



# Búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)

**Paula Peral Martínez**

Máster en Bioinformática y Bioestadística

Área 1.Subárea 4: Descubrimiento de fármacos asistido por computador (CADD)

**Director: Melchor Sánchez Martínez**

**Javier Luis Cánovas Izquierdo**

Enero de 2020



Esta obra está sujeta a una licencia de Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada [3.0 España de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/)

## FICHA DEL TRABAJO FINAL

<b>Título del trabajo:</b>	<i>Búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)</i>
<b>Nombre del autor:</b>	<i>Paula Peral Martínez</i>
<b>Nombre del consultor/a:</b>	<i>Miguel Romero Cuevas</i>
<b>Nombre del PRA:</b>	<i>Javier Luis Cánovas Izquierdo</i>
<b>Fecha de entrega (mm/aaaa):</b>	01/2020
<b>Titulación::</b>	Máster en Bioinformática y Bioestadística
<b>Área del Trabajo Final:</b>	<i>Área 1.Subárea 4: Descubrimiento de fármacos asistido por computador (CADD)</i>
<b>Idioma del trabajo:</b>	<i>Castellano</i>
<b>Palabras clave</b>	<i>Amyotrophic Lateral Sclerosis, therapeutic targets</i>

**Resumen del Trabajo (máximo 250 palabras):** *Con la finalidad, contexto de aplicación, metodología, resultados i conclusiones del trabajo.*

La esclerosis lateral amiotrófica, ELA, es una enfermedad neurodegenerativa que implica la pérdida del control muscular. En consecuencia, se ven afectadas la movilidad de las extremidades y, a medida que avanza la enfermedad, las capacidades para comer, respirar y comunicarse. Esta enfermedad tiene una baja prevalencia por su alta mortalidad y tiene una mayor incidencia entre los 40 y los 70 años. Se ha elegido esta enfermedad como temática debido al desconocimiento general y por su alta morbi-mortalidad.

Para tratar esta enfermedad se requiere un equipo integrado de médicos y se utilizan diversas terapias, aunque solo sirven para retrasar la sintomatología y prevenir las complicaciones. El trabajo se centrará en las terapias farmacológicas ya que ayudan a paliar muchos de los síntomas y aumentan la esperanza de vida de los pacientes.

El objetivo de este trabajo es buscar nuevas dianas terapéuticas mediante herramientas computacionales. De esta forma se podrían abrir nuevas líneas de investigación y quizás se pueda encontrar una terapia que implique una mejora en el tratamiento de la ELA.

**Abstract (in English, 250 words or less):**

Amyotrophic lateral sclerosis, ALS, is a neurodegenerative disease which involves loss of muscle control. As a result , limb mobility and, as the disease progresses, the ability to eat, breathe and communicate are affected. This disease has a low prevalence due to its high mortality and has a higher

incidence between the ages of 40 and 70. This disease has been chosen as the subject because of general ignorance and its high morbidity.

An integrated team of doctors and various therapies are used to treat this disease, although they only serve to delay symptomatology and prevent complications. Work will focus on drug therapies as they help alleviate many of the symptoms and increase and increase the life expectancy of patients.

The objective of this work is to find new therapeutic targets using computational tools. This could open up new lines of research and perhaps can be found a therapy which involves an improvement in the treatment of ALS.

# Índice

1. Introducción.....	1
1.1 Contexto y justificación del Trabajo.....	1
1.2 Objetivos del Trabajo.....	3
1.3 Enfoque y método seguido.....	3
1.4 Planificación del Trabajo.....	4
1.5 Breve resumen de productos obtenidos.....	5
1.6 Breve descripción de los otros capítulos de la memoria.....	5
2. Metodología.....	<b>¡Error! Marcador no definido</b> 6
2.1 Búsqueda bibliográfica.....	6
2.2 Bases de datos.....	6
2.3 Integración de los datos.....	7
2.4 Selección de los nodos centrales.....	7
2.5 Validación de los genes seleccionados.....	7
2.6 Test de viabilidad de las dianas terapéuticas.....	7
2.7 Búsqueda de moléculas que podrían interactuar con las dianas.....	8
3. Resultados.....	8
3.1 Búsqueda bibliográfica.....	8
Diagnóstico de la ELA.....	9
Tratamiento de la ELA.....	11
3.2 Bases de datos.....	11
MalaCards.....	11
OMIM.....	13
Harmonizome.....	15
3.3 Integración de los datos.....	16
Análisis.....	16
Integración en GeneMANIA.....	17
3.4 Selección de nodos centrales.....	22
3.5 validación de los genes.....	23
3.6 Test de viabilidad de las dianas terapéuticas.....	24
4. Conclusiones.....	37
5. Bibliografía.....	38

## Lista de figuras

Figura 1. Diagrama de Gantt.....	5
Figura 2. Página de inicio de MalaCards .....	11
Figura 3. Entradas de ELA en MalaCards.....	12
Figura 4. Ficha de ELA tipo 1 en MalaCards.....	12
Figura 5. Listado de genes relacionados con ELA en MalaCards .....	13
Figura 6. Página de inicio de OMIM .....	14
Figura 7. Ficha de la ELA tipo 1 en OMIM .....	14
Figura 8. Series fenotípicas de la ELA en OMIM.....	15
Figura 9. Página de inicio de Harmonizome.....	15
Figura 10. Entradas relacionadas con la ELA en Harmonizome .....	16
Figura 11. Listado de genes relacionados con la ELA en Harmonizome.....	16
Figura 12. Página de inicio de GeneMANIA.....	18
Figura 13. Red biológica de los genes relacionados con el estrés oxidativo, generada mediante GeneMANIA .....	19
Figura 14. Red biológica de los genes relacionados con altas concentraciones de glutamato, generada mediante GeneMANIA.....	20
Figura 15. Red biológica de los genes relacionados con la neuroinflamación, generada mediante GeneMANIA.....	20
Figura 16. Red biológica de los genes relacionados con la acumulación de proteínas, generada mediante GeneMANIA .....	21
Figura 17. Red biológica de los genes relacionados con la sinapsis, generada mediante GeneMANIA .....	22
Figura 18. Página de inicio de DrugBank.....	23
Figura 19. Ficha de un gen en DrugBank.....	24
Figura 20. Página de inicio de DrugEBllity .....	25
Figura 21. Resultado de “drugabilidad” para DAO con DrugEBllity .....	26

Figura 22. Ficha del dominio 4252438 en DrugEBllity.....	26
Figura 23. Información de los sitios de unión del dominio en DrugEBllity.....	26
Figura 24. Visualización de los 4 sitios de unión mediante so.....	27
Figura 25. Resultado de “drugabilidad” para CASP1 mediante DrugEBllity.....	28
Figura 26. Ficha del dominio 4180578 en DrugEBllity.....	28
Figura 27. Información de los sitios de unión del dominio en DrugEBllity.....	28
Figura 28. Visualización de los 4 sitios de unión mediante so.....	29
Figura 29. Dimensiones y posición de la Grid en el dominio de DAO.....	30
Figura 30. Dimensiones y posición de la Grid en el dominio de CASP1.....	31
Figura 31. Página de inicio de MTIOpenScreen.....	31
Figura 32. Desactivación del modo demostración en MTIOpenScreen.....	32
Figura 33. Selección de la colección de compuestos que se utilizará en el Virtual Screening .....	32
Figura 34. Introducción del receptor en MTIOpenScreen.....	32
Figura 35. Introducción de los parámetros de la Grid calculados con Autodocktools ..	32
Figura 36. Listado de modelos de unión del dominio de DAO.....	33
Figura 37. Unión del Flumatinib al sitio 1 del dominio de DAO.....	33
Figura 38. Introducción del receptor en MTIOpenScreen.....	34
Figura 39. Introducción de los parámetros de la Grid calculados con Autodocktools ..	34
Figura 40. Listado de modelos de unión del dominio de CASP1.....	34
Figura 41. Unión de Palepiredona con el sitio 1 del dominio de CASP1.....	35





# 1. Introducción

## 1.1 Contexto y justificación del Trabajo

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la muerte progresiva de las motoneuronas del cerebro y de la medula espinal, esto conduce a una pérdida del control muscular. Los primeros síntomas de esta enfermedad afectan a la movilidad de las extremidades pero a medida que la enfermedad progresa, esta se extiende a otras partes del cuerpo. En los estados más avanzados de la ELA ya se ven afectadas las capacidades para comunicarse, comer y respirar [11], hasta que finalmente la persona muere.

La ELA puede manifestarse a cualquier edad, aunque con una mayor incidencia entre los 40 y 70 años. Los hombres tienen más probabilidades de padecerla antes de los 65 años; a partir de esta edad, mujeres y hombres tienen la misma probabilidad indistintamente [11]. La ELA afecta entre el 0,002% y el 0,003% de la población mundial [21], en España hay 4000 afectados [8]. La prevalencia es mucho menor que en otras enfermedades debido a su alta mortalidad. La vida media de un afectado es de entre 3 y 5 años, únicamente el 10% sobrevive a los 10 años [11].

Las causas de esta enfermedad son aún desconocidas pero se sabe que el 5-10% de los casos se deben a causas hereditarias. Para el resto de casos aún se están investigando posibles causas, algunas de ellas son niveles elevados de glutamato, una respuesta autoinmune, la acumulación de formas anómalas de proteínas... [11]

Al no conocerse las causas de la ELA es muy difícil su diagnóstico y en la búsqueda de una cura, por lo que los tratamientos actuales sirven únicamente para retrasar el avance de los síntomas, prevenir complicaciones y hacer que el paciente se sienta más cómodo e independiente. En la mayoría de casos se necesita un equipo integrado de médicos capacitados en varias áreas y otros profesionales del cuidado de la salud que ayudan a escoger las terapias y los tratamientos más adecuados.

Tabla 1. Terapéutica actual de la ELA

Terapia	Objetivo	Tratamiento
Atención respiratoria	Observar la <b>evolución de la respiración</b> del paciente para escoger en cada el tratamiento adecuado	<b>Dispositivos auxiliares</b> que ayuden a la respiración o la <b>traqueotomía</b> en un estado muy avanzado
Fisioterapia	<b>Ralentizar la pérdida de musculatura</b> , ayudar a tener el <b>mínimo dolor</b> , <b>facilitar la movilidad...</b>	<b>Ejercicios musculares</b> activos y pasivos y <b>dispositivos auxiliares</b> que ayuden a la movilidad y traslado del paciente
Terapia Ocupacional	<b>Facilitar la vida diaria</b> del paciente <b>y mantenerlo activo</b> en la medida posible	<b>Equipos de adaptación</b> que ayudan a llevar a cabo actividades diarias, <b>modificación del hogar</b> para mayor accesibilidad y <b>dispositivos tecnológicos</b>

<b>Terapia del habla</b>	<b>Mejorar</b> , en la medida de lo posible, <b>la comunicación verbal</b> del paciente	<b>Logopeda y equipos auxiliares</b> (tecnológicos y no tecnológicos) que ayudan a la comunicación en un estado bastante avanzado
<b>Apoyo nutricional</b>	Garantizar el máximo <b>aporte de nutrientes</b> para evitar pérdida de peso	Inicialmente facilitan la deglución con <b>alimentos suaves y triturados</b> y en estados más avanzados se nutre al paciente mediante una <b>sonda o PEG</b> .
<b>Apoyo psicológico y social</b>	Ayudar a recibir <b>ayudas económicas y apoyo emocional</b> al paciente y sus familiares	<b>Psicólogo, servicios sociales y apoyo de paliativos</b>
<b>Farmacológico</b>	Ayudar a <b>paliar los síntomas</b>	<b>Medicamentos:</b> Riluzol, Edaravone y Masitinib

Tabla 2. Farmacoterapia de la ELA

<b>Medicamento</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Diana terapéutica</b>
<b>Riluzol</b>	<b>Reducir</b> los elevados niveles de <b>glutamato</b> en el cerebro	<b>Glutamato</b> y canales de Na dependientes de voltaje
<b>Edaravone</b>	<b>Disminuir el estrés oxidativo</b>	<b>Radicales libres</b>
<b>Masitinib</b>	Objetivo Principal: <b>inhibir la proliferación de células gliales</b> , incluyendo los fenotipos que inducen la muerte de motoneuronas. Objetivo Secundario: <b>modular la actividad de los mastocitos</b> inhibiendo rutas de señalización	Receptor CSF-1R de las <b>células gliales</b> y las rutas de señalización de c-kit/SCF y LYN/FYN de los <b>mastocitos</b>

Aunque el tratamiento de esta enfermedad engloba muchas áreas de actuación terapéutica como las fisiológicas, psicológicas etc., este trabajo se centrará únicamente en las terapias farmacológicas y en la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas, ya que estas han demostrado su utilidad en paliar algunos de los síntomas de la ELA y mejorar las condiciones de vida de los pacientes. Por ejemplo, el Riluzol aumenta la esperanza de vida de 2 a 3 meses y retrasa la dependencia de tratamientos como la ventilación no invasiva o la traqueotomía [24]. El Edaravone, reduce la progresión de la ELA en pacientes con un estado temprano de la enfermedad [17]. Por último, se sabe que el Masitinib aumenta la esperanza de vida de los pacientes algunos meses y modera la progresión de la parálisis [25]. Otro aspecto interesante de Masitinib es que sugiere que podría haber una alternativa neuroprotectora a la neuroinflamación, una de las posibles causas de la ELA, pero se debe investigar más.

Como se ha indicado, las terapias farmacológicas de esta enfermedad solo son paliativas y pueden aumentar la esperanza de vida de los pacientes algunos meses y retrasar la necesidad de dispositivos auxiliares. Por lo que es necesario desarrollar nuevas terapias que puedan suponer una mejora de las actuales.

La búsqueda de nuevos fármacos es un proceso complejo, que implica el concurso de varias disciplinas científicas en las distintas etapas del mismo, desde la búsqueda de nuevas dianas biológicas, comprobar su viabilidad, la búsqueda de fármacos que actúen contra estas, la validación de estos fármacos y ciclos iterativos de diseño y mejora.

En este sentido, la mejora de la tecnología ha permitido la incorporación a laboratorios de investigación y empresas farmacéuticas de técnicas computacionales como elementos de ayuda para el diseño de nuevos medicamentos. De esta manera surge el Descubrimiento de Fármacos Asistido por Computador (CADD), en la que se utiliza distintos métodos bioinformáticos para el descubrimiento de fármacos contra distintas enfermedades, reduciendo de esta manera el coste y el tiempo de desarrollo.

En este trabajo, se utilizarán herramientas y métodos computacionales para buscar nuevas dianas biológicas, validarlas y proponerlas como posibles dianas terapéuticas para la ELA.

## 1.2 Objetivos del Trabajo

El objetivo principal de este trabajo es buscar mediante técnicas bioinformáticas nuevas dianas terapéuticas contra la ELA que puedan servir como base de investigación para el desarrollo de nuevos fármacos que permitan mejorar el tratamiento de la enfermedad.

