

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

ANTONIO EMANUEL DOS SANTOS
KEDSON ABREU SOUZA

EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA ESCLEROSE
LATERAL AMIOTRÓFICA

BELÉM
2006

**ANTONIO EMANUEL DOS SANTOS
KEDSON ABREU SOUZA**

EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

Trabalho de Conclusão de curso apresentado para
obtenção do grau em medicina pela Universidade
Federal do Pará, sob orientação do Prof. Albedy
Bastos.

**BELÉM
2006**

ANTONIO EMANUEL DOS SANTOS
KEDSON ABREU SOUZA

EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

Trabalho de conclusão de curso apresentado para obtenção do grau em medicina pela Universidade Federal do Pará sob orientação do Prof^o. Albedy Bastos.

BANCA EXAMINADORA:

Orientado por:

Prof. Albedy Bastos

Professor (a):

Professor (a):

Apresentado em: ____ / ____ / ____

Conceito Final: _____

“ Aos pacientes com esclerose lateral amiotrófica e a
seus cuidadores.”

AGRADECIMENTOS

A nossas famílias, que nos deram o privilégio de estudar;

Ao Prof. Albedy Bastos pela contribuição preciosa;

A nossos amigos pelas palavras de esperança nas dificuldades;

A todos que colaboraram nas diversas etapas de elaboração deste trabalho.

“Um país se faz de homens e livros.”

Monteiro Lobato

RESUMO

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é uma doença neurológica rapidamente progressiva e fatal, bem conhecida, causada pela perda de neurônios motores cerebrais e espinhais. A agregação familiar da ELA é considerada um fator de risco maior para o desenvolvimento da doença. A ELA familiar (ELAF) é clínica e geneticamente heterogênea. Sete genes e relações com outros 5 loci foram identificados até o momento e podem tanto causar a ELA, quanto levar à neurodegeneração multissistêmica, tendo a ELA como um sintoma ocasional. Este trabalho objetiva apresentar uma tentativa de classificação dos genes “maiores” e de “susceptibilidade” para o desenvolvimento da ELA, os quais podem atuar como fatores de susceptibilidade para a neurodegeneração em interação com outros fatores de risco, genéticos ou ambientais. Considerando que as mutações nos genes da ELA explicam aproximadamente 10% dos casos, tanto de ELA familiar quanto de ELA esporádica, e que a maioria dos casos restantes são resultados da interação entre diversos genes e fatores ambientais, a ELA continua sendo um paradigma na pesquisa de doenças multifatoriais.

PALAVRAS-CHAVES: ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA;
NEURODEGENERAÇÃO; NEURÔNIOS MOTORES

ABSTRACT

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a well known rapidly progressive and fatal neurological disease, caused by the loss of motor neurons in the brain and spinal cord. Familial aggregation of ALS is considered a major risk factor for ALS. Familial ALS (FALS) is clinically and genetically heterogeneous. Seven genes and linkage to five additional gene loci have been identified so far and may either lead to ALS (ALS1-ALS8) or multisystem neurodegeneration with ALS as an occasional symptom. This work points to present a tentative classification of the “major” and “susceptibility” ALS genes, that may act as susceptibility factors for neurodegeneration in interaction with other genetic or environmental risk factors. Since mutations in ALS genes explain approximately 10% of either familial and sporadic ALS, and most remaining cases are results of the interaction of several genes and environmental factors, ALS is still a paradigm in multifactorial diseases research.

**KEY-WORDS: AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS; NEURODEGENERATION;
MOTOR NEURONS**

LISTA DE SIGLAS

AMPA: receptor de glutamato alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolil propionato

ApoE: apolipoproteína E

AD: autossômico dominante

APEX: endonuclease apurínica apirimidínica

AR: autossômico recessivo

Alsin: gene da esclerose lateral amiotrófica tipo 2

ALS2CR2: gene da proteína de interação ILP

ALS2CR3: gene do fator de interação 1-receptor ácido gama-aminobutírico (GRIF1)

