



DERLEME

ALS PATOFİZYOLOJİSİ: NEYİ, NE KADAR BİLİYORUZ?

Kayıhan Uluç, Barış İşak, Tülin Tanrıdağ, Önder Us

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amyotrofik lateral skleroz (ALS) esas olarak serebral korteks, beyin sapı ve spinal korddaki motor nöronları etkileyen progresif seyirli nörodejeneratif bir hastalıktır. Çoğu vakanın sporadik olduğu ALS'de familyal geçiş %5-10'dur ve bunların yaklaşık olarak %10-20'sinde neden süperoksid dismutaz-1 enziminde meydana gelen mutasyondur. Familyal ve sporadik vakaların klinik ve patolojik bulguları birbirlerine büyük benzerlikler göstermektedir. Bu özgün derleme yazısında ALS'nin patofizyolojisinde etkili olduğu öne sürülen mekanizmalar varsayımsal tümleyici bir model ile tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: ALS, Patofizyoloji, Varsayımsal tümleyici model

PATHOPHYSIOLOGY OF ALS: WHAT AND HOW MUCH DO WE KNOW?

ABSTRACT

Amyotrophic lateral sclerosis is a progressive neurodegenerative disorder, primarily involving motor neurons in the cerebral cortex, brainstem and spinal cord. Most cases are sporadic, although 5-10% are familial, with 10-20% being linked to mutations in the enzyme superoxide dismutase-1. The clinical and pathological features of familial and sporadic cases are strikingly similar. In this review, the proposed mechanisms underlying the pathophysiology of ALS are focused with a hypothetical integrative model.

Keywords: ALS, Pathophysiology, Hypothetical integrative model

GİRİŞ

Amyotrofik lateral skleroz (ALS) esas olarak serebral korteks, beyin sapı ve spinal korddaki motor nöronları etkileyen progresif seyirli nörodejeneratif bir hastalıktır¹. Bir zanaatkarın oğlu olarak 1825 yılında Paris'te doğan ve sadece dönemine değil günümüzün tıp dünyasına da nöroanatomi, klinik nöroloji, psikiyatri ve genel tıp dallarında sayısız eser bırakan Jean-Martin Charcot tarafından 1874 yılında tanımlanan bu hastalık adını gri cevher (amyotrofi) ile beyaz cevheri (lateral skleroz) eş zamanlı tutmasından almıştır². Charcot hastalığı, motor nöron hastalığı, Lou Gehrig (Amerikalı ünlü bir beyzbol oyuncusu) hastalığı adlarıyla da anılan bu hastalığın insidansının yaklaşık olarak 1-

2/100.000, prevalansının ise 1-9/100.000 olduğu bildirilmektedir^{3,4}. Erkeklerde kadınlara oranla 1.7 kat daha fazla görüldüğü bildirilse de, son 40 yıl içinde yapılmış olan çalışmalarda bu oranın giderek azaldığı gözlenmektedir⁴. ALS'li çoğu vaka 2-3 yıl içinde kaybedilmekte, 5 yıllık sağkalım oranı %10-20 olarak bildirilmektedir⁵. Çoğu vakanın sporadik olduğu ALS'de familyal geçiş %5-10'dur ve bunların yaklaşık olarak %10-20'sinde neden Cu/Zn süperoksid dismutaz-1 (SOD1) enziminde meydana gelen mutasyondur. Familyal ve sporadik vakaların klinik ve patolojik bulguları birbirlerine büyük benzerlikler göstermektedir. ALS, klinik olarak kolayca tanınabilse de, altta yatan patofizyolojik süreçlerin çeşitliliği patofizyolojisinin karışık olduğu düşüncesini

İletişim Bilgileri:

Dr. Kayıhan Uluç

Nöroloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi Hastanesi, Marmara Üniversitesi, Altunizade, İstanbul, Türkiye

e-mail: kayihanu@yahoo.com

Marmara Medical Journal 2008;21(1):102-111



doğurmuştur. Aslında bu görece karışıklık, birbiriyle ilişkisi olan ve birbirinden beslenen birden fazla mekanizmanın oluşturduğu döngülerin anlaşılması ile aşılabilir.

Bu özgün derleme yazısında ALS'nin patofizyolojisinde etkili olduğu düşünülen mekanizmalar incelenecek, niçin selektif motor nöron hasarı olduğu, mesane ve ekstraoküler kas fonksiyonlarının niçin korunduğu tartışılacak, familial ALS (FALS) için öne sürülen patofizyolojik mekanizmalarının, sporadik ALS'yi öngörüp göremeyeceği cevaplanmaya çalışılacaktır.

ÖNE SÜRÜLEN MEKANİZMALAR:

1. SOD1 MUTASYONU (Genetik ALS, Familial ALS): Süperoksid dismutaz enzim ailesinin üç üyesi olup, SOD1 (Cu-Zn SOD / sitozolik SOD) enzimi familial ALS ile ilişkili olmaktadır. Otozomal dominant, X'e bağlı ve otozomal resesif geçişi bildirilen ALS'nin familial formu, sporadik form ile dikkati çeker tarzda benzerlik gösterdiğinden SOD mutasyonlarının etkilerini anlamak sporadik ALS hastalığının biyokimyasal temellerine ışık tutabilir.