Para ello, se propone los siguientes objetivos específicos:

1. Análisis terapéutico de la ELA.
2. Búsqueda de dianas terapéuticas en distintas bases de datos.
3. Integración de los datos obtenidos.
4. Priorización y selección de las dianas candidatas.
5. Validación (druggability) de las dianas encontradas y propuesta final.

## 1.3 Enfoque y método seguido

Para realizar este trabajo se utilizará la información disponible en bases de datos de enfermedades, de proteínas y de vías metabólicas. Actualmente se generan grandes cantidades de información y uno de los principales retos hoy en día es analizar e integrar esta información para extraer conocimiento útil.

En este trabajo se recupera información relacionada con la ELA de las bases de datos, esta información se integra y se crean redes de interacción mediante un servicio web y se escogen los nodos (genes) centrales de las redes biológicas generadas.

A continuación, se extrae la secuencia de las proteínas codificadas en los genes escogidos y se comprueba su capacidad para ser tratables o “druggables” y si pueden ser candidatas a fármacos.

## 1.4 Planificación del Trabajo

El trabajo se ha realizado en diferentes fases, una primera fase en la que se ha definido y planificado el trabajo, una segunda de desarrollo del trabajo y una última de cierre de memoria y presentación.

En la primera fase se definieron los contenidos, estableciendo la temática y los objetivos, y el plan de trabajo.

La fase de desarrollo se ha realizado en dos partes. En la primera parte se realizó una búsqueda de información sobre la esclerosis lateral amiotrófica y una búsqueda en bases de datos para identificar los genes que tienen una mayor relación con la ELA.

- Búsqueda bibliográfica de artículos científicos sobre la esclerosis lateral amiotrófica, su sintomatología y los tratamientos actuales.
- Búsqueda en bases de datos como:
  - MalaCards: Human Disease Database
  - OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man
  - The harmonizome: a collection of processed datasets gathered to serve and mine knowledge about genes and proteins

En la segunda parte del desarrollo se realizó la integración de la información de los genes obtenida en la primera parte, clasificando los genes según su área de acción y comparando los resultados obtenidos en las distintas bases de datos. A continuación, se introdujo la información en GeneMANIA para generar redes biológicas y seleccionar sus nodos centrales. Finalmente, se estudió su viabilidad como fármaco para la ELA.

- Integración de la información de los genes
- Selección de los nodos centrales de las redes biológicas
- Validación de las dianas seleccionadas en Drugbank
- Test de viabilidad de las dianas identificadas con DrugEBllity

En la última fase del trabajo se ha redactado la memoria y se ha preparado la presentación.

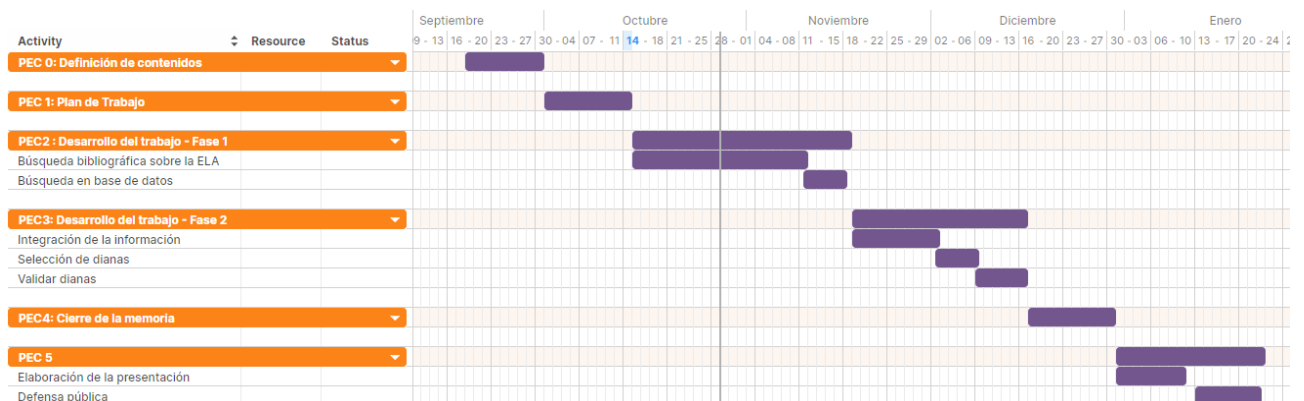


Figura 1. Diagrama de Gantt.

### 1.5 Breve resumen de productos obtenidos

1. Se ha propuesto una lista de genes que podrían servir como dianas terapéuticas contra la ELA. Este listado se presenta en un archivo adjunto en una hoja de una hoja de cálculo.
2. Se han seleccionado y presentan dos genes que eran nodos centrales en las redes biológicas y sus dominios para moléculas pequeñas (ligandos) que podrían ser candidatos a fármacos, ninguno de los genes y dominios estaba definido como diana para la ELA. De este producto se presenta sus secuencias dentro de esta memoria.
3. Se presenta un listado de ligandos (candidatos a fármacos) con capacidad de unirse a los genes candidatos. Se presentan listas de candidatos obtenidas de "Virtual Screening Virtual" como dos archivos de hojas de cálculo.

### 1.6 Breve descripción de los otros capítulos de la memoria

La memoria de este trabajo está compuesta por:

- Introducción: se presenta la temática del trabajo, los objetivos que me he propuesto, el plan de trabajo que he seguido y un resumen de los resultados obtenidos.
- Metodología: se definen las herramientas que he usado durante el transcurso del proyecto.
- Resultados: se muestran los resultados obtenidos.
- Conclusiones: se recopilan las principales ideas expuestas y se expone todo lo obtenido en el trabajo.

## 2. Metodología

### 2.1 Búsqueda bibliográfica

La búsqueda bibliográfica de información sobre la ELA se ha realizado mediante bases de datos como PubMed y Google Scholar. La finalidad de la búsqueda fue conocer la enfermedad, centrandola misma en sus posibles causas, su sintomatología y las diversas terapias.

PubMed es un motor de búsqueda que comprende más de 30 millones de citas de literatura biomédica de MEDLINE, revistas de ciencias de la vida y libros electrónicos. Las citas pueden incluir enlaces al texto completo y a la web de la editorial. El enlace para entrar en PubMed es <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. Para realizar la búsqueda de la ELA se introdujeron las siglas de la enfermedad (ALS) y se especificó que los textos estuvieran disponibles de forma completa y gratuita y que la fecha de publicación no superara los 10 años [20].

Google Scholar es el buscador de Google especializado en literatura científica o académica, se basa en información de editoriales de revistas, repositorios universitarios y webs académicas. El enlace para entrar en Google Scholar es <https://scholar.google.com/>. Para realizar la búsqueda con Google Scholar se introdujeron las siglas de la enfermedad en el buscador y después se especificó que mostrará los textos publicados desde 2010 mediante un intervalo. [14].

### 2.2 Bases de datos

Como ya se ha comentado, el siguiente paso fue buscar en bases de datos genómicas los genes con una mayor relación con la ELA. Las bases de datos utilizadas fueron las siguientes:

- MalaCards: es una base de datos integrada de enfermedades humanas y sus anotaciones, basada en la arquitectura de la base de datos GeneCards de genes humanos, que utiliza 75 fuentes de datos. MalaCards se organiza en “tarjetas de enfermedades” que integran la información y los alias de cada enfermedad, anotaciones, conexiones entre enfermedades... [10].
- OMIM: es un compendio completo y autorizado de genes humanos y fenotipos genéticos que está disponible y actualizado diariamente. Los resúmenes de textos completos referenciados en OMIM contienen información sobre todos los trastornos mendelianos conocidos y más de 15.000 genes. Esta base de datos se centra en la relación entre fenotipo y genotipo [18].
- Harmonizome: es una base de datos que recopila información sobre genes y proteínas a partir de 114 conjuntos de datos proporcionados por 66 recursos en línea. Para crear esta base de datos se filtró la

información de varios conjuntos de datos en tablas de atributos que definen asociaciones entre genes y atributos (genes, proteínas, enfermedades...). A partir de las tablas se pueden calcular redes de similitud gen-gen y atributo-atributo, integrando esta información se pueden realizar muchos tipos de análisis computacionales [22].

### 2.3 Integración de los datos

En esta parte del trabajo se definieron 5 áreas de acción correspondientes a las causas más probables de la ELA. Los genes se clasificaron en estas áreas de acción según la información obtenida de las bases de datos.

Para integrar los datos se utilizó GeneMANIA, un servicio web que permite generar hipótesis sobre la función de genes, analizar listas de genes y priorizar genes para ensayos funcionales [9]. Con este programa se pueden identificar los genes más relacionados con un conjunto de genes de consulta [7].

Para integrar los datos se han seguido los siguientes pasos:

1. Unir los genes según su área de acción
2. Generar la red biológica mediante GeneMANIA

### 2.4 Selección de los nodos centrales

Como nodos centrales se seleccionaron los genes con más interacciones y mejores scores en las bases de datos genómicas.

### 2.5 Validación de los genes seleccionados

Una vez seleccionados los genes, se realiza la búsqueda de estos genes en la base de datos DrugBank para:

1. Comprobar si el gen está identificado como diana terapéutica para la ELA
2. Comprobar si hay algún fármaco asociado al gen

DrugBank es una base de datos que contiene información sobre medicamentos y sus objetivos. La base de datos contiene 6711 entradas de medicamentos enlazadas a 4227 proteínas. Cada entrada tiene 150 campos de datos, la mitad correspondientes a información química o de medicamentos y la otra mitad relativa a datos de proteínas o dianas farmacológicas [5].

### 2.6 Test de viabilidad de las dianas terapéuticas

Para realizar el test de viabilidad se utilizó DrugEblity del European Bioinformatics Institute (EBI), un buscador de “druggability” basado en la estructura molecular [6]. Esta herramienta muestra los dominios de los genes que podrían interactuar con un posible futuro fármaco. De esta lista de dominios, se escogió el dominio con una mejor puntuación y que era “tractable” y “druggable”.

## 2.7 Búsqueda de moléculas que podrían interactuar con las dianas

Finalmente, se buscaron las moléculas que podrían interactuar con los dominios seleccionados, que podrían ser candidatos a fármacos. Para ello, se comprobó que la estructura 3D del dominio obtenido mediante la herramienta DrugEBllity se encontraba en la Protein Data Bank (PDB).

La Protein Data Bank es un repositorio de información sobre las estructuras 3D de grandes moléculas como proteínas y ácidos nucleicos. Comprender la estructura de una molécula permite deducir su papel en la salud y la enfermedad humana, y en el desarrollo de fármacos [19].

Además, se utilizó Autodocktools para calcular las dimensiones de la Grid y las coordenadas de su centro. Autodocktools es la GUI para Autodock que se puede utilizar para ver moléculas en 3D, rotarlas y escalarlas en tiempo real... [1].

Mediante el archivo pdb de los dominios seleccionados y los parámetros de la Grid calculados con Autodocktools se realizó el screening virtual en MTIOpenScreen. Esta herramienta facilita la identificación de nuevos compuestos bioactivos para el descubrimiento de fármacos y para fines de biología química.

## 3. Resultados

### 3.1 Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica para conocer más a fondo esta enfermedad y los tratamientos actuales.

#### Diagnóstico de la ELA

Como se ha comentado anteriormente, es muy difícil detectar esta enfermedad y esto se debe a que no hay ninguna prueba que ofrezca un diagnóstico definitivo. Su diagnóstico se basa en el estudio de la historia clínica y de los signos y síntomas observados por un médico durante un examen físico, junto a otras pruebas que sirven para descartar enfermedades con las que puede confundirse [16].

Las pruebas que se realizan para descartar otras enfermedades como infecciones o trastornos neurológicos son [11, 16]:

- Electromiografía (EMG), una técnica que registra la actividad eléctrica de las fibras musculares cuando se contraen y cuando están en reposo. Para realizar esta técnica se inserta un electrodo de aguja, a través de la piel, en varios músculos. Las anomalías en los músculos que se observan en este análisis ayudan a diagnosticar o descartar la ELA.
- Conducción nerviosa, una técnica que mide la actividad eléctrica de los nervios y los músculos evaluando la capacidad de los nervios para enviar impulsos a los músculos en distintas áreas del cuerpo. Esta prueba determina si hay daño en los nervios o si el paciente padece ciertas enfermedades musculares o nerviosas.
- Resonancia Magnética (RM), un procedimiento no invasivo que utiliza un campo magnético y ondas de radio para producir imágenes del cerebro y de la



medula espinal. Las RM estándar son normales en personas con ELA pero pueden revelar otros problemas que causen los mismos síntomas.

- Punción lumbar (Punción medular), para realizar esta prueba se utiliza una pequeña aguja que se inserta entre dos vértebras en la parte baja de la espalda, la muestra de líquido cefalorraquídeo que se extrae sirve para realizar pruebas de laboratorio.
- Biopsia muscular: si el médico cree que el paciente puede tener una enfermedad muscular y no ELA, puede realizar esta prueba para extraer una pequeña porción de músculo y analizarla en el laboratorio.
- Análisis de muestra de sangre y orina para descartar otras enfermedades.

### Tratamiento de la ELA

Los tratamientos que existen actualmente simplemente ayudan a controlar los síntomas, prevenir complicaciones y facilitar la vida a los enfermos. Por este motivo, el mejor cuidado que se les puede dar a los enfermos de ELA se consigue a través de equipos multidisciplinarios de profesionales de la salud como médicos, farmacéuticos, terapeutas físicos, ocupacionales y del lenguaje... Estos equipos diseñan un plan de tratamiento individualizado y ofrecen equipo especial para mantener a las personas tan móviles, cómodas e independientes como sea posible [11, 16].

- Medicamentos contra la ELA

La FDA solo ha aprobado dos medicamentos para tratar la ELA, Riluzole y Edaravone.

- Riluzole: se cree que este medicamento reduce el daño a las motoneuronas disminuyendo la concentración de glutamato y se administra por vía oral. El Riluzole puede prolongar la supervivencia de los enfermos de ELA entre 3 y 6 meses, especialmente en la forma bulbar de la enfermedad, aunque no revierte el daño ya causado a las motoneuronas. Puede causar efectos secundarios como mareos, afecciones gastrointestinales y cambios en la función hepática. Mientras el paciente toma este medicamento, el médico debe controlar los recuentos sanguíneos y las funciones del hígado [11, 16, 24].
- Edaravone: se ha demostrado que este medicamento desacelera el declive de las funciones cotidianas, aunque se desconoce su efecto sobre la duración de la vida. Esta desaceleración puede deberse a una disminución del estrés oxidativo. Se administra por infusión intravenosa diariamente durante 2 semanas al mes. Sus efectos secundarios son moretones, dolor de cabeza y dificultad para respirar [11, 16, 17].

Existe otro medicamento, Masitinib, pero aún no se ha aprobado. Este medicamento es un inhibidor de la tirosina-quinasa que previene la neuroinflamación y que actualmente se utiliza para tratar tumores de mastocitos en animales. Aunque se cree que puede ayudar en el tratamiento contra la ELA porque es posible que pueda inhibir la proliferación de las células gliales [25].