CDP: complexo demência-parkinsonismo

CDFTP: complexo demência frontotemoral-parkinsonismo

COX: DNA mitocondrial

CYP2D6: debrisoquina hidroxilase

DCTN1: dinactina 1

DNA: desoxyribose nucleic acid

ELA: esclerose lateral amiotrófica

ELAF: esclerose lateral amiotrófica familiar

EAAT2: transportador de aminoácido excitatório 2, transportador de glutamato

ELJP: esclerose lateral juvenil primária

FIL: fator inibitório da leucemia

FNTC: fator neurotrófico ciliar

FCEV: fator de crescimento endotelial vascular

GEF: guanidine-nucleotide exchange factor

GTP: guanosine triphosphate

GTPases: hidrolases de guanosina trifosfato

IPILP: proteína de interação ILP

IHCL: inclusões hialinas corpúsculo de Lewy-símiles

NF-H: neurofilamento de cadeia pesada

NF-L: neurofilamento de cadeia leve

NF-M: neurofilamento de cadeia média

NAIP: neuronal apoptosis inhibitory protein

PRPH: periferina

RRH: elemento de resposta à hipóxia

RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction.

RAB5 GEF: RAB 5 guanidine-nucleotide exchange factor

SMN1: survival motor neuron gene

SMN2: centromeric survival motor neuron gene

SOD1: superóxido dismutase 1

SOD2: manganês-superóxido dismutase

SETX: senataxina

VAPB: vesicle-associated membrane protein B

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1. EPIDEMIOLOGIA.....	13
2.2 FATORES DE RISCO AMBIENTAIS.....	14
2.3 FATORES DE RISCO GENÉTICOS.....	15
2.3.1 Genes maiores.....	18
2.3.1.1 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 1	19
2.3.1.2 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 2.....	22
2.3.1.3 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 3.....	24
2.3.1.4 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 4.....	24
2.3.1.5 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 5.....	24
2.3.1.6 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 6.....	25
2.3.1.7 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 7.....	25
2.3.1.8 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA Tipo 8.....	25
2.3.1.9 Taupatias.....	26
2.3.1.10 Esclerose Lateral Amiotrófica com Complexo Demência Frontotemporal- parkinsonismo.....	28
2.3.2 Genes de Susceptibilidade	29
2.3.2.1 Neurofilamentos.....	30
2.3.2.2 Genes de Excitotoxicidade.....	32
2.3.2.3 Apolipoproteína E.....	34
2.3.2.4 Fator Neurotrófico Ciliar.....	35

2.3.2.5 Debrisoquina Hidroxilase Citocromo P450.....	35
2.3.2.6 Endonuclease Apurínica e Apirimidínica	36
2.3.2.7 Metabolismo Mitocondrial	36
2.3.2.8 Dinactina1.....	37
2.3.2.9 Outros genes candidatos.....	38
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39

REFERÊNCIAS

1 INTRODUÇÃO

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurológica fatal, rapidamente progressiva e de início tardio. A enfermidade, também conhecida como doença de Lou Gehrig, caracteriza-se pela perda gradual de neurônios motores no cérebro e na medula espinhal. A morte neuronal inicia-se de forma restrita e depois se generaliza, atingindo neurônios motores superiores (corticoespinhais) e inferiores (espinhais). O diagnóstico baseia-se nos critérios El Escorial. Há evidências de comprometimento tanto dos neurônios motores inferiores (paresia, atrofia, fasciculações) quanto dos superiores (reflexos tendinosos hiperativos, sinais de Hoffmann e de Babinski ou clônus) no mesmo paciente. Estudos clínicos indicam que a ELA se manifesta a princípio por fraqueza muscular de um ou mais membros, câibras ou fasciculações da língua (início bulbar). Há maior incidência de hiper-reflexia em relação à hiporeflexia (SWASH et al, 1999). A doença progride, em média, em um período de 3 a 5 anos, antes de levar à paralisia e à morte prematura. O acúmulo acentuado de neurofilamentos em motoneurônios é observado tanto na ELA familiar (ELAF) quanto na esporádica. Estudos