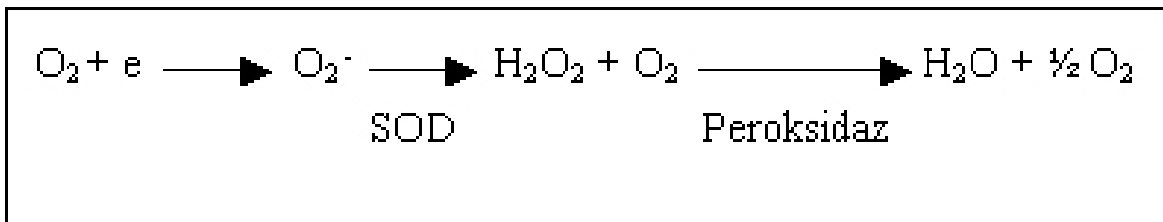
ALS'li hastalarda SOD1 mutasyonuna ilişkin ilk yayın 1993 yılında çıkmıştır⁶. O evrede yalnızca 13 adet olarak saptanan mutasyon sayısı günümüzde 100'ü geçmiştir^{7,8}. Bu mutasyonların çoğu nokta mutasyonu, geri kalanı ise az sayıda delesyon veya insersiyondur⁹.

Görece olarak az sayıda bulunan motor nöronlar, somatik çapları geniş, aksonları uzun, metabolik hızları yüksek ve oksidatif strese yatkın hücrelerdir^{10,11}. Güçlü bir oksidan olan oksijen molekülü, başka moleküllerden elektron alarak diğer güçlü oksidan molekülü olan süperoksid anyonuna dönüşmektedir. SOD enzimi bu aşamada

devreye girmekte ve antioksidan etkiyle süperoksidi hidrojen perokside dönüştürmektedir (Şekil 1).

Familial ALS'de mutasyona uğramış SOD1 enzimi sitotoksiktir. Bu sitotoksiste için öne sürülen mekanizmalardan biri, SOD1 fonksiyon kaybının başlattığı apoptotik süreçtir^{12,13}. Ancak bu varsayımsal mekanizmaya karşı veri, SOD1'in ortadan kaldırıldığı hayvan modellerinde motor nöron ölümünün gerçekleşmemesi ile sunulmuştur¹⁴. Yani, SOD1'in sitotoksik olması için ortamda bulunması ama antioksidan görevini yerine farklı bir göreve sahip olması gerekmektedir^{9,15}. Mutasyondan sonra ortaya çıkan SOD1 enzimi, çinkodan-eksik formdur. Bu yeni gelişen anormal form, süperoksid temizleme görevini bırakıp, hücresel antioksidanlardan elektron çalmakta ve bu elektronları oksijene taşıyarak daha fazla süperoksid oluşmasına neden olmaktadır. Fazladan oluşan süperoksid ve onunla çok hızlı reaksiyona giren peroksinitrit nitrozatif strese ve apoptoza neden olmaktadır⁹.

FALS patogenezinde bir diğer önemli mekanizma nörofilamanların nitrasyonudur^{9,16,17}. Motor nöronlar, uzun aksonları yüzünden çok sayıda, birbirleriyle ilişkide olan nörofilaman proteini içermektedir. Nörofilamanların bir araya gelişi engellendiğinde, ki bu engellemeyi mutant SOD1 enziminin ürettiği peroksinitrit gerçekleştirmektedir, nörofilaman alt ünitelerindeki çok sayıda tirozin nitrasyonuna karşı açık hale gelmektedir¹⁷. Nitrasyon uğramış küçük bir nörofilaman alt ünitesi, nitratlanmamış nörofilaman ağlarını bozmakta ve ALS'de dejenerasyon motor nöronların soma ve proksimal aksonlarında bulunan aberan nörofilaman agregatları oluşmaktadır¹⁸.



Şekil 1: SOD enziminin işlevi



Nörofilamanların önemli özelliklerinden biri muazzam derecede çinko bağlama kapasiteleridir ki, nörofilamanlar invitro koşullarda SOD ile çinko bağlama özellikleri açısından yarışabilirler. Motor nöronlardaki yoğun nörofilaman konsantrasyonu, bu filamanların yüksek çinko bağlama kapasiteleri ile birleştiğinde bu bulgular, ALS'de motor nöronların spesifik olarak SOD ile hasarlanmasını açıklayabilir. Nörofilamanlar ve çinko-eksik SOD'lar arasındaki ilişki motor nöronların ölümü ile sonuçlanan tehlikeli bir döngüye sebep olabilir. Nörofilamanlara bağlanan çinko arttıkça, daha fazla çinko-eksik SOD birikecek, daha fazla peroksinitrit oluşacak, bu peroksinitrit nörofilamanları nitraze edecek, ve apoptozu aktive edecek yeterli peroksinitrit oluşana kadar daha fazla nörofilaman agregatı oluşacaktır⁹. Öne sürülen bir başka mekanizma ise mutant SOD1 proteininin yapısının kararsız hale gelmesi, yanlış katlanması ve hücre içinde çözünmeyen toksik agregatlar halinde birikmesidir¹⁹⁻²¹. Bu agregatların, doğrudan ve dolaylı olarak motor nöronlar için toksik olduğu ve onların ölümünü tetiklediği öne sürülmektedir.

2. EKSİTOTOKSİSİTE / Kalsiyum VARSAYIMI: Santral sinir sisteminin ana eksitator nöromediatörü olan glutamatın anormal artmış aktivitesine bağlı gelişen hücre ölümü olarak özetlenebilecek eksitotoksiste, özellikle inme ve kafa travmasından sonra akut evrede gelişen hücre ölümüyle ilişkilendirilmiştir. Ancak, yapılan çalışmalar yavaş gelişen nörodejeneratif hastalıklarda da eksitotoksistenin rolünü

vurgulamaktadır. Glutamat toksisitesinin anlaşılabilmesi için normal glutamat döngüsünün bilinmesi gereklidir.