Los médicos también pueden recetar otros medicamentos para aliviar síntomas como calambres y espasmos musculares, estreñimiento, fatiga... [11, 16]

- Terapias para mejorar las condiciones de vida de los enfermos de ELA [11, 16]
  - Terapia física: este tipo de terapias tratan el dolor, la marcha, la movilidad y los aparatos ortopédicos que pueden aumentar la independencia y la seguridad de la persona durante la enfermedad. El ejercicio aeróbico como nadar y caminar puede ayudar a fortalecer los músculos no afectados, mejorar la salud cardiovascular y ayudar a combatir la fatiga y la depresión. Los ejercicios para mejorar la amplitud de movimiento y los ejercicios de estiramiento ayudan a prevenir la espasticidad y la contractura de los músculos.

Los profesionales de la salud que se encargan de las terapias físicas son los fisioterapeutas que pueden recomendar ejercicios y los terapeutas ocupacionales que pueden sugerir andadores o sillas de ruedas o ayudar a acondicionar la casa para mejorar la accesibilidad .

- Terapia del lenguaje: los terapeutas pueden enseñar técnicas de adaptación para mejorar la comunicación o sugerir otros métodos de comunicación como un tablero del alfabeto o lápiz y papel.

Los terapeutas también pueden recomendar ordenadores con sintetizadores de lenguaje con tecnología de rastreo ocular o aplicaciones de texto a voz. En el caso de los sintetizadores, los pacientes pueden optar por bancos de voz si aún pueden hablar, para grabar su voz para su futuro uso en los sintetizadores.

- Apoyo nutricional: es una parte muy importante del cuidado de los pacientes porque estos se debilitan si pierden peso. Los nutricionistas pueden enseñar como planear y preparar comidas pequeñas que proporcionen suficientes calorías, fibra y líquido y como evitar alimentos difíciles de tragar. Pero cuando los pacientes no pueden obtener suficiente nutrición de la comida, el médico puede recomendar el uso de una sonda de alimentación en el estómago. Esta sonda reduce el riesgo de asfixia y neumonía que pueden producirse al inhalar líquidos dentro de los pulmones. Otro método, para prevenir la asfixia, es un dispositivo succionador que retira el exceso de líquido o saliva.
- Apoyo para respirar: es muy importante para el tratamiento de la ELA porque a medida que se debilitan los músculos implicados en la respiración, las personas pueden sentir falta de aliento durante la actividad física o dificultad para respirar al dormir. Los médicos deben evaluar la respiración de los pacientes para determinar cuándo recomendar la ventilación no invasiva (VNI) porque mejora la calidad de vida y prolonga la supervivencia. La VNI es una máquina que cubre la nariz o la boca para dar apoyo a la respiración. Al principio, esta máquina solo se utiliza durante la noche pero puede llegar a usarse todo el tiempo si los músculos no pueden mantener las concentraciones normales de oxígeno y dióxido de carbono.

Los enfermos de ELA también tienen problemas para toser fuerte, para mejorar este problema se pueden usar dispositivos mecánicos o la técnica "breath stacking". Esta técnica se basa en realizar pequeñas inhalaciones hasta llenar los pulmones, sostener la respiración durante un breve tiempo y expulsar el aire tosiendo.

A medida que avanza la enfermedad y los músculos se debilitan más, puede ser necesario considerar la ventilación mecánica (respiradores) que infla y desinfla los pulmones. También es posible que se requiera insertar un tubo respiratorio por la boca o realizar la traqueotomía. La traqueotomía es un proceso quirúrgico por el que se crea un agujero en la parte delantera del cuello para insertar un tubo, dentro de la tráquea, que se conecta a un respirador.

- Apoyo psicológico y social: el equipo interdisciplinario puede incluir a un asistente social para que ayude con los asuntos financieros, el seguro y la obtención y el pago de los dispositivos. Los psicólogos, trabajadores sociales y otros pueden dar apoyo emocional al paciente y a su familia.

### 3.2 Bases de datos

Se han consultado todas las bases de datos mencionadas en el apartado 2.2 Bases de datos de Metodología. Los resultados se muestran a continuación:

#### MalaCards

Se accede a través del enlace <https://www.malacards.org/> . Su página de inicio se muestra en la Figura 2

**MalaCards: The human disease database**

MalaCards is an integrated database of human maladies and their annotations, modeled on the architecture and richness of the popular GeneCards database of human genes. [more...](#)

22371 disease entries, consolidated from [75 sources](#)

Rappaport et al, [MalaCards: an amalgamated human disease compendium with diverse clinical and genetic annotation and structured search](#), NAR 2017 Database Issue [PDF](#)

**Explore a Malady**

Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent

**Jump to section for this Malady:**

<a href="#">Aliases &amp; Classifications</a>	<a href="#">Anatomical Context</a>	<a href="#">Drugs &amp; Therapeutics</a>
<a href="#">Expression</a>	<a href="#">Genes</a>	<a href="#">Genetic Tests</a>
<a href="#">GO Terms</a>	<a href="#">Pathways</a>	<a href="#">Publications</a>
<a href="#">Related Diseases</a>	<a href="#">Sources</a>	<a href="#">Summaries</a>
<a href="#">Symptoms &amp; Phenotypes</a>	<a href="#">Variations</a>	

Figura 2. Página de inicio de MalaCards

Para utilizar esta base de datos se introduce la enfermedad de interés en el buscador, en este caso amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Se seleccionaron todas las entradas relacionadas con la ELA ya que no había suficientes genes con una única entrada.

### Search results for amyotrophic lateral sclerosis

1481 hits were found for amyotrophic lateral sclerosis

#	Family	MCID	Name	MIFTS	Score
1	+	AMY091	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 1</a>	88	19.904
2	+	AMY027	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis-Parkinsonism/dementia Complex 1</a>	40	9.849
3	+	FRN044	<a href="#">Frontotemporal Dementia and/or Amyotrophic Lateral Sclerosis 1</a>	56	9.719
4	+	AMY106	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 10 with or Without Frontotemporal Dementia</a>	39	9.332
5	+	AMY045	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 4 Juvenile</a>	40	9.009
6	+	AMY058	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 2 Juvenile</a>	38	8.742
7	+	AMY055	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 17</a>	28	8.324
8	+	AMY085	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 9</a>	37	8.086
9	+	AMY090	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 8</a>	39	8.074
10	+	AMY083	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 11</a>	34	8.054
11	+	AMY023	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 6</a>	29	7.726
12	+	AMY057	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 16 Juvenile</a>	35	7.701
13	+	AMY067	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 18</a>	31	7.350
14	+	AMY062	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 12</a>	25	7.317
15	+	AMY063	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 20</a>	23	6.961
16	+	AMY059	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 19</a>	32	6.955
17	+	AMY107	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 14 with or Without Frontotemporal Dementia</a>	26	6.953
18	+	AMY088	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 3</a>	36	6.627
19	+	AMY069	<a href="#">Amyotrophic Lateral Sclerosis 21</a>	40	6.625

Figura 3. Entradas de ELA en MalaCards

GeneCardsSuite GeneCards **MalaCards** LifeMap Discovery PathCards TGex VarElect GeneAnalytics GeneALaCart GenesLikeMe

**MalaCards** HUMAN DISEASE DATABASE WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE LifeMap SCIENCES

Search Advanced

Home User Guide Analysis Tools News and Views Disease Lists/Categories About Log In Sign Up

**ALS1**  
 MCID: AMY091  
 MIFTS: 88

## Amyotrophic Lateral Sclerosis 1 (ALS1)

Categories: Genetic diseases, Mental diseases, Metabolic diseases, Neuronal diseases, Rare diseases, Respiratory diseases

Genes Variations Tissues Related diseases Publications Pathways Symptoms & Phenotypes Drugs Expand all tables

Jump to section Sources **Aliases & Classifications** for Amyotrophic Lateral Sclerosis 1

**MalaCards integrated aliases for Amyotrophic Lateral Sclerosis 1:**

Name: **Amyotrophic Lateral Sclerosis 1** [57](#) [12](#) [74](#) [13](#) [38](#) [72](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis** [57](#) [12](#) [75](#) [24](#) [53](#) [25](#) [54](#) [59](#) [74](#) [37](#) [29](#) [55](#) [6](#) [43](#) [3](#) [44](#) [15](#) [17](#) [72](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 1** [12](#) [53](#) [29](#) [6](#) [15](#)

Als [12](#) [53](#) [25](#) [59](#) [74](#)

Lou Gehrig's Disease [12](#) [75](#) [24](#) [54](#)

Lou Gehrig Disease [53](#) [25](#) [59](#) [74](#)

Charcot Disease [53](#) [25](#) [59](#) [74](#)

Als1 [57](#) [12](#) [53](#) [74](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis, Susceptibility to** [57](#) [29](#) [6](#)

Familial **Amyotrophic Lateral Sclerosis** [74](#) [17](#)

Motor Neuron Disease [74](#) [72](#)

Fals [57](#) [74](#)

Mnd [53](#) [74](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis 1, Autosomal Dominant** [57](#)

Motor Neuron Disease, **Amyotrophic Lateral Sclerosis** [25](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis 1, Familial; Fals** [57](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis with Dementia** [25](#)

Dementia with **Amyotrophic Lateral Sclerosis** [25](#)

**Amyotrophic Lateral Sclerosis 1, Familial** [57](#)

**Sclerosis, Lateral, Amyotrophic, Type 1** [40](#)

**Sclerosis, Lateral, Amyotrophic** [40](#)

Motor Neuron Disease, Bulbar [12](#)

Motor Neurone Disease [53](#)

**Characteristics:**

**Orphanet epidemiological data:** <sup>59</sup>

**amyotrophic lateral sclerosis**

Inheritance: Autosomal dominant, Autosomal recessive, Not applicable; Prevalence: 1-9/100000 (Europe), 1-9/100000 (United States); Age of onset: Adult; Age of death: adult

Figura 4. Ficha de ELA tipo 1 en MalaCards

La información que contiene la ficha se muestra en varias secciones. La primera sección hace referencia a las fuentes de información y la clasificación, seguida de la sección sobre fármacos, expresión y genes.

#	Symbol	Description	Category	Score	Evidence	Pubmedlids
1	<a href="#">SOD1</a> ★	Superoxide Dismutase 1	Protein Coding	1718.27	Molecular basis known <sup>57</sup> Pathogenic <sup>6</sup> Causative germline mutation <sup>59</sup> Causative variation <sup>74</sup> Genetic Tests <sup>29</sup> DISEASES inferred <sup>15 15</sup> Novoseek inferred <sup>55</sup> GeneCards inferred via (show sections)	<a href="#">8058797</a> <a href="#">7836951</a> <a href="#">8179602</a> (more)
2	<a href="#">DCTN1</a> ★	Dynactin Subunit 1	Protein Coding	1425.61	Molecular basis known <sup>57</sup> Pathogenic <sup>6</sup> Causative variation <sup>74</sup> Genetic Tests <sup>29</sup> Susceptibility factor <sup>57</sup> Risk factor <sup>6</sup> Candidate gene tested <sup>59</sup> DISEASES inferred <sup>15</sup> Novoseek inferred <sup>55</sup>	<a href="#">16240349</a> <a href="#">16324086</a> <a href="#">17653917</a> (more)
3	<a href="#">UBQLN2</a> ★	Ubiquilin 2	Protein Coding	857.95	Pathogenic <sup>6</sup> Causative germline mutation <sup>59</sup> Genetic Tests <sup>29</sup> DISEASES inferred <sup>15</sup>	<a href="#">24771548</a> <a href="#">21857683</a> <a href="#">21914052</a> (more)
4	<a href="#">NEFH</a> ★	Neurofilament Heavy	Protein Coding	726.91	Molecular basis known <sup>57</sup> Genetic Tests <sup>29</sup> Susceptibility factor <sup>57 59</sup> Risk factor <sup>6</sup> DISEASES inferred <sup>15</sup> Novoseek inferred <sup>55</sup>	<a href="#">16324086</a> <a href="#">17653917</a> <a href="#">9931323</a> (more)

Figura 5. Listado de genes relacionados con la ELA en MalaCards.

Los genes tienen un Score que informa de su relevancia con respecto a la enfermedad, a mayor Score más relevancia.

## OMIM

Se accede a OMIM a través del enlace <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>. Su página de inicio se muestra en la Figura 6.

Figura 6. Página inicial de OMIM

En el buscador de OMIM se introdujo la enfermedad, amyotrophic lateral sclerosis, y se buscaron las entradas que hacían referencia a la ELA. La ficha sobre la ELA muestra la información en diferentes secciones. La primera sección muestra la relación entre el fenotipo y los genes, seguido de la descripción de la enfermedad, sus características clínicas...

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
2p13.1	[Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to]	105400	AD, AR	3	DCIN1	601143
12q13.12	[Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to]	105400	AD, AR	3	PRPH	170710
21q22.11	Amyotrophic lateral sclerosis 1	105400	AD, AR	3	SCD1	147450
22q12.2	[Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to]	105400	AD, AR	3	NEFH	162230

Figura 7. Ficha de la ELA tipo 1 en OMIM

A parte de esta información, en la ficha hay varias pestañas entre las que se encuentra la de series fenotípicas. En esta pestaña se muestra un listado de los genes que están relacionados con diferentes tipos de ELA, como se muestra en la figura 8.

Location	Phenotype	Inheritance	Phenotype mapping key	Phenotype MIM number	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
1p36.22	Amyotrophic lateral sclerosis 10, with or without FTD	AD	3	612069	TARDBP	605078
1p36.22	Frontotemporal lobar degeneration, TARDBP-related	AD	3	612069	TARDBP	605078
2p13.1	(Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to)	AD, AR	3	105400	DCTN1	601143
2q33.1	Amyotrophic lateral sclerosis 2, juvenile	AR	3	205100	ALS2	606352
2q34	Amyotrophic lateral sclerosis 19	AD	3	615515	ERBB4	600543
2q35	Amyotrophic lateral sclerosis 22 with or without frontotemporal dementia	AD	3	616208	TUBA4A	191110
3p11.2	Amyotrophic lateral sclerosis 17	AD	3	614696	CHMP2B	609512
4q33	(Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to, 24)	AD	3	617892	NEK1	604588
5q31.2	Amyotrophic lateral sclerosis 21	AD	3	606070	MATR3	164015
5q35.3	Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 3	AD	3	616437	SQSTM1	601530
6q21	Amyotrophic lateral sclerosis 11	AD	3	612577	FIG4	609390
9p21.2	Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 1	AD	3	105550	C9orf72	614260
9p13.3	(Amyotrophic lateral sclerosis 16, juvenile)	AR	3	614373	SIGMAR1	601978
9p13.3	Amyotrophic lateral sclerosis 14, with or without frontotemporal dementia		3	613954	VCP	601023
9q34.13	Amyotrophic lateral sclerosis 4, juvenile	AD	3	602433	SETX	608465
10p13	Amyotrophic lateral sclerosis 12		3	613435	OPTN	602432
10q23.3	Amyotrophic lateral sclerosis 23	AD	3	617839	ANDXA11	602572
12q13.12	(Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to)	AD, AR	3	105400	PRPH	170710

Figura 8. Series fenotípicas de la ELA en OMIM

A diferencia de en Malacards, en OMIM no hay ningún valor que muestre la relevancia de los genes respecto a la enfermedad.

