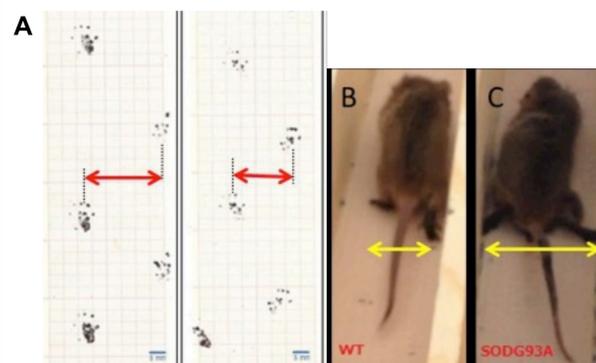


Figura 6. Prueba de footprint. A. Los animales son colocados sobre el inicio de un pasillo de 50 cm largo x 5 cm ancho. Se registran las huellas de las patas traseras, tras marcarlas con tinta de tatuaje, para tener una medida del patrón locomotor. B-C. Diferencias a las 18 semanas de vida entre un ratón no transgénico (wt) (B) y su hermano transgénico SOD1G93A (C) con síntomas evidentes de la enfermedad.

### DISCUSIÓN-CONCLUSIÓN

La ELA es una enfermedad neurodegenerativa considerada "rara", siendo la enfermedad de la MN más común. Estos resultados muestran diferencias en la sensibilidad de las diferentes pruebas realizadas en la detección del deterioro motor precoz en ratones modelo de ELA SOD1G93A. En base a los datos obtenidos, podemos afirmar que las pruebas de rotarod y footprint son las más apropiadas para detectar el inicio de los síntomas en este modelo animal. Sin embargo, para monitorizar la progresión de la enfermedad, el estudio del peso corporal es de bastante utilidad como medida adicional.

La rápida evolución de la enfermedad en estos animales los convierte en un modelo óptimo para el estudio en el laboratorio de los mecanismos involucrados en la progresión de la ELA, así como para testar posibles tratamientos terapéuticos antes de ser aplicados en estudios clínicos.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecer al laboratorio del Dr. Bernardo Moreno-López (grupo GRUDENERE de la Universidad de Cádiz), por la posibilidad de realizar este estudio dentro de su grupo y bajo su financiación: MICINN (SAF2008-01415), CICE (PAI05-CTS-0844; PAI07-CTS-02606) y Fundación Mútua Madrileña.

#### Organizan

DESQBRE FUNDACION

CSIC

UNIVERSIDAD DE GRANADA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

UNIVERSIDAD DE HUELVA

UNIVERSIDAD DE JAÉN

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

INCEMA Real Jardín Botánico de Córdoba

JUNTA DE ANDALUCÍA

Fundación Progreso y Salud

CONSEJERÍA DE SALUD

#### Financian

JUNTA DE ANDALUCÍA  
CONSEJERÍA DE ECONOMÍA Y CONOCIMIENTO

European Researchers' Night ESPAÑA

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