Glutamat, presinaptik nöronlarda ya *glutaminaz* enzimi sayesinde *glutamin*'den ya da *glutamat dehidrogenaz* enzimi tarafından *alfa-ketoglutarat*'dan elde edilir. Sinaptik boşluğa geçtiğinde postsinaptik bölgede yer alan reseptörleri ile etkileşime geçer. Bu reseptörler, iyonotrofik olan NMDA, AMPA/kainat reseptörleri ile 3 grup metabotrofik (G proteini ile ilişkili olan) reseptördür. Reseptör aktivasyonu ile hücre içine kalsiyum girişi gerçekleşir. Glutamatın postsinaptik reseptörler üzerinde yapmış olduğu uyarıcı sinyalin sonlandırılması aktif bir işlemi gerektirmekte olup, bu işlemi gerçekleştiren taşıyıcı sistemlerinin çoğu çevre glia hücrelerinde (EAAT1 ve EAAT2) az kısmı ise nöronların üzerindedir (EAAT3). Aktif olarak ortamdaki uzaklaştırılan glutamat, glutamin sentetaz enzimi tarafından glutamine dönüşmekte ve presinaptik nörona geçen glutamin ile glutamat döngüsü yeniden başlamaktadır¹¹.

Eksitotoksistenin gerçekleşmesi için ya glutamat aşırı eksprese edilmeli, veya normal konsantrasyonda olmalı ama etki gösterdiği reseptörler bir şekilde aşırı uyarılmalı veya glutamatın ortamdaki uzaklaştırılmasında bir problem olmalıdır. Günümüzde, ALS patofizyolojisinde glutamatın rolüne ait pek çok kanıt bulunmaktadır (Tablo I). Bu kanıtların doğruluğu çelişkili olup bu yazıda, en çok üzerinde durulan varsayımlar anlatılmaya çalışılacaktır.

Tablo I. ALS patogenezinde glutamat-aracılı toksisitenin rolüne ait kanıtlar

Plazma, BOS ve dokudaki glutamat seviyelerinin artmış olması ²²⁻²⁴
Glutamat taşıyıcı mekanizmalardaki anormallikler ^{11, 25, 26}
ALS'li hastalarda antiglutaminerjik tedavinin etkinliği ²⁷⁻³⁰
Glutamat aracılı mitokondrial hasarlanma ^{31, 32}
Motor nöronlarca eksprese edilen reseptörlerin moleküler profilleri ³³
Bozulmuş NO regülasyonu ¹¹
Motor nöronları eksitotoksisteye maruz bırakan faktörler ^{11, 34}



ALS patofizyolojisinde, glutamat reseptörleri arasında en önemli role AMPA/kainat reseptörleri sahiptir. Yapılan çalışmalar NMDA reseptörlerinin özellikle akut glutamat toksisitesinden sorumlu olduğunu göstermekteyken, NMDA reseptör blokajının ALS için etkin olmadığı saptanmıştır^{35,36}. Öte yandan, insanlarda motor nöron hasarına yol açan 3 çevresel toksinin AMPA reseptörleri üzerinden etki gösteriyor olması³⁷, AMPA reseptör agonistleri hastalığa yol açarken^{38,39}, antagonistlerinin motor nöron hasarını durdurması⁴⁰⁻⁴², AMPA/kainat reseptörlerinin ALS patofizyolojisindeki rolüne işaret etmektedir⁴³. Ayrıca, çoğu AMPA/kainat reseptörü GluR2 AMPA alt üniteleri sayesinde kalsiyum geçişine karşı dirençliyen, motor nöronlarda bu alt ünitenin olmayışının seçici motor nöron ölümüne neden olduğu bildirilmiştir^{38,44,45}.

Hücrelerin eksitotoksisteden korunmasının yollarından biri düzgün kalsiyum homeostazına sahip olmalarıdır. Yoksa, artmış kalsiyum ikincil mesajcı olarak pek çok kaskadı tetiklemekte ve hücre ölümüne neden olmaktadır⁴⁶. Bunun önlenmesi için hücre içinde kompleks bir düzenek bulunmakta ve kalsiyumun toksik etkileri bu sayede önlenmektedir. Ancak, ALS'de kalsiyumun mitokondrial ve sitozolik tamponlanmasının az olduğu^{43,46} ve kalsiyum bağlayıcı proteinlerin ekprese edilmediği bildirilmiştir^{47,48}. Bu tamponlayıcı proteinlerin motor nöron hasarlanmasının erken geliştiği kortikal, spinal ve alt kraniyal sinir motor nöronlarında ekprese edilmediği, geç hasarlanan veya hiç hasarlanmayan motor nöronlarda (Onuf nukleusu, 3-4-6. kraniyal sinir nukleusları) ise yeterli düzeyde ekprese edildikleri gösterilmiştir⁴⁷. Bu veri, ALS'de mesane ve ekstraoküler kas fonksiyonlarının korunmasını açıklayabilir.