Harmonizome

El enlace <https://amp.pharm.mssm.edu/Harmonizome/> nos lleva a la página de inicio de Harmonizome, que se muestra en la figura 9.

Harmonizome Integrated Knowledge About Genes & Proteins

SEARCH DOWNLOAD VISUALIZE PREDICT API MOBILE ABOUT

Harmonizome

Search for genes or proteins and their functional terms extracted and organized from over a hundred publicly available resources. [Learn more.](#)

All

Example searches  
achilles STAT3 breast cancer

Máayan Laboratory of Computational Systems Biology | Contact Us | Terms

Please acknowledge the Harmonizome in your publications by citing the following reference:  
Rouillard AD, Gundersen GW, Fernandez NF, Wang Z, Monteiro CD, McDermott MG, Ma'ayan A. The harmonizome: a collection of processed datasets gathered to serve and mine knowledge about genes and proteins. Database (Oxford). 2016 Jul 3;2016. pii: baw100.

Funding  
BD2K-LINCS Data Coordination and Integration Center  
Illuminating the Druggable Genome, Knowledge Management Center

Figura 9. Página de inicio de Harmonizome

En el buscador de Harmonizome se puede especificar si se busca un gen, un conjunto de genes o un conjunto de datos, pero no se especificó ninguno. En el buscador se introdujo la enfermedad con sus siglas, ALS, y aparecieron diversas entradas entre genes y conjuntos de genes. Se escogieron los conjuntos de genes que hacían referencia a la ELA..

<b>ALS2CL</b> <small>Gene</small> ALS2 C-terminal like
<b>ALS2CR11</b> <small>Gene</small> amyotrophic lateral sclerosis 2 (juvenile) chromosome region, candidate 11
<b>ALS2CR12</b> <small>Gene</small> amyotrophic lateral sclerosis 2 (juvenile) chromosome region, candidate 12
<b>ALS7</b> <small>Gene</small> amyotrophic lateral sclerosis 7
<b>ALS5</b> <small>Gene</small> amyotrophic lateral sclerosis 5
<b>ALS2</b> <small>Gene</small> amyotrophic lateral sclerosis 2 (juvenile) The protein encoded by this gene contains an ATS1/RCC1-like domain, a RhoGEF domain, and a vacuolar protein sorting 9 (VPS9) domain, all of which are guanine-nucleotide exchange factors that activate members of the Ras superfamily of GTPases. The protein functions as a guanine nucleotide exchange factor for the small GTPase RAB5. The protein localizes with RAB5 on early endosomal compartments, and functions as a modulator for endosomal dynamics. Mutations in this gene result in several forms of juvenile lateral sclerosis and infantile-onset ascending spastic paralysis. Multiple transcript variants encoding different isoforms have been found for this gene. [provided by RefSeq, Oct 2008]
<b>ALS3</b> <small>Gene</small> amyotrophic lateral sclerosis 3 (autosomal dominant)
<b>als</b> <small>Gene Set</small> From <i>GeneRIF Biological Term Annotations</i> genes co-occurring with the biological term <b>als</b> in literature-supported statements describing functions of genes from the GeneRIF Biological Term Annotations dataset.
<b>ALS</b> <small>Gene Set</small> From <i>PhosphoSitePlus Phosphosite-Disease Associations</i> proteins associated with the disease ALS from the curated PhosphoSitePlus Phosphosite-Disease Associations dataset.
<b>Alstrom syndrome</b> <small>Gene Set</small> From <i>ClinVar Gene-Phenotype Associations</i> genes associated with the <b>Alstrom syndrome</b> phenotype from the curated ClinVar Gene-Phenotype Associations dataset.
<b>alsterpaullone-7056</b> <small>Gene Set</small>

Figura 10. Entradas relacionadas con la ELA en Harmonizome

En las fichas de información sobre la ELA, se muestra el data set del que proviene la información, la categoría y el tipo de datos, una breve descripción del conjunto de datos y un listado de los genes.

Symbol	Name	Standardized Value
SYNE1	spectrin repeat containing, nuclear envelope 1	0.795988
PGAM5	phosphoglycerate mutase family member 5	0.512863
C20ORF195	chromosome 20 open reading frame 195	0.495107
CPD	carboxypeptidase D	0.469243
TRIM39	tripartite motif containing 39	0.261591
ARAP2	ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 2	0.215132
DNAH5	dynein, axonemal, heavy chain 5	0.078405
PRPH	peripherin	0.058579
THEMIS	thymocyte selection associated	0.017288

Figura 11. Listado de genes relacionados con la ELA en Harmonizome

Lagunos de los conjuntos de genes en Harmonizome presentaban una lista de genes siun un vaor que hiciera referencia a su relevancia con la ELA, pero se encontraron otros que presentaban un valor estándar que cuanto mayor es, más relevancia tiene ese gen.

### 3.3 Integración de los datos

#### Análisis

Se analizaron los resultados obtenidos en las bases de datos MalaCards, OMIM y Harmonizome y se creó una hoja de cálculo con esos datos.

Se obtuvieron 245 genes entre las tres bases de datos. Para reducir el conjunto de genes se decidió escoger los genes que tuvieran relación con alguna de las áreas de



acción definidas. En este caso, las áreas de acción coinciden con las posibles causas de la ELA y son el estrés oxidativo, las altas concentraciones de glutamato, la neuroinflamación, la sinapsis y la acumulación de proteínas. En la tabla 3 se muestra un listado con algunos de los genes, los valores de su relevancia y en que bases de datos se encontraron. El listado completo se adjunta en un archivo de hoja de cálculo.

Tabla 3. Genes asociados con la ELA con sus valores de relevancia y sus áreas de acción

Gen	Área de acción 1	Área de acción 2	MalaCards	OMIM	Harmonizome
SOD1	Estrés Oxidativo		1718.27		3
NOS1	Estrés Oxidativo	Sinapsis	10.17		1
NOS2	Estrés Oxidativo	Sinapsis			2
SIGMAR1	Estrés Oxidativo	Sinapsis	6.06		3
CNR1	Estrés Oxidativo	Neuroinflamación	5.31		0,257711
DAO	Estrés Oxidativo	Acumulación de Proteínas	358.95		0,941611
PTGS2	Estrés Oxidativo	Neuroinflamación			3
GRIA1	[Glutamato] elevada		8.95		0,963728
GRIA2	[Glutamato] elevada		24.05		1
OPTN	Neuroinflamación		461.34		2
GRN	Neuroinflamación	Sinapsis	13.85		2
CASP1	Neuroinflamación	Acumulación de Proteínas	8.37		
UBQLN2	Acumulación de Proteínas		857.95		2
VCP	Acumulación de Proteínas		474.21		2
NEFH	Sinapsis		726.91		
UNC13A	Sinapsis		31.19		3

#### Integración en GeneMANIA

En este caso, se decidió que los genes se integrarían según su área de acción mediante GeneMANIA. A este servicio web se puede entrar a partir del siguiente enlace <http://genemania.org/> y su página de inicio se muestra en la figura 12.



# GENEMANIA

[Cytoscape app](#) | [Help](#) | [Contact](#) | [Cite](#) | [@UToronto](#)

GeneMANIA helps you predict the function of your favourite genes and gene sets.

Indexing 2,277 association networks containing 597,392,998 interactions mapped to 163,599 genes from 9 organisms.

Figura 12. Página de inicio de GeneMANIA

Tras introducir las diferentes listas de genes se obtuvieron 5 redes biológicas, como se muestran en las figuras 13, 14, 15, 16 y 17. Estas redes biológicas muestran las interacciones que hay entre los genes de cada una de las áreas de acción y con genes añadidos por GeneMANIA al mostrar interacciones con los datos introducidos.

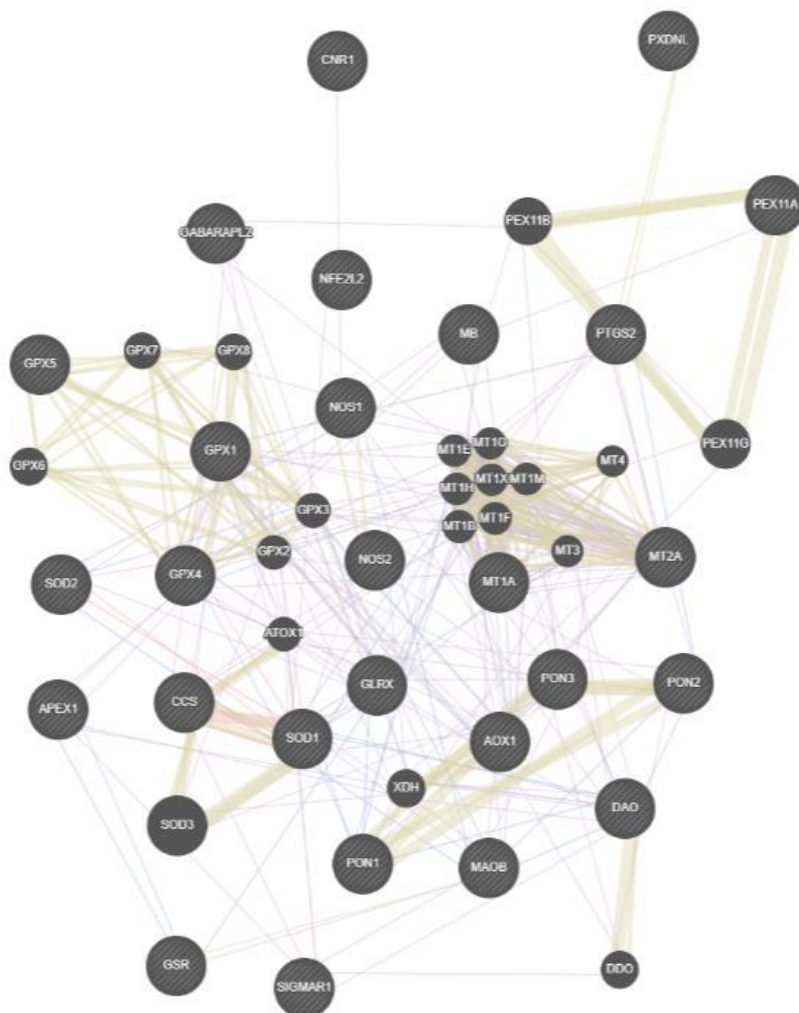


Figura 13. Red biológica de los genes relacionados con el estrés oxidativo, generada mediante GeneMANIA

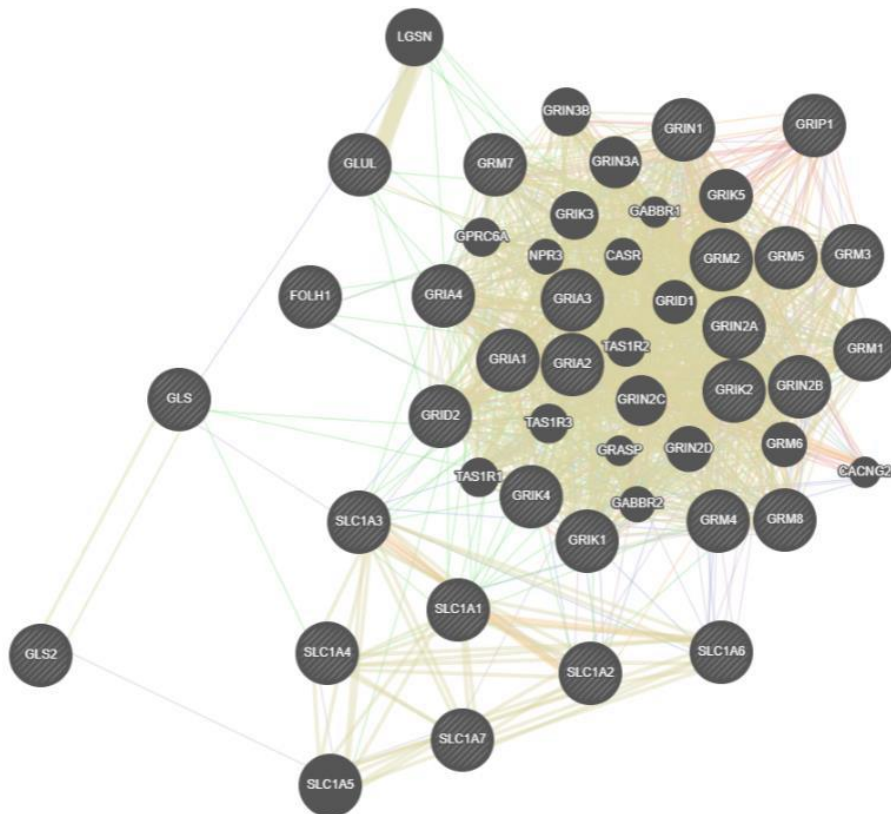


Figura 14. Red biológica de los genes relacionados con altas concentraciones de glutamato, generada mediante GeneMANIA

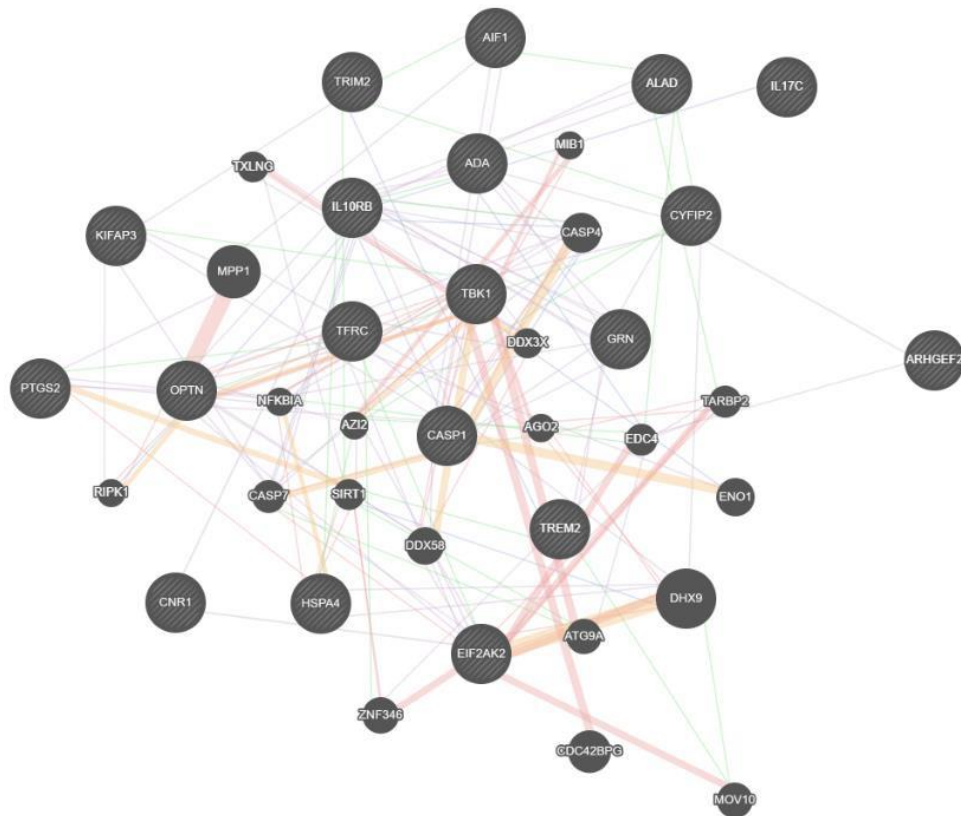


Figura 15. Red biológica de los genes relacionados con la neuroinflamación, generada mediante GeneMANIA

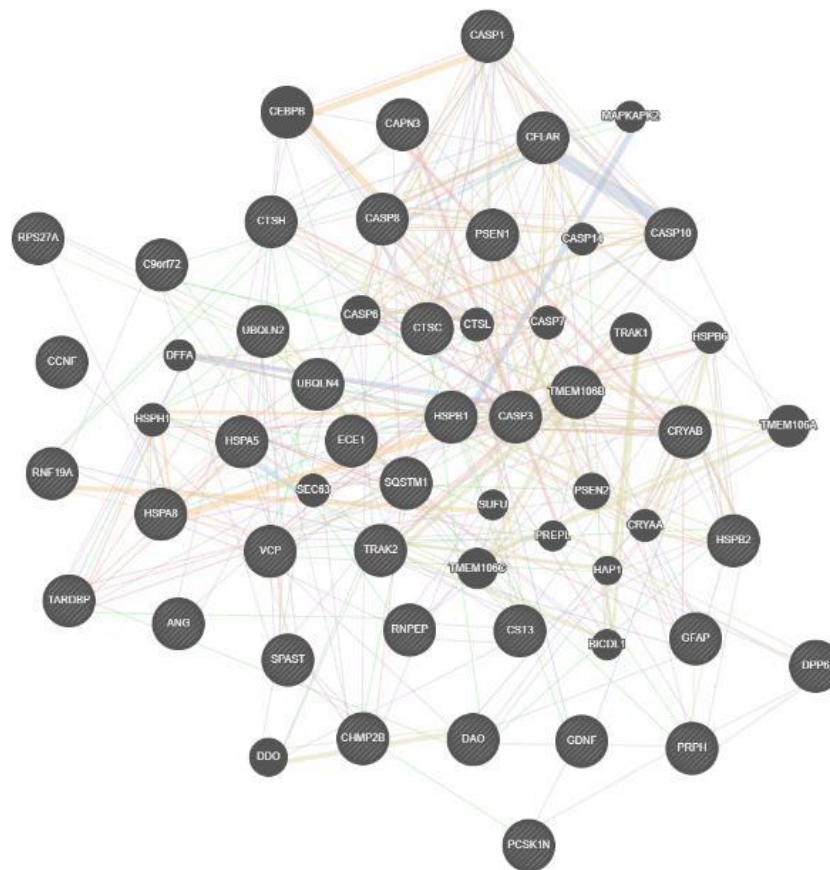


Figura 16. Red biológica de los genes relacionados con la acumulación de proteínas, generada mediante GeneMANIA

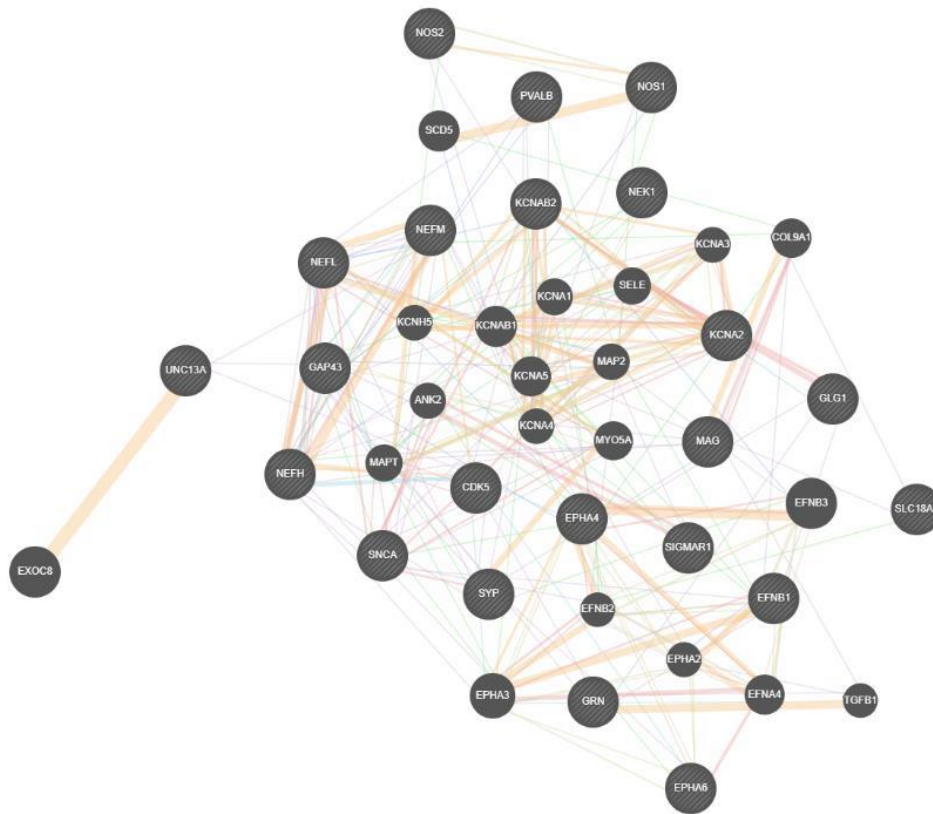


Figura 17. Red biológica de los genes relacionados con la sinapsis, generada mediante GeneMANIA.

### 3.4 Selección de nodos centrales

Se decidió que los nodos centrales seleccionados fueran aquellos que tuvieran un mayor número de interacciones en cada una de las áreas de acción y que tuvieran una alta relevancia con respecto a la enfermedad. En la tabla 4 se muestran los genes con más interacciones por cada área de acción y los genes relacionados con más de un área de acción. El listado completo de los genes su número de interacciones se mostrarán en un archivo adjunto de hoja de cálculo.

Tabla 4. Listado de genes y su número de interacciones

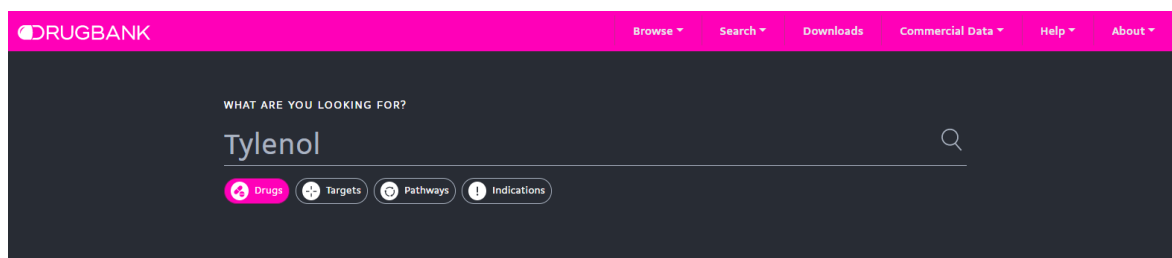
Gen	Área de acción 1	Nº de interacciones	Área de acción 2	Nº de Interacciones
NOS1	Estrés Oxidativo	7	Sinapsis	6
NOS2	Estrés Oxidativo	8	Sinapsis	4
SIGMAR1	Estrés Oxidativo	7	Sinapsis	3
CNR1	Estrés Oxidativo	1	Neuroinflamación	2
GPX1	Estrés Oxidativo	17		
GPX4	Estrés Oxidativo	18		
DAO	Estrés Oxidativo	13	Acumulación de Proteínas	8
PTGS2	Estrés Oxidativo	8	Neuroinflamación	5
GRIA2	[Glutamato] elevadas	40		
GRID2	[Glutamato] elevadas	41		
TBK1	Neuroinflamación	13		
GRN	Neuroinflamación	6	Sinapsis	6

CASP1	Neuroinflamación	11	Acumulación de Proteínas	10
VCP	Acumulación de Proteínas	16		
CASP3	Acumulación de Proteínas	17		
EPH4	Sinapsis	16		
SNCA	Sinapsis	16		

Los resultados muestran que solo hay dos genes que presenten un gran número de interacciones y a la vez tengan una gran relevancia en la ELA. Con estos resultados, se decidió que los genes a analizar se seleccionarían entre los genes relacionados con dos áreas de acción y no entre los nodos centrales de las redes biológicas. En este caso, se seleccionaron DAO y CASP1 porque son los únicos genes que presentan como segunda área de acción la acumulación de proteínas.

### 3.5 Validación de los genes

Para comprobar si los genes están descritos como dianas terapéuticas se realizó una búsqueda en la base de datos DrugBank. Para entrar a esta base de datos se utiliza el enlace <https://www.drugbank.ca/>. La página de inicio de DrugBank se muestra en la figura 18.



#### DRUGBANK

The DrugBank database is a unique bioinformatics and cheminformatics resource that combines detailed drug data with comprehensive drug target information.

The latest release of DrugBank (version 5.1.5, released 2020-01-03) contains 13,475 drug entries including 2,635 approved small molecule drugs, 1,353 approved biologics (proteins, peptides, vaccines, and allergens), 130 nutraceuticals and over 6,352 experimental (discovery-phase) drugs. Additionally, 5,170 non-redundant protein (i.e. drug target/enzyme/transporter/carrier) sequences are linked to these drug entries. Each entry contains more than 200 data fields with half of the information being devoted to drug/chemical data and the other half devoted to drug target or protein data.

Figura 18. Página de inicio de DrugBank

Para realizar esta parte del trabajo se introdujeron los nombres de los genes en el buscador de DrugBank, especificando que se buscaba información sobre dianas. Las fichas de los dos genes muestran detalles de estos genes y los medicamentos asociados a estas dianas.

Figura 19. Ficha de un gen en DrugBank

Se comprobó la relación de los genes y de sus medicamentos asociados con la ELA, los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Relación de los genes y sus medicamentos asociados con la ELA según DrugBank

Gen	Nombre completo del Gen	Diana	Diana de ELA	Medicamentos	Medicamentos ELA
DAO	D-amino-acid oxidase	SI	NO	8	0
CASP1	Caspase-1	SI	NO	9	0

Ninguno de los genes está descrito como diana terapéutica de la ELA aunque si están descritos como dianas y tienen medicamentos asociados. De estos medicamentos asociados la mayoría se encuentran en experimentación o investigación y aquellos que si han sido aprobados no parecen ser de interés para el tratamiento de la ELA.

### 3.6 Test de viabilidad de las dianas terapéuticas

Para realizar el test de viabilidad de las dianas se estudió la “drugabilidad” de los dominios de DAO Y CASP1 mediante la herramienta DrugEBllity. Para entrar a DrugEBllity se utiliza el enlace <https://www.ebi.ac.uk/chembl/drugability> y su página de inicio se muestra en la figura 20.



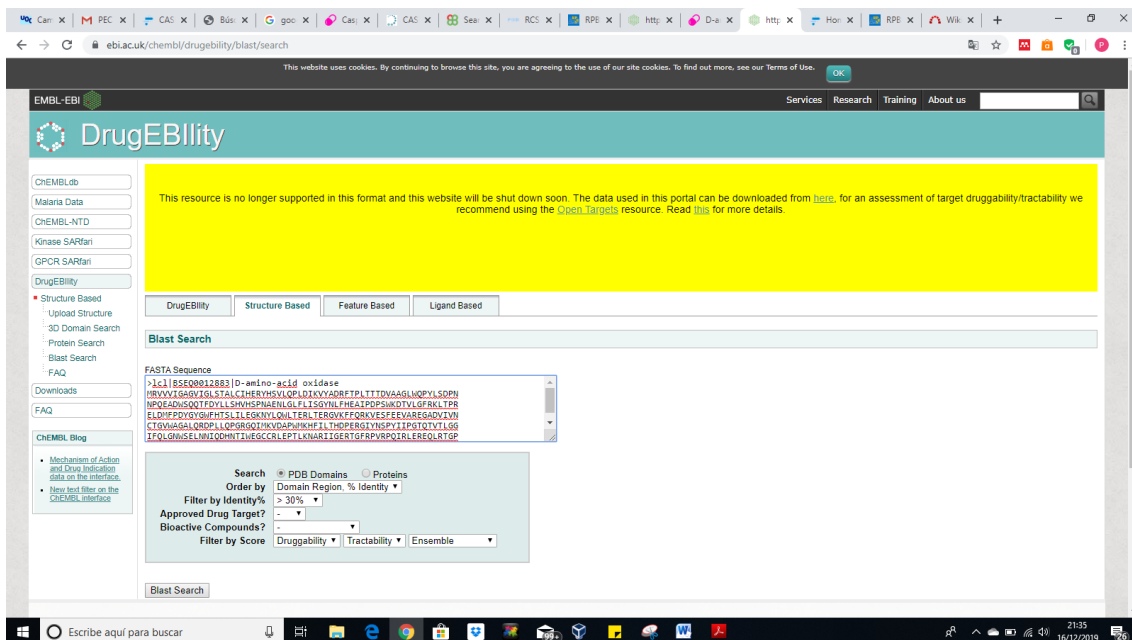


Figura 20. Página de inicio de DrugEBLity

Para comprobar la “drugabilidad” se introdujeron las secuencias de las proteínas codificadas por ambos genes, obtenidas a partir de DrugBank, y se dejaron los demás parámetros por defecto.

#### Resultados de “Drugabilidad” de DAO

Para realizar el test de “drugabilidad” de DAO se utiliza su secuencia FASTA.

>|c|BSEQ0012883|D-amino-acid oxidase

```
MRVVVIGAGVIGLSTALCIHERYHSVLQPLDIKVVADRFTPLTTTDDVAAGLWQPYLSDP
NNPQEADWSQQTFDYLLSHVHSPNAENLGLFLISGYNLFHEAIPDPSWKDTVLGFRKL
TPRELDMFDPYGYGWFHTSLILEGKNYLQWLTERLTERGVKFFQRKVESFEEVAREG
ADVIVNCTGVWAGALQRDPLLQPGRGQIMKVDAPWMKHFILTHDPERGIYNSPYIIPG
TQVTTLGGIFQLGNWSELNNIQDHNTIWEGCCRLEPTLKNARIIGERTGFRPVRPQIRL
EREQLRTGPSNTEVIHNYGHGGYGLTIHWGCALEAAKLFGRILEEKKLSRMPPSHL
```

En el caso de DAO se seleccionó el dominio 4252438, por ser “tractable” y “druggable” y por presentar el mejor valor para el Ensemble (0.81), como se muestra en la figura 21.