Glutamat toksisitesi için, glutamat salınımının artması ve reseptör aktivasyonunda meydana gelen değişiklikler dışında önemli bir diğer mekanizma yukarıda da sözü edilen glutamatın ortamdan kaldırılmasında meydana gelen problemlerdir. Glutamatın etkisinin sonlandırılması için taşıyıcıları tarafından aktif olarak sinaptik aralıktan

uzaklaştırılması gerekmektedir. Glia hücrelerinde yerleşmiş, SSS'de yaygın olarak bulunan ana glutamat taşıyıcısı olan EAAT2'nin (GLT1)⁴⁹, ALS'li hastalarda anlamlı derecede az ekprese edildiği bildirilmiştir^{25,26}. Ayrıca, ALS'de hasarlandığı saptanan EAAT2 taşıyıcılarının, motor nöronların hemen bitişiğinde yer alan astrositik yapılarda konsantre oldukları saptanmıştır^{50,51}. Bu yakın yerleşim, glutamat taşıyıcılarının motor nöronların fonksiyonu ve sağkalımı için önemleri yanında, motor nöronlar tarafından üretilen serbest oksijen radikallerinin (SOR) bu taşıyıcılara karşı olası toksik etkilerini de açıklayabilir. Yakın zamanda gerçekleştirilen invitro çalışmalarda, eksitotoksik aktivasyona cevap olarak motor nöronların yoğun olarak SOR ürettikleri ve bu SOR'larında motor nöronlardan çıktuktan sonra komşu astrositleri hasarladıkları gösterilmiştir⁵⁰. Ancak yine de, glutamat taşıyıcılarında meydana gelen değişikliklerin primer bir hasarı mı gösterdiği yoksa, meydana gelmiş olan motor nöron hasarını kompanze etmek için gelişen koruyucu bir mekanizma mı olduğu hala açıklığa kavuşabilmiş değildir.

3. MİTOKONDRIAL HASARLANMA: Mitokondri, hücrenin enerji kaynağı olan çok önemli bir organelidir. Son yıllarda nörodejenerasyon üzerine yapılan bir çok çalışmada mitokondrinin önemi hem enerji üzerine, hem de intrinsik apoptotik süreçlere olan etkisi nedeni ile vurgulanmaktadır⁷. Sporadik ALS vakalarında mitokondrinin morfolojik ve yapısal anormallikleri ilk olarak otopsi çalışmalarında gösterilmiştir. ALS'li hastaların iskelet kaslarında ve intramusküler sinirlerinde anormal mitokondri agregatları bulunması, proksimal aksonlarında ve spinal kordlarının ön boynuz hücrelerinde morfolojik değişiklikler saptanması bu konudaki örneklerdendir⁵²⁻⁵⁴. ALS'li hastaların kas biyopsilerinde artmış mitokondrial hacim saptanmış ve mitokondrilerin içinde kalsiyum seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir⁵⁵. Ayrıca, ALS'li hastaların mitokondrial solunum zincirinin kompleks 1 ve 4'ünde hata tespit edilmiştir⁵⁶⁻⁵⁸. Sadece sporadik vakalardan değil, aynı zamanda FALS vakalarından gelen veriler,



mitokondrinin ALS patofizyolojisindeki rolünü aydınlatmaktadır^{59,60}. Solunum zincirinde meydana gelen bozukluk, mitokondride artmış kalsiyum yükü ve kalsiyumun yetersiz tamponlanması, SOR üretiminin artması gibi değişik basamaklar sonucunda apoptotik kaskadlar tetiklenmekte, anti-apoptotik mekanizmalar işlevlerini kaybetmektedir.

4. NÖROİNFLAMASYON VARSAYIMI:

Bu konudaki verilerin çoğu, ALS'nin yalnızca motor nöronları değil, aynı zamanda nöronal olmayan, komşu glial hücreleri de etkileyen bir hastalık olduğunun anlaşılmasından sonra elde edilmiştir⁶¹. Mutant SOD1 enziminin tek başına motor nöron hasarı yapmaması, etkin olabilmesi için ortamda mutlaka nöronal olmayan hücrelerin olması gerekliliği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir⁶²⁻⁶⁴. Ayrıca, biyokimyasal kanıtlar ve gen ekspresyon profillemesi ile motor nöron dejenerasyonunun öncesinde ve dejenerasyon sırasında inflamatuvar kaskadların aktive olduğu bildirilmiştir^{65,66}. Mikroglial aktivasyon SOR, nitrik oksit, proteaz ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırmakta ve hücre ölümünü kolaylaştırmaktadır. Normal şartlar altında, aktive olmuş mikroglialların yaratmış olduğu bu durum, astrositlerin koruyucu etkileri ile tamponlanabilirken, ALS'de mikroglialların sitotoksik etkileri, astrositlerin koruyucu etkilerini yenmektedir.