115 Blast Hit sequences are displayed as below

"UNMATCHED" domains have not yet been assigned to any SCOP domain family.

#	Domain	Tractable	Druggable	Ensemble	PDB	Family	Parent Protein	InChEMBL	Approved Drug?	Query Start	Query End	% Ident	E-Value	Align
1	<a href="#">4185994</a>	1	1	0.71	3g3e:BA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
2	<a href="#">4268000</a>	1	1	0.68	3g3e:DC	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
3	<a href="#">4252438</a>	1	1	0.81	2e4a:BA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
4	<a href="#">4067918</a>	1	1	0.70	2e4a:BDCA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
5	<a href="#">4200713</a>	1	1	0.81	2e4a:DC	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
6	<a href="#">4125880</a>	1	1	0.81	2e49:DC	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
7	<a href="#">4236832</a>	1	1	0.80	2e49:BA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
8	<a href="#">4020371</a>	1	1	0.80	2e48:DC	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
9	<a href="#">4044534</a>	1	1	0.81	2e48:BA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
10	<a href="#">4148501</a>	1	1	0.70	2e48:BDCA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
11	<a href="#">4209953</a>	1	1	0.79	2e82:BA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
12	<a href="#">4247227</a>	1	1	0.70	2e82:BDCA	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡
13	<a href="#">4094721</a>	1	1	0.81	2e82:DC	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)	<a href="#">P14920</a>	No	No	1	340	100	0.0	≡

Figura 21. Resultado de “drugabilidad” para DAO con DrugEBllity

Al entrar en el enlace del dominio se obtiene información del mismo. En la ficha se comprobó que el dominio pertenece a una estructura 3D que se encuentra en la base de datos PDB con el ID 2e4a, y se corresponde a un dominio de unión de nucleótidos.

3D Domain Search

Download in... ▾

Domain Family Details:

Domain ID	4252438 [ PDBe PISA Biological Unit <sup>2</sup> ]
PDB	<a href="#">2e4a</a>
Fold	Nucleotide-binding domain
Superfamily	Nucleotide-binding domain
Family	D-aminoacid oxidase N-terminal domain (Homo Multimer)
Gene	D-amino-acid oxidase <a href="#">P14920</a>
Other PDB(s)	<a href="#">2e4a:BA - px4252438</a> ( Tractable: 1, Druggable: 1, Ensemble: 0.81 ) ▾

Figura 22. Ficha del dominio 4252438 en DrugEBllity

También se puede comprobar que este dominio presenta 4 posibles sitios de unión, 2 “drugables” y 2 que no lo son. El sitio de unión con mejor dato de “drugabilidad” es el 1.

Site Druggability Details:

Reset: ●	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Druggable <sup>2</sup>	1.00	1.00	0.00	0.00
Confidence	0.84	0.84	0.96	0.96
Tractable <sup>2</sup>	1.00	1.00	0.00	0.00
Confidence	0.92	0.78	0.86	0.83
Ensemble <sup>2</sup>	0.81	0.66	-0.98	-0.88
Volume [Å <sup>3</sup> ]	2305.12	2195.86	2213.16	2039.34
Buried Surface [%]	85.4	85.11	69.86	76.42
Show Site	●	●	●	●
Show Residues	●	●	●	●

Figura 23. Información de los sitios de unión del dominio en DrugEBllity

En la figura 24 se pueden observar los 4 sitios de unión del dominio, el sitio 1 está representado en amarillo.

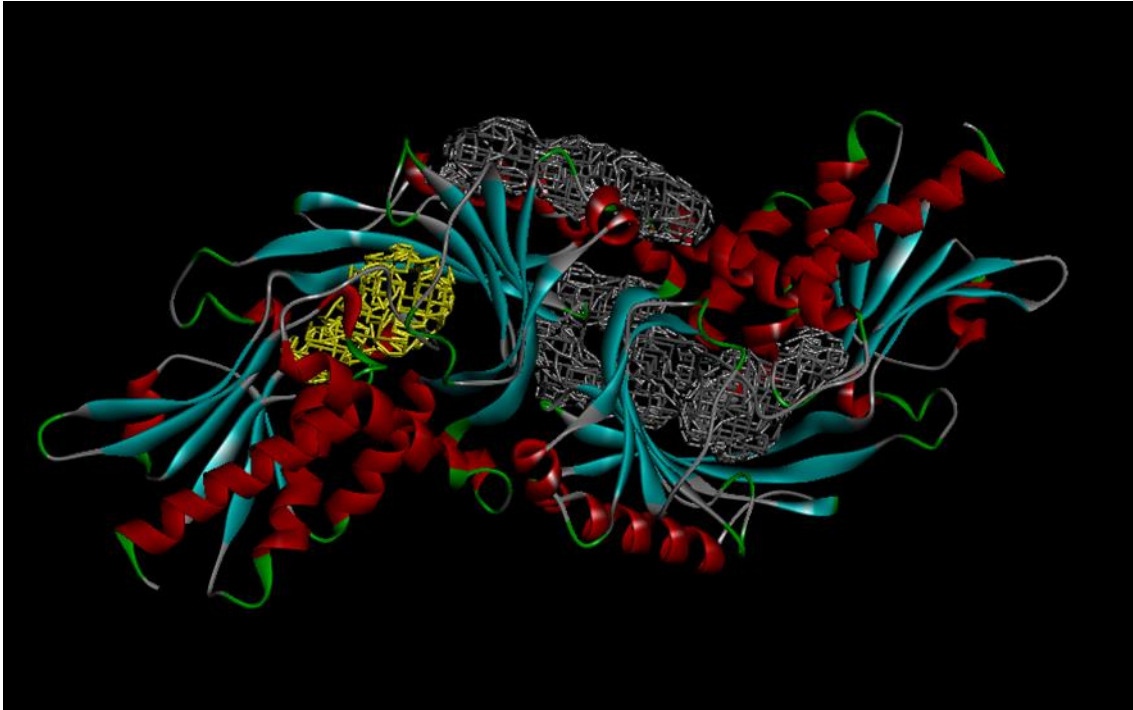


Figura 24. Visualización de los 4 sitios de unión mediante so

#### Resultados de “drugabilidad” para CASP1

Por otro lado, para realizar el test de “drugabilidad” de CASP1 se utilizó la secuencia FASTA de la isoforma alfa.

```
>sp|P29466|CASP1_HUMAN Caspase-1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=CASP1
PE=1 SV=1
```

```
MADKVLKEKRKLFIRSMGEGTINGLLDELLQTRVLNKEEMEKVKRENATVMDKTRALI
DSVIPKGAQACQICITYICEEDSYLAGTLGLSADQTSIGNYLNMQDSQGVLSFPAPQA
VQDNPAMPTSSGSEGNVKLCSLEEAQRIWKQKSAEIYPIMDKSSRTRLALIICNEEFDS
IPRRTGAEVDITGMTMLLQNLGYSVDVKKNLASDMTTELEAFAHRPEHKTSdstflv
FMSHGIREGICGKKHSEQVPDILQLNAIFNMLNTKNCPSLKDKPKVIIIQACRGDSPGV
VWFKDSVGVSGNLSLPTTEEFEDDAIKKAHIEKDFIAFCSSTPDNVSWRHPTMGSVFI
GRLIEHMQEYACSCDVEEIFRKVRFSEQPDGRAQMPTTTERVTLTRCFYLFPGH
```

De todos los dominios de CASP1, se seleccionó el dominio 4180578 por ser “tractable” y “druggable” y tener la mejor puntuación para el Ensembl (0.71).

119 Blast Hit sequences are displayed as below

"UNMATCHED" domains have not yet been assigned to any SCOP domain family.

#	Domain	Tractable	Druggable	Ensemble	PDB	Family	Parent Protein	InChEMBL	Approved Drug?	Query Start	Query End	% Ident	E-Value	Align
1	<a href="#">18436</a>	0	0	-0.98	1dgn:A	Caspase recruitment domain CARD	<a href="#">P57730</a>	No	No	2	89	53	1e-19	≡
2	<a href="#">4236566</a>	1	0	-0.88	3d6LBDCA	UNMATCHED 3D6L HETERO		No	No	96	288	31	2e-21	≡
3	<a href="#">4180578</a>	1	1	0.71	3r7n:BDCA	UNMATCHED 3R7N HETERO		No	No	96	288	31	2e-20	≡
4	<a href="#">4182950</a>	1	1	0.49	1rwx:BA	UNMATCHED 1RWX HETERO		No	No	120	297	100	1e-102	≡
5	<a href="#">111958</a>	1	1	0.49	1rwx:AB	Caspase catalytic domain	<a href="#">P29466</a>	<a href="#">CHEMBL4801</a>	No	120	404	93	1e-156	≡
6	<a href="#">4084097</a>	1	1	0.48	1rww:BA	UNMATCHED 1RWW HETERO		No	No	123	297	100	1e-100	≡
7	<a href="#">111957</a>	1	1	0.48	1rww:AB	Caspase catalytic domain	<a href="#">P29466</a>	<a href="#">CHEMBL4801</a>	No	123	404	93	1e-154	≡
8	<a href="#">4034176</a>	1	1	0.13	2h48:BA	UNMATCHED 2H48 HETERO		No	No	125	297	100	4e-99	≡
9	<a href="#">4251398</a>	1	1	0.49	3d6m:BA	UNMATCHED 3D6M HETERO		No	No	125	297	100	5e-99	≡
10	<a href="#">4108667</a>	1	0	-0.97	1rww:BA	UNMATCHED 1RWV HETERO		No	No	125	297	100	7e-99	≡
11	<a href="#">4171220</a>	1	1	0.51	1rwp:BA	UNMATCHED 1RWP HETERO		No	No	125	297	100	7e-99	≡
12	<a href="#">4018784</a>	1	1	0.21	1rwo:BA	UNMATCHED 1RWO HETERO		No	No	125	297	100	7e-99	≡
13	<a href="#">4159193</a>	1	1	-0.54	1rwm:BA	UNMATCHED 1RWM HETERO		No	No	125	297	100	7e-99	≡
14	<a href="#">4173893</a>	1	0	-0.90	1rwk:BA	UNMATCHED 1RWK HETERO		No	No	125	297	100	7e-99	≡
15	<a href="#">3350716</a>	1	0	-0.85	3d6m:A	UNMATCHED	<a href="#">P29466</a>	<a href="#">CHEMBL4801</a>	No	125	297	100	3e-98	≡
16	<a href="#">3100715</a>	1	0	-0.82	2h48:A	UNMATCHED	<a href="#">P29466</a>	<a href="#">CHEMBL4801</a>	No	125	297	100	3e-98	≡
17	<a href="#">4229998</a>	1	1	0.22	3d6f:BA	UNMATCHED 3D6F HETERO		No	No	125	297	99	2e-98	≡
18	<a href="#">4192909</a>	1	0	-0.83	1sc3:BA	UNMATCHED 1SC3 HETERO		No	No	125	297	99	7e-98	≡
19	<a href="#">3350703</a>	1	0	-0.85	3d6f:A	UNMATCHED	<a href="#">P29466</a>	<a href="#">CHEMBL4801</a>	No	125	297	99	1e-97	≡
20	<a href="#">4129185</a>	1	1	0.66	2h48:BA	UNMATCHED 2H48 HETERO		No	No	125	297	98	8e-96	≡

Figura 25. Resultado de "drugabilidad" para CASP1 mediante DrugEBllity

Al entrar en el enlace del dominio 4180578 se comprobó que pertenece a una estructura 3D depositada en la base de datos Protein Data Bank con el ID 3r7n.

3D Domain Search

Download in... ▾

Domain Family Details:

Domain ID	4180578 [ PDBe PISA Biological Unit <sup>2</sup> ]
PDB	<a href="#">3r7n</a>
Fold	UNMATCHED
Superfamily	UNMATCHED
Family	UNMATCHED 3R7N HETERO
Gene	
Other PDB(s)	▾

Figura 26. Ficha del dominio 4180578 en DrugEBllity

En la ficha también se puede comprobar que el dominio tiene 4 posibles sitios de unión, 1 "druggable" y 3 "no druggables".

Site Druggability Details:

Reset: ●	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Druggable <sup>2</sup>	1.00	0.00	0.00	0.00
Confidence	0.67	0.96	0.96	0.96
Tractable <sup>2</sup>	1.00	0.00	0.00	0.00
Confidence	0.83	0.73	0.86	0.86
Ensemble <sup>2</sup>	0.48	0.71	-0.89	-0.97
Volume [Å <sup>3</sup> ]	2717.72	2744.3	1976.48	2162.11
Buried Surface [%]	69.51	78.56	69.58	70.93
Show Site	●	●	●	●
Show Residues	●	●	●	●
Ligand ○				

Green :Druggable, Yellow :Tractable, Pink :Undruggable

Figura 27. Información de los sitios de unión del dominio en DrugEBllity

Mediante so se visualizarçon los 4 sitios de unión, mostrando en amarillo el único sitio de unión “druggable”.

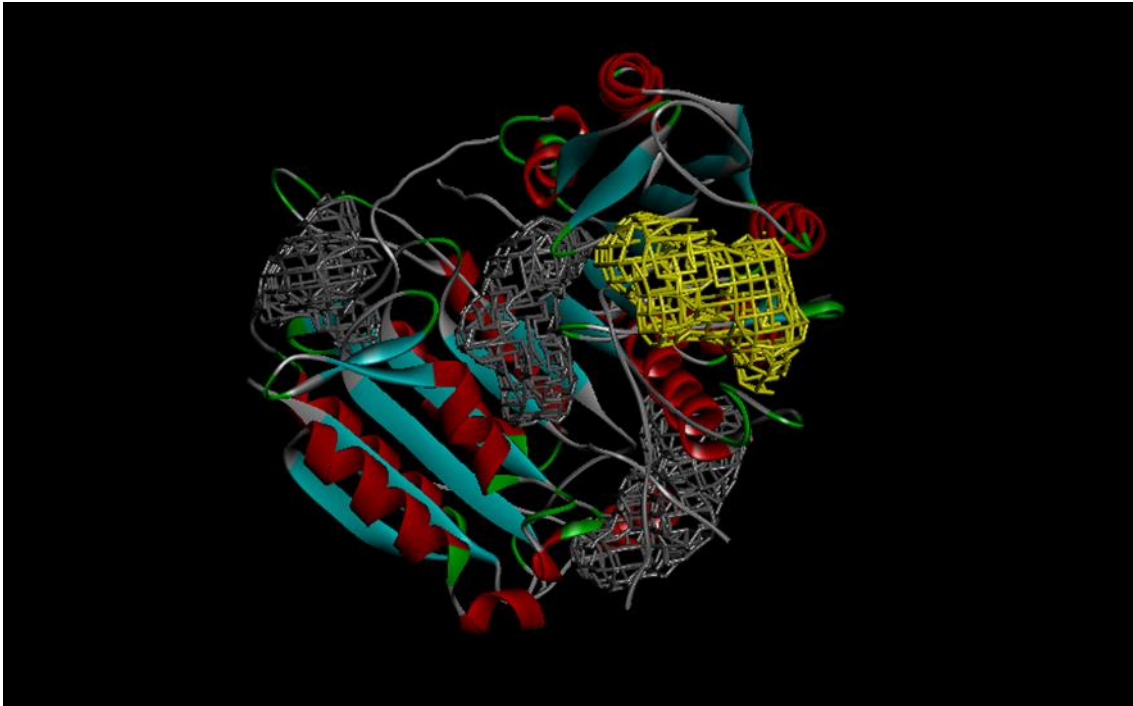


Figura 28. Visualización de los 4 sitios de unión mediante so

Para realizar el virtual screening en MTIOpenScreenn de ambos dominios, se usó el software local Autodocktools para calcular los parámetros de la Grid.

Para calcular estos parámetros en el dominio de DAO se utilizó como centro el volumen del sitio 1, descargado des de DrugEBllity, y los resultados obtenidos fueron:

- Dimensiones de la Grid
  - X = 60
  - Y = 60
  - Z = 60
- Coordenadas del centro de la Grid
  - X = 65.500
  - Y = 21.700
  - Z = 6.700

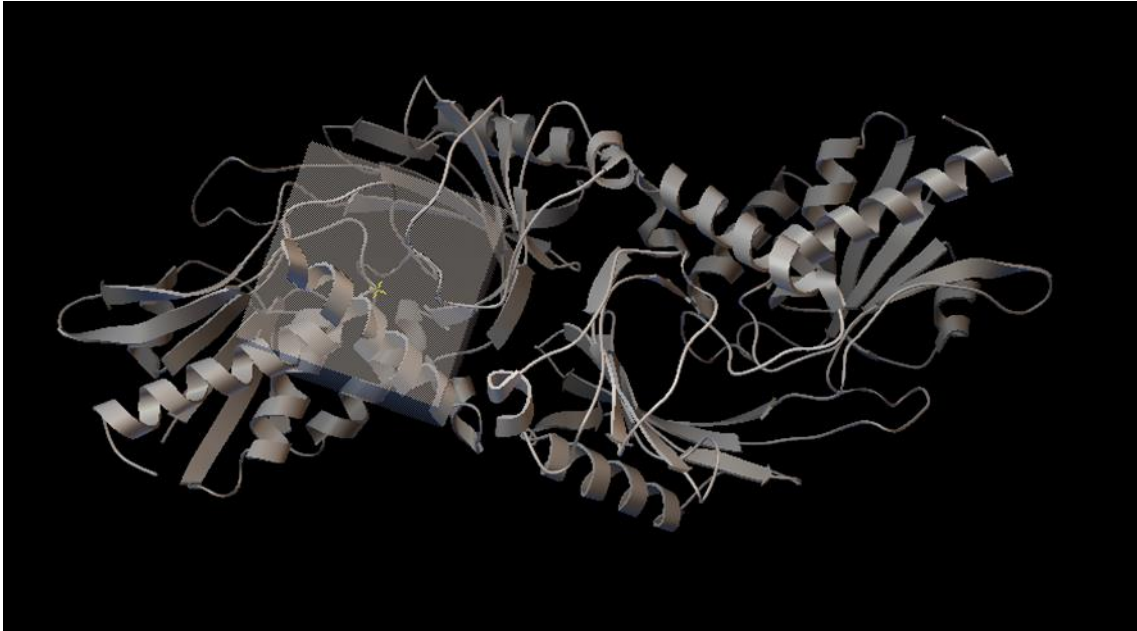


Figura 29. Dimensiones y posición de la Grid en el dominio de DAO

Para CASP1 también se calcularon los parámetros de la Grid y se utilizó como centro el volumen del único sitio 1, descargado de DrugEBlity. Los resultados obtenidos fueron:

- Dimensiones de la Grid
  - X = 50
  - Y = 50
  - Z = 50
- Coordenadas del centro de la Grid
  - X = -4.300
  - Y = -24.600
  - Z = 24.100

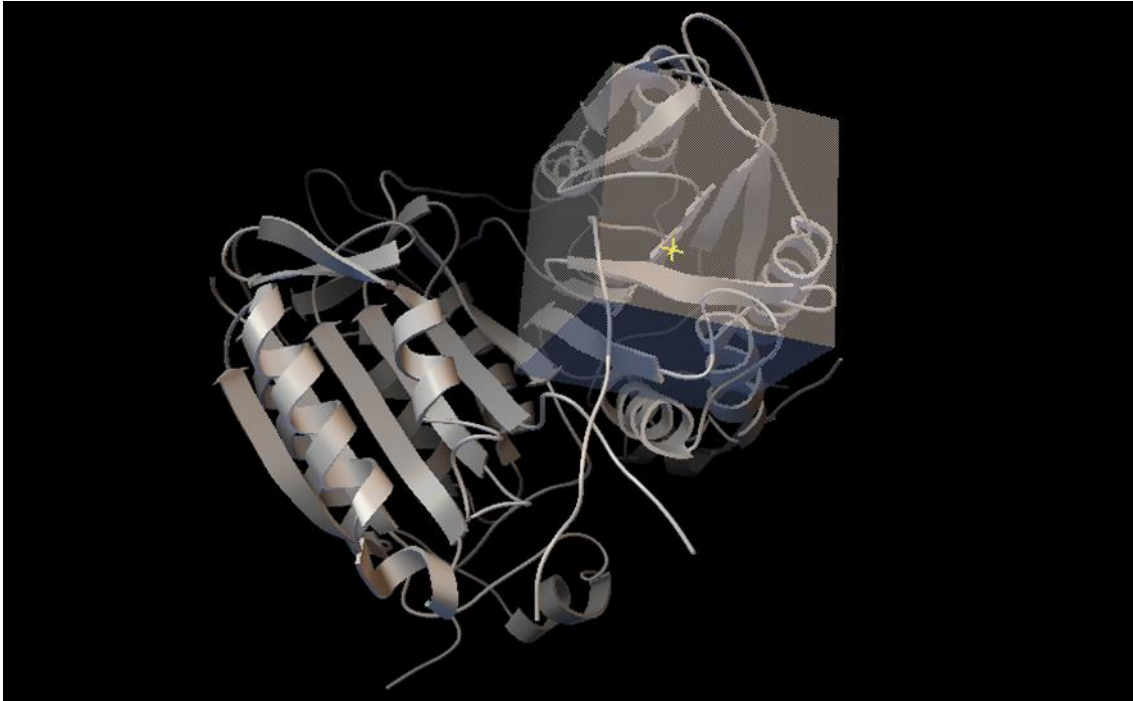


Figura 30. Dimensiones y posición de la Grid en el dominio de CASP1

El siguiente paso fue realizar el Virtual Screening en MTIOpenScreen. A esta herramienta se accede mediante el enlace <https://mobyte.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::MTiOpenScreen> y su página de inicio se muestra en la figura 31.

Figura 31. Página de inicio de MTIOpenScreen

Para realizar el virtual screening, se tuvieron que especificar los siguientes parámetros de entrada:

- Se inactiva el modo de demostración

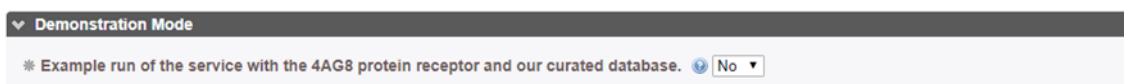


Figura 32. Desactivación del modo demostración en MTIOpenScreen

- Se escogen la colección de compuestos Drugs-lib, una colección de medicamentos aprobados por la FDA que se puede comprar, y que cumpla las características de cabeza de serie (lead-like: yes). Se escogió esta colección porque se está realizando un estudio inicial para explorar la potencialidad como dianas.



Figura 33. Selección de la colección de compuestos que se utilizará en el Virtual Screening

También se introdujeron el receptor y los parámetros de la Grid, en el caso de DAO fue un archivo pdb con dominio, descargado des de DrugEBllity, en el que se eliminaron los ligandos 4252438\_vt.pdb.

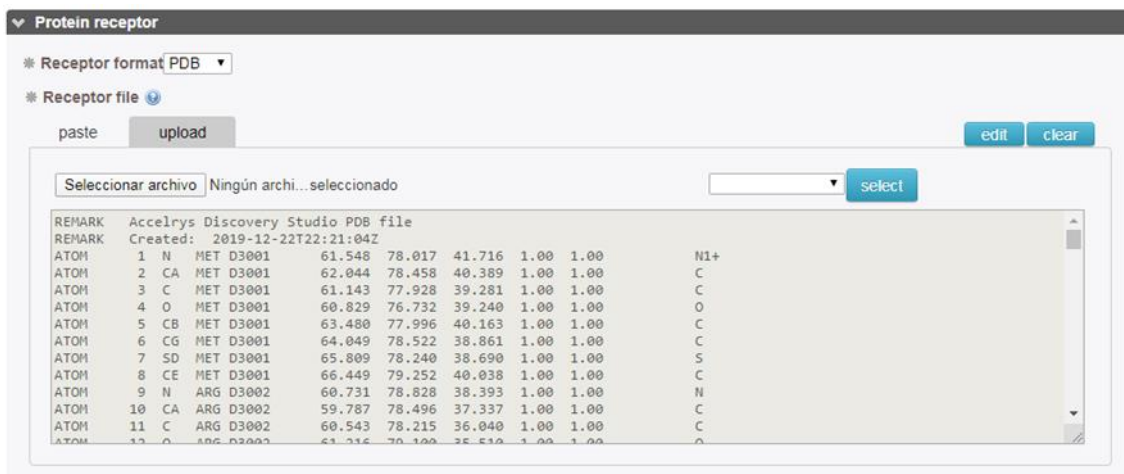


Figura 34. Introducción del receptor en MTIOpenScreen

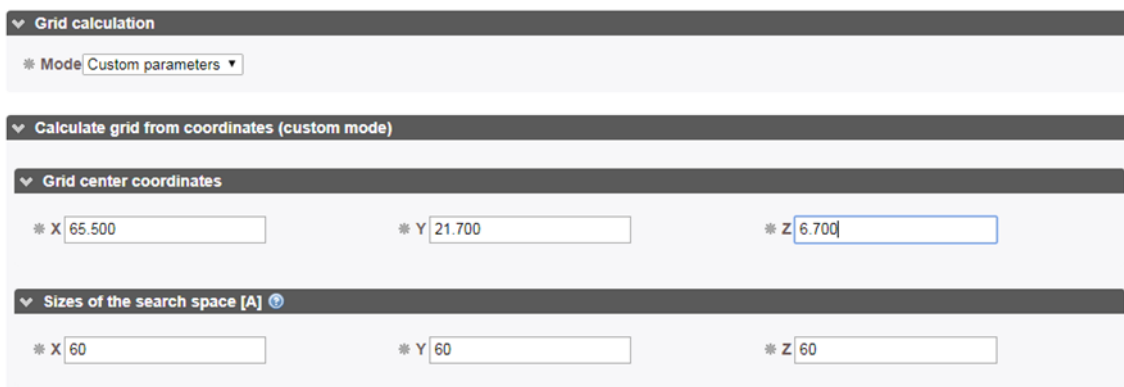


Figura 35. Introducción de los parámetros de la Grid calculados con Autodocktools



Los resultados obtenidos fueron de 215 fármacos unidos al dominio de DAO.

Compound	Model ID	Energy	nRot
Flumatinib_ZINC000068244727	1	-13.6	8
Azd3514_ZINC000101673084	1	-13.0	7
Abemaciclib_ZINC000072318121	1	-12.2	7
Cabozantinib_ZINC000070466416	1	-11.8	8
Doconazole_ZINC000001567316	1	-11.8	7
Tulopafant_ZINC000002016001	1	-11.7	5
Metrenperone_ZINC000000537997	1	-11.1	5
Tiospirone_ZINC000001915508	1	-11.1	6
Pimobendan_ZINC000005071680	1	-10.9	3
Pimobendan_ZINC000004170129	1	-10.8	3
Ketotrexate_ZINC000008628601	1	-10.8	11
Ce-224535_ZINC000034662892	1	-10.7	10
Balaglitazone_ZINC000001489816	1	-10.7	5
Falnidamol_ZINC000001494443	1	-10.7	4
Serazapine_ZINC000003775351	1	-10.6	2
Lioldine_ZINC000000537922	1	-10.6	5

Figura 36. Listado de modelos de unión del dominio de DAO

Como se observa en la figura 36, el mejor modelo de unión es el que se corresponde con el fármaco Flumatinib. Este modelo tiene una energía de interacción de -13.6 kcal/mol.

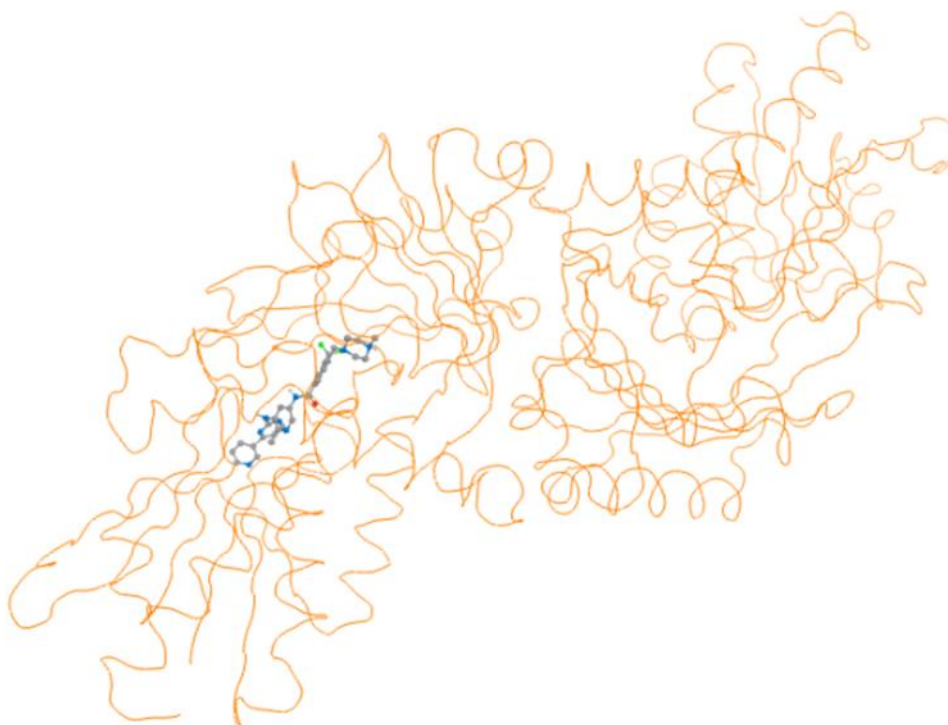


Figura 37. Unión del Flumatinib al sitio 1 del dominio de DAO

Para hacer el Virtual Screening de CASP1 se especificaron los mismos parámetros y se introdujo como receptor un archivo pdb con dominio, descargado des de DrugEBllity y en el que se han eliminado los ligandos 4180578\_vt.pdb. También se introdujeron los parámetros de la Grid calculados anteriormente.