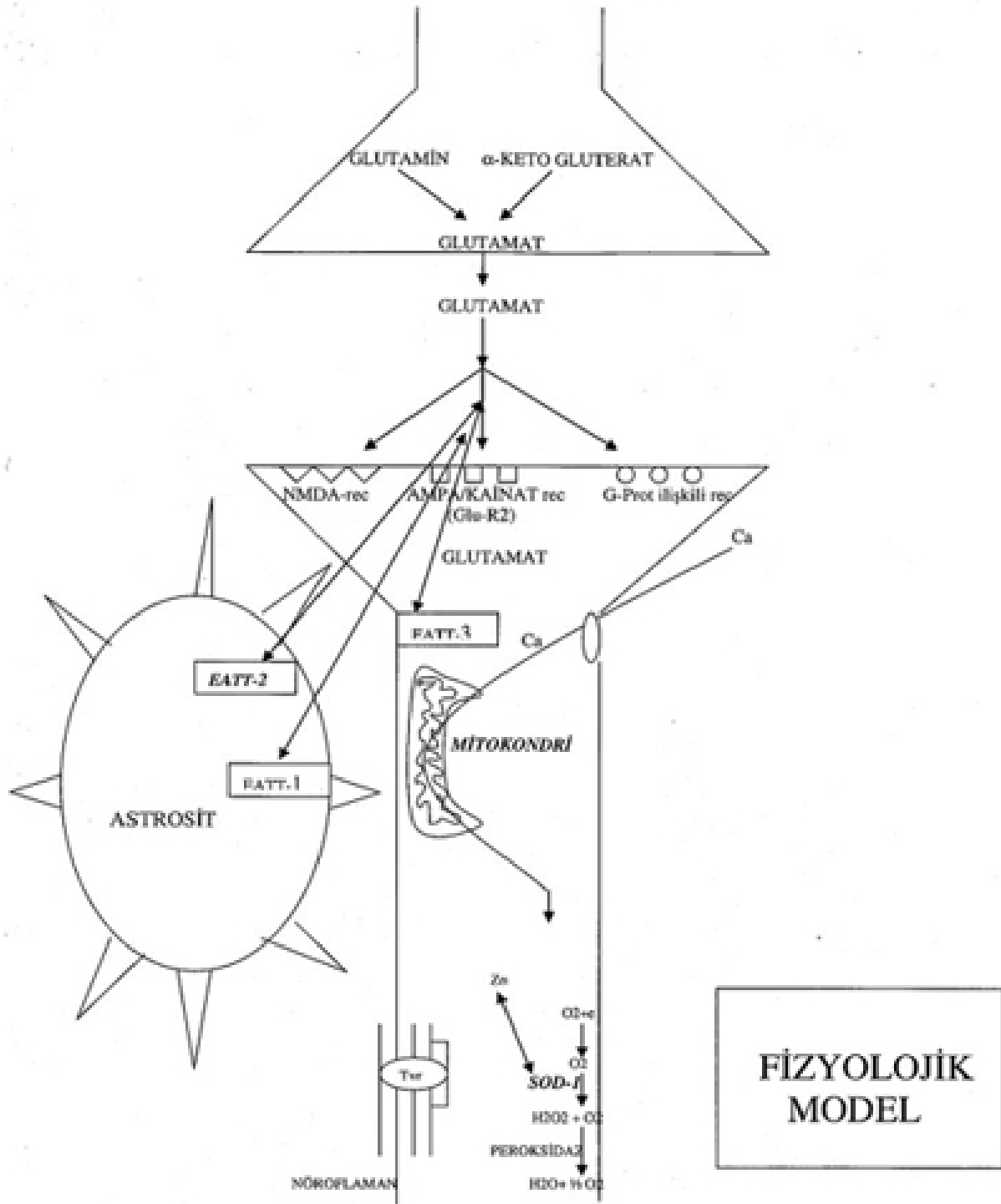
VARSAYIMSAL TÜRLEYİCİ MODEL:

Şu ana kadar açıklanmaya çalışılan mekanizmaları bir araya getirerek normal fizyolojik model ve ALS patofizyolojisi için varsayımsal bir model yaratmak mümkündür (Şekil 2a-2b).

Hipoksi, çevresel toksinler, travma, inflamasyon, infeksiyon, mutant SOD1 veya EAAT2 eksikliğine ikincil olarak glutamat düzeyi artınca, bu glutamat motor nöronlarda yer alan kalsiyum geçirgen-GluR2 alt ünitesi olmayan veya iyi çalışmayan AMPA/kainat reseptörleri üzerinden etki göstermekte ve motor nöron içine yüksek oranda kalsiyum girişine neden olmaktadır. Hem sitozolik, hem de mitokondrial kalsiyum tamponlama mekanizmaları iyi çalışmayan motor

nöronlarda kalsiyumun toksik etkileri ile ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri ve ona eşlik eden nitrozatif stres hem hücre içinde hem de çevre hücrelerde geri dönüşümsüz hasarlanmalara yol açmaktadır. Bu aşamada meydana gelen anormal nörofilaman agregatları ve onların SOD enzimi ile karşılıklı yıkıcı ilişkileri bu hasarlanmayı arttırmaktadır. Hasarlanan organellerden belki de en önemlisi, hücre enerji kaynağı olan mitokondridir. Yüksek oranda enerji ihtiyacı olan, metabolik hızı yüksek, büyük hacimli, uzun aksonlu motor nöronun ana enerji vericisi olan mitokondri hastalandığında motor nöronun sağkalım şansı giderek azalmaktadır. Motor nöronun hasarlanmış mitokondrisinin de arttırdığı oksidatif stres ile komşu mikroglia ve astrosit hücrelerinin bu döngüye katılması, aktive olmuş mikroglia hücrelerinin yarattığı toksik etkiler, bunun tersine koruyucu astrosit hücrelerinin hasarlanması ve yeteri kadar ortamdaki artmış glutamati temizleyememesi bu kısır döngüyü tamamlamaktadır.

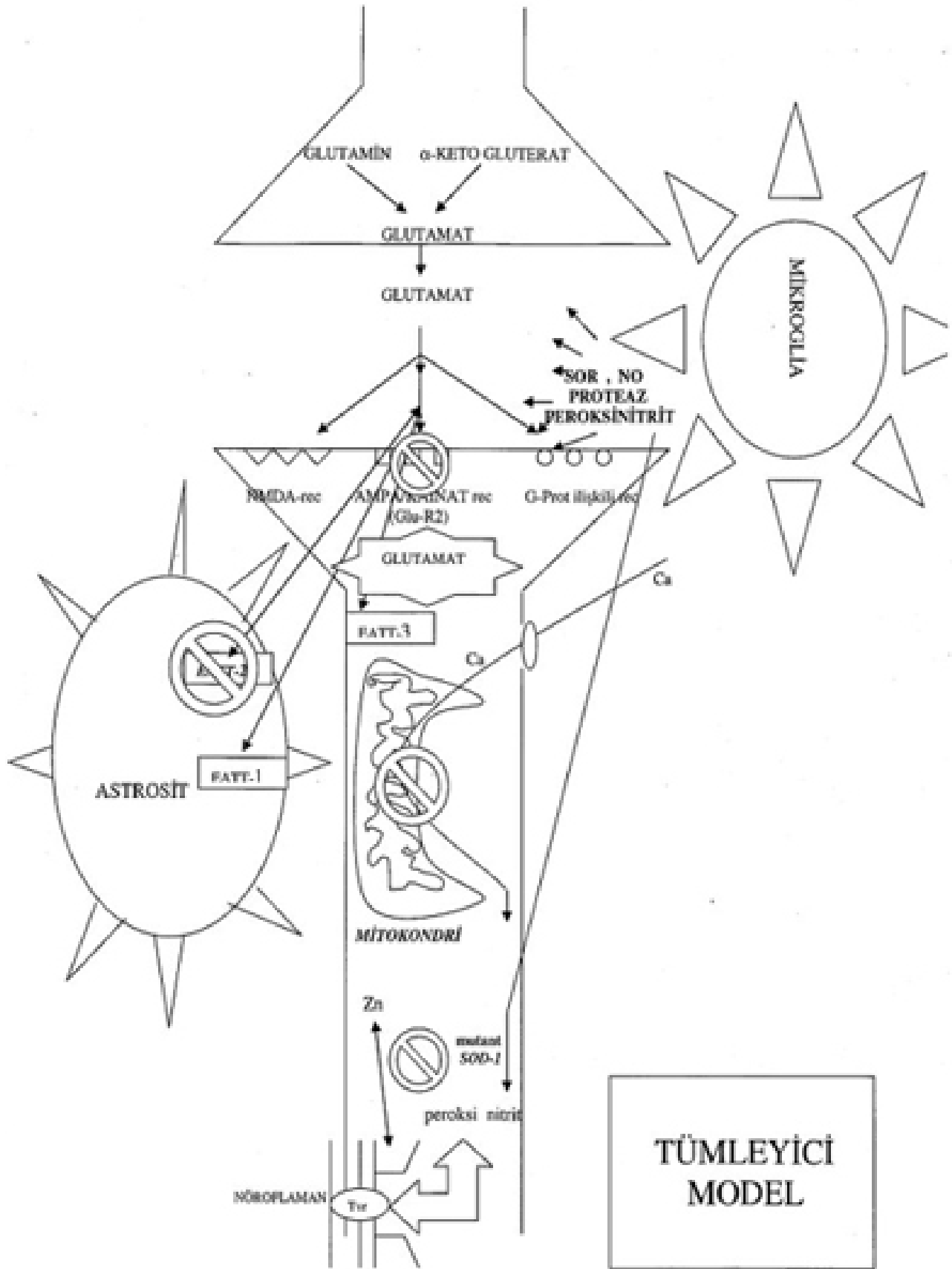
ÇIKARIMLAR: Öne sürülen mekanizmalar değerlendirildiği zaman aslında ALS patofizyolojisinin çok karışık olmadığı anlaşılabilir. FALS patofizyolojisi için öne sürülen pek çok kanıt, sporadik ALS için de geçerlidir. Elimizdeki veriler ışığında bilinmesi gereken, tek bir mekanizmanın değil, birbirini besleyen birden fazla mekanizmanın oluşturduğu bir döngünün varlığıdır. Bu bağlamda, izole bir motor nöron hasarlanmasından ziyade, onun komşuluğunda yer alan mikroglial hücreler ve astrositlerin de işin içine girmesi gerekmektedir. Bu bilgiler bize ALS tedavisinde şimdiye kadar yapılan çoğu çalışmanın başarısızlığının nedenini de söylemektedir. Tek bir mekanizma üzerinden yürütülen tedavi girişimlerinin başarılı olması mümkün görünmemektedir, ancak diğer olası mekanizmaları da bloke edecek bir tedavi kompleksinin etkili olma şansı vardır. Ayrıca, klinik bulgular belirmeden çok önce başlayan nörodejeneratif süreci gösterebilen bir biyolojik belirleyicinin henüz tanımlanmamış olması bir başka dezavantajdır, çünkü tedaviye başlandığında kurtarılacak az sayıda ve yetersiz hücre bulunmaktadır.



**FİZYOLOJİK
MODEL**

KISALTMALAR		
rec: Reseptör	Ca :Kalsiyum	Zn: Çinko
O ₂ : Oksijen	e: Elektron	Tyr: Tirozin
NO: Nitrik oksit		
SOR: Süperoksit radikaller		
H ₂ O ₂ : Hidrojen peroksit		
SOD: Süperoksit dismutaz		