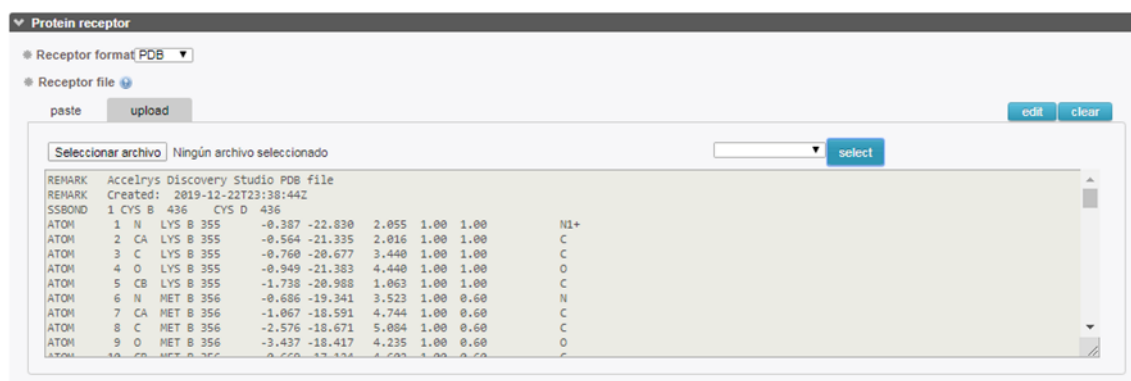


Figura 38. Introducción del receptor en MTIOpenScreen

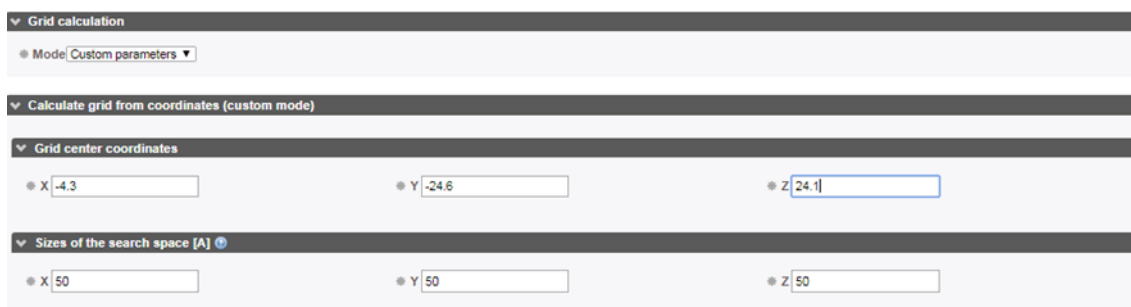


Figura 39. Introducción de los parámetros de la Grid calculados con Autodocktools

Los resultados obtenidos fueron 243 fármacos unidos al dominio de CASP1.

Compound	Model ID	Energy	nRot
Paliperidone_ZINC000004214700	1	-10.4	5
Talnetant_ZINC000001543566	1	-10.0	6
Int131_ZINC000006485945	1	-9.6	5
Mioflazine_ZINC000022463073	1	-9.4	10
Lumacaftor_ZINC000064033452	1	-9.4	5
Proscillaridin_ZINC000056897526	1	-9.3	7
Doconazole_ZINC000001567316	1	-9.2	7
Metrenperone_ZINC000000537997	1	-9.1	5
Phthalylsulfacetamide_ZINC000000538163	1	-9.1	5
Cipemastat_ZINC000000600699	1	-9.1	8
Galdanetron_ZINC000000003706	1	-9.1	2
Sabeluzole_ZINC000004214288	1	-9.1	8
Ketotrexate_ZINC000008628601	1	-9.0	11
Polydatin_ZINC000003881962	1	-9.0	11
Tegobuvir_ZINC000100057121	1	-9.0	6
Pimobendan_ZINC000005071680	1	-8.9	3
Fenticonazole_ZINC000001542894	1	-8.9	8

Figura 40. Listado de modelos de unión del dominio de CASP1

Como se observa en la figura 40, el mejor fármaco es la Palepiredona, con una energía de interacción de -10.4 Kcal/mol.

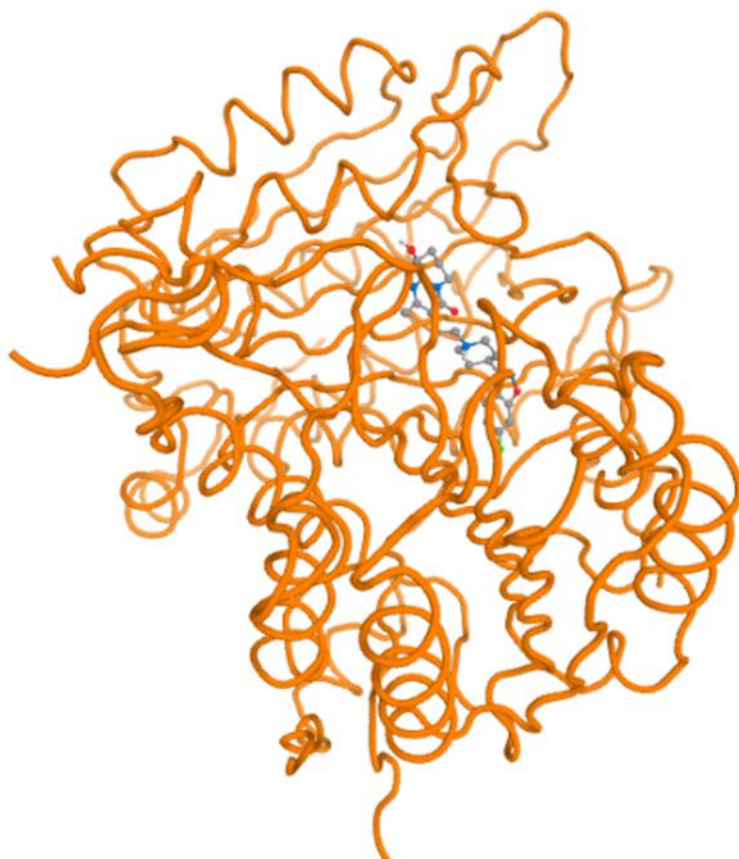


Figura 41. Unión de Palepiredona con el sitio 1 del dominio de CASP1



## 4. Conclusiones

Este proyecto me ha ayudado a comprender la importancia de las herramientas computacionales y de la bioinformática para incrementar la eficiencia de ciertos procesos, que de otra forma requerirían de mucho tiempo.

Por lo que respecta a los objetivos planteados al inicio, se han cumplido todos los definidos, por lo tanto:

1. La búsqueda bibliográfica que he realizado sobre la ELA me ha ayudado a entender mejor la complejidad de la enfermedad a causa de la dificultad que existe para diagnosticarla, el desconocimiento de sus causas y el bajo número de fármacos y su poca eficacia para lidiar con ella.
2. Se han encontrado un total de 245 genes relacionados con la ELA a partir de diversas bases de datos. De entre todos ellos, se han seleccionado aquellos genes que estaban asociados a alguna área de acción definida, obteniendo un total de 128 genes.
3. Gracias a la integración de los datos y al uso de GeneMANIA, se ha realizado una selección de 2 genes debido a las áreas de acción a las que estaban asociadas.
4. Se buscaron ambas dianas y ninguna estaba descrita como diana para la ELA y ninguno de los fármacos asociados a estas dianas parecían ser un posible tratamiento. Por estos motivos, en este trabajo se priorizó el estudio de viabilidad y “druggability” de estas moléculas.
5. Se ha comprobado la viabilidad de DAO y CASP1, encontrando un dominio con sitios de unión “druggables” para cada uno y se ha obtenido una lista de fármacos que pueden unirse a ellos.

Con respecto a la planificación, al principio se había planteado escoger los genes con una mayor relevancia con respecto a la ELA y que a la vez presentaran un mayor número de interacciones pero debido a los resultados se seleccionaron las dianas con otros motivos. En este caso las dianas se escogieron por estar asociadas a dos áreas de acción y siendo los dos únicos genes que presentaban la acumulación de proteínas como una de ellas.

En la fase final de este trabajo tuve ciertas dificultades ya que se decidió realizar el test de “drugabilidad” con Open Targets, una base de datos, pero en este caso el test se realizaba para todo el gen y no los dominios. Debido a estos resultados, en el momento de hacer el “Virtual Screening” en MTIOpenScreen tuve problemas para que la herramienta analizará el archivo pdb. Para solucionar este problema se decidió realizar el test con DrugEBllity, con el que obtuve el dominio más apropiado para hacer de diana y así se pudo realizar el “Virtual Screening” para ambas dianas.



## 5. Bibliografía

- [1] AutoDock. © 1989-2020. [consulta: 3 Enero 2020]. Disponible en: <http://autodock.scripps.edu/resources/adt>
- [2] BAN, Jelena, et al., 2019. Glia in amyotrophic lateral sclerosis and spinal cord injury: common therapeutic targets. *Croat Med J.* [en línea], vol. 60, no. 2, pp. 109-120. [consulta: 7 octubre 2019]. DOI: 10.3325/cmj.2019.60.109. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6509626/>
- [3] Cytoscape App Store. [consulta: 2 Enero 2020]. Disponible en: <http://apps.cytoscape.org/apps/genemania>
- [4] DE LA TORRE DÍEZ, Isabel, 2013. Análisis de Fuentes de Datos Públicas Relevantes para la Historia Clínica Electrónica (HCE). *RevistaeSalud.com.* [en línea], vol. 9, no. 34. [consulta: 2 Enero 2020]. ISSN: 1698 7969. Disponible en: <file:///C:/Users/luciano/Downloads/Dialnet-AnalisisDeFuentesDeDatosPublicasRelevantesParaLaHi-4339739.pdf>
- [5] DrugBank. 2006-2019. [consulta: 16 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://www.drugbank.ca/about>
- [6] DrugEBllity. © EMBL-EBI 2019. [consulta: 16 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/drugability/blast/search>
- [7] FRANZ, Max, et al., 2018. GeneMANIA Update 2018. *Nucleic Acids Research.* [en línea], vol. 46, issue W1, pp. W60-W64. [consulta: 2 Enero 2020]. DOI: 10.1093/nar/gky311. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6030815/>
- [8] Fundación Española para el Fomento de la Investigación de la Esclerosis Lateral Amiotrófica. © FUNDELA 2004-2014 .[consulta: 3 Enero 2020]. Disponible en: <https://www.fundela.es/>
- [9] GeneMANIA. 1827-2019. [consulta: 18 Noviembre 2019]. Disponible en: <https://genemania.org>
- [10] MalaCards: Human Disease Database. © 1996-2019. [consulta: 18 Noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.malacards.org>
- [11] Mayo Clinic Staff. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)[en línea] . *Mayo Foundation for Medical Education and Research*, 1998-2019. [consulta: 6 octubre 2019]. Disponible en: [www.mayoclinic.org/diseases-conditions/amyotrophic-lateral-sclerosis/symptoms-causes/syc-203540272](http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/amyotrophic-lateral-sclerosis/symptoms-causes/syc-203540272)
- [12] MORIMOTO, Satoru, et al., 2019. Ropinirole hydrochloride remedy for amyotrophic lateral sclerosis – Protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled, single-center, and open-label continuation phase I/IIa clinical trial (ROPALS

trial). *Regenerative Therapy* [en línea], vol. 11, pp. 143-166. [consulta: 6 octubre 2019]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reth.2019.07.002>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352320419300458?via%3Dihub>

[13] MTiOpenScreen. [consulta: 3 Enero 2020]. Disponible en: <https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/MTiOpenScreen/>

[14] MUÑOZ DE FRUTOS, Ana. ¿Qué es Google Académico y cómo funciona? [en línea]. *Computer Hoy*. 24 Octubre 2017. [consulta: 2 Enero 2020]. Disponible en: <https://computerhoy.com/noticias/internet/que-es-google-academico-como-funciona-52486>

[15] NC State University Libraries. [consulta: 2 enero 2020]. Disponible en: <https://www.lib.ncsu.edu/articles/google-scholar/>

[16] National Institute of Neurological Disorders and Stroke. [consulta: 2 enero 2020]. Disponible en: [https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/esclerosis\\_lateral\\_amiotrofica.htm](https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/esclerosis_lateral_amiotrofica.htm)

[17] OKADA, Masamitsu, et al., 2018. Long-term effects of edaravone on survival of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *eNeurologicalSci* [en línea], pp. 11-14. [consulta: 6 octubre 2019]. DOI 10.1016/j.ensci.2018.05.001. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6006910/>

[18] OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man. © 1966-2019. [consulta: 18 Noviembre 2019]. Disponible en: <https://omim.org>

[19] Protein Data Bank. © EMBL 2019. [consulta: 3 Enero 2020]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/>

[20] PubMed.gov. [consulta 3 Enero 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

[21] RALLI, Massimo, et al., 2019. Amyotrophic Lateral Sclerosis: Autoimmune Pathogenic Mechanisms, Clinical Features, and Therapeutic Perspectives. *MAJ* [en línea], vol. 21, no. 7, pp. 438-443. [consulta: 6 octubre 2019]. PMID: 31507117. Disponible en: <https://www.ima.org.il/FilesUpload/IMAJ/0/371/185509.pdf>

[22] Rouillard AD, Gundersen GW, Fernandez NF, Wang Z, Monteiro CD, McDermott MG, Ma'ayan A. The harmonizome: a collection of processed datasets gathered to serve and mine knowledge about genes and proteins. *Database* (Oxford). 2016 Jul 3;2016. pii: baw100. [consulta: 18 Noviembre 2019]. Disponible en: <http://amp.pharm.mssm.edu/Harmonizome/>

[23] RPBS Web Portal: MTiOpenScreen. 2009-2019. [consulta: 16 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://mobyte.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::MTiOpenScreen>

[24] SALA, Gessica, et al., 2019. Riluzole Selective Antioxidant Effects in Cell Models Expressing Amyotrophic Lateral Sclerosis Endophenotypes. *Clinical*



*Psychopharmacology and Neuroscience* [en línea], vol. 17, no. 3, pp. 438-442. [consulta: 6 octubre 2019]. DOI: <https://doi.org/10.9758/cpn.2019.17.3.438>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6705104/>

[25] TRIAS, Emiliano, et al., 2016. Post-paralysis tyrosine kinase inhibition with masitinib abrogates neuroinflammation and slows disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroinflammation* [en línea], vol. 13, no. 177. [consulta: 6 octubre 2019]. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0620-9>. Disponible en: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-016-0620-9>

[26] VALKO, Klara y CIESLA, Lukasz, 2019. Amyotrophic lateral sclerosis. Progress in Medicinal Chemistry [en línea], vol. 58, pp. 63-117. [consulta 8 octubre 2019]. DOI <https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2018.12.001>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079646818300158?via%3Dihub>