Şekil 2a: Normal fizyolojik model



Şekil 2b: Varsayımsal tümleyici model



KAYNAKLAR

1. Brooks BR. El Escorial World Federation of Neurology criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. Subcommittee on Motor Neuron Diseases/Amyotrophic Lateral Sclerosis of the World Federation of Neurology Research Group on Neuromuscular Diseases and the El Escorial "Clinical limits of amyotrophic lateral sclerosis" workshop contributors. *J Neurol Sci* 1994;124 Suppl:96-107.
2. Goetz CG. Amyotrophic lateral sclerosis: early contributions of Jean-Martin Charcot. *Muscle Nerve* 2000;23:336-343.
3. Nelson LM. Epidemiology of ALS. *Clin Neurosci* 1995;3:327-331.
4. Beghi E, Logroscino G, Chio A, et al. The epidemiology of ALS and the role of population-based registries. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762(11-12):1150-1157.
5. Traynor BJ, Codd MB, Corr B, Forde C, Frost E, Hardiman OM. Clinical features of amyotrophic lateral sclerosis according to the El Escorial and Airlie House diagnostic criteria: A population-based study. *Arch Neurol* 2000;57:1171-1176.
6. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993;362(6415):59-62.
7. Manfredi G, Xu Z. Mitochondrial dysfunction and its role in motor neuron degeneration in ALS. *Mitochondrion* 2005;5:77-87.
8. Vandenberghe N. [Where is the role of the genetic investigations in ALS?]. *Rev Neurol (Paris)* 2006;162 Spec No 2:4S96-94S101.
9. Beckman JS, Estevez AG, Crow JP, Barbeito L. Superoxide dismutase and the death of motoneurons in ALS. *Trends Neurosci* 2001;24(11 Suppl):S15-20.
10. Parkes TL, Elia AJ, Dickinson D, Hilliker AJ, Phillips JP, Boulianne GL. Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons. *Nat Genet* 1998;19:171-174.
11. Heath PR, Shaw PJ. Update on the glutamatergic neurotransmitter system and the role of excitotoxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2002;26:438-458.
12. Rothstein JD, Bristol LA, Hosler B, Brown RH, Jr., Kuncl RW. Chronic inhibition of superoxide dismutase produces apoptotic death of spinal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:4155-4159.
13. Greenlund LJ, Deckwerth TL, Johnson EM, Jr. Superoxide dismutase delays neuronal apoptosis: a role for reactive oxygen species in programmed neuronal death. *Neuron* 1995;14:303-315.
14. Reaume AG, Elliott JL, Hoffman EK, et al. Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. *Nat Genet* 1996;13:43-47.
15. Estevez AG, Sampson JB, Zhuang YX, et al. Liposome-delivered superoxide dismutase prevents nitric oxide-dependent motor neuron death induced by trophic factor withdrawal. *Free Radic Biol Med* 2000;28:437-446.
16. Beckman JS, Carson M, Smith CD, Koppenol WH. ALS, SOD and peroxynitrite. *Nature* 1993;364(6438):584.
17. Crow JP, Ye YZ, Strong M, Kirk M, Barnes S, Beckman JS. Superoxide dismutase catalyzes nitration of tyrosines by peroxynitrite in the rod and head domains of neurofilament-L. *J Neurochem* 1997;69:1945-1953.
18. Bogdanov MB, Ramos LE, Xu Z, Beal MF. Elevated "hydroxyl radical" generation in vivo in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 1998;71:1321-1324.
19. Tiwari A, Hayward LJ. Familial amyotrophic lateral sclerosis mutants of copper/zinc superoxide dismutase are susceptible to disulfide reduction. *J Biol Chem* 2003;278:5984-5992.
20. Hayward LJ, Rodriguez JA, Kim JW, et al. Decreased metallation and activity in subsets of mutant superoxide dismutases associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Biol Chem* 2002;277:15923-15931.
21. Bruijn LI, Houseweart MK, Kato S, et al. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1. *Science* 1998;281:1851-1854.
22. Gredal O, Moller SE. Effect of branched-chain amino acids on glutamate metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1995;129:40-43.
23. Plaitakis A, Caroscio JT. Abnormal glutamate metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1987;22:575-579.
24. Plaitakis A, Constantakakis E, Smith J. The neuroexcitotoxic amino acids glutamate and aspartate are altered in the spinal cord and brain in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1988;24: 446-449.
25. Fray AE, Ince PG, Banner SJ, et al. The expression of the glial glutamate transporter protein EAAT2 in motor neuron disease: an immunohistochemical study. *Eur J Neurosci* 1998;10:2481-2489.
26. Rothstein JD, Van Kammen M, Levey AI, Martin LJ, Kuncl RW. Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1995;38:73-84.
27. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. *N Engl J Med* 1994;330:585-591.
28. Lacomblez L, Bensimon G, Leigh PN, Guillet P, Meininger V. Dose-ranging study of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II. *Lancet* 1996;347(9013):1425-1431.
29. Louvel E, Hugon J, Doble A. Therapeutic advances in amyotrophic lateral sclerosis. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:196-203.
30. Ludolph AC, Meyer T, Riepe MW. The role of excitotoxicity in ALS--what is the evidence? *J Neurol* 2000;247 Suppl 1:17-16.
31. Shaw PJ, Ince PG. Glutamate, excitotoxicity and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 1997;244 Suppl 2:S3-14.
32. Stout AK, Raphael HM, Kanterewicz BI, Klann E, Reynolds IJ. Glutamate-induced neuron death requires mitochondrial calcium uptake. *Nat Neurosci* 1998;1:366-373.
33. Shaw PJ, Ince PG, Matthews JN, Johnson M, Candy JM. N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in the spinal cord and motor cortex in motor neuron disease: a quantitative autoradiographic study using [3H]MK-801. *Brain Res* 1994;637:297-302.



34. Shaw PJ, Eggett CJ. Molecular factors underlying selective vulnerability of motor neurons to neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 2000;247 Suppl 1:117-27.
35. Askmark H, Aquilonius SM, Gillberg PG, Liedholm LJ, Stalberg E, Wuopio R. A pilot trial of dextromethorphan in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993;56:197-200.
36. Blin O, Azulay JP, Desnuelle C, Bille-Turc F, Braguer D, Besse D, et al. A controlled one-year trial of dextromethorphan in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neuropharmacol* 1996;19:189-192.
37. Weiss JH, Sensi SL. Ca²⁺-Zn²⁺ permeable AMPA or kainate receptors: possible key factors in selective neurodegeneration. *Trends Neurosci* 2000;23:365-371.
38. Carriedo SG, Yin HZ, Weiss JH. Motor neurons are selectively vulnerable to AMPA/kainate receptor-mediated injury in vitro. *J Neurosci* 1996;16:4069-4079.
39. Ikonomidou C, Qin Qin Y, Labruyere J, Olney JW. Motor neuron degeneration induced by excitotoxin agonists has features in common with those seen in the SOD-1 transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:211-224.
40. Mennini T, Cagnotto A, Carvelli L, et al. Biochemical and pharmacological evidence of a functional role of AMPA receptors in motor neuron dysfunction in mnd mice. *Eur J Neurosci* 1999;11:1705-1710.
41. Canton T, Bohme GA, Boireau A, et al. RPR 119990, a novel alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid antagonist: synthesis, pharmacological properties, and activity in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;299:314-322.
42. Van Damme P, Leyssen M, Callewaert G, Robberecht W, Van Den Bosch L. The AMPA receptor antagonist NBQX prolongs survival in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett* 2003;343:81-84.
43. Rao SD, Weiss JH. Excitotoxic and oxidative cross-talk between motor neurons and glia in ALS pathogenesis. *Trends Neurosci* 2004;27:17-23.
44. Vandenberghe W, Robberecht W, Brorson JR. AMPA receptor calcium permeability, GluR2 expression, and selective motoneuron vulnerability. *J Neurosci* 2000;20:123-132.
45. Van Damme P, Van Den Bosch L, Van Houtte E, Callewaert G, Robberecht W. GluR2-dependent properties of AMPA receptors determine the selective vulnerability of motor neurons to excitotoxicity. *J Neurophysiol* 2002;88:1279-1287.
46. von Lewinski F, Keller BU. Ca²⁺, mitochondria and selective motoneuron vulnerability: implications for ALS. *Trends Neurosci* 2005;28:494-500.
47. Alexianu ME, Ho BK, Mohamed AH, La Bella V, Smith RG, Appel SH. The role of calcium-binding proteins in selective motoneuron vulnerability in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1994;36:846-858.
48. Ince P, Stout N, Shaw P, et al. Parvalbumin and calbindin D-28k in the human motor system and in motor neuron disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1993;19:291-299.
49. Banner SJ, Fray AE, Ince PG, Steward M, Cookson MR, Shaw PJ. The expression of the glutamate re-uptake transporter excitatory amino acid transporter 1 (EAAT1) in the normal human CNS and in motor neurone disease: an immunohistochemical study. *Neuroscience* 2002;109:27-44.
50. Doble A. The role of excitotoxicity in neurodegenerative disease: implications for therapy. *Pharmacol Ther* 1999;81:163-221.
51. Dong LP, Wang TY. Effects of puerarin against glutamate excitotoxicity on cultured mouse cerebral cortical neurons. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1998;19:339-342.
52. Atsumi T. The ultrastructure of intramuscular nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol (Berl)* 1981;55:193-198.
53. Hirano A, Donnenfeld H, Sasaki S, Nakano I. Fine structural observations of neurofilamentous changes in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1984;43:461-470.
54. Sasaki S, Iwata M. Impairment of fast axonal transport in the proximal axons of anterior horn neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1996;47:535-540.
55. Siklos L, Engelhardt J, Harati Y, Smith RG, Joo F, Appel SH. Ultrastructural evidence for altered calcium in motor nerve terminals in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1996;39:203-216.
56. Wiedemann FR, Winkler K, Kuznetsov AV, et al. Impairment of mitochondrial function in skeletal muscle of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1998;156:65-72.
57. Vielhaber S, Kunz D, Winkler K, et al. Mitochondrial DNA abnormalities in skeletal muscle of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2000;123 (Pt 7):1339-1348.
58. Borthwick GM, Johnson MA, Ince PG, Shaw PJ, Turnbull DM. Mitochondrial enzyme activity in amyotrophic lateral sclerosis: implications for the role of mitochondria in neuronal cell death. *Ann Neurol* 1999;46:787-790.
59. Dal Canto MC, Gurney ME. Neuropathological changes in two lines of mice carrying a transgene for mutant human Cu,Zn SOD, and in mice overexpressing wild type human SOD: a model of familial amyotrophic lateral sclerosis (FALS). *Brain Res* 1995;676:25-40.
60. Wong PC, Pardo CA, Borchelt DR, Lee MK, Copeland NG, Jenkins NA, et al. An adverse property of a familial ALS-linked SOD1 mutation causes motor neuron disease characterized by vacuolar degeneration of mitochondria. *Neuron* 1995;14:1105-1116.
61. Sargsyan SA, Monk PN, Shaw PJ. Microglia as potential contributors to motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. *Glia* 2005;51:241-253.
62. Gong YH, Parsadanian AS, Andreeva A, Snider WD, Elliott JL. Restricted expression of G86R Cu/Zn superoxide dismutase in astrocytes results in astrocytosis but does not cause motoneuron degeneration. *J Neurosci* 2000;20:660-665.
63. Lino MM, Schneider C, Caroni P. Accumulation of SOD1 mutants in postnatal motoneurons does not cause motoneuron pathology or motoneuron disease. *J Neurosci* 2002;22:4825-4832.
64. Clement AM, Nguyen MD, Roberts EA, et al. Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science* 2003;302(5642):113-117.



65. Elliott JL. Cytokine upregulation in a murine model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res Mol Brain Res* 2001;9:172-178.
66. Yoshihara T, Ishigaki S, Yamamoto M, Liang Y, Niwa J, Takeuchi H, et al. Differential expression of inflammation- and apoptosis-related genes in spinal cords of a mutant SOD1 transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 2002;80:158-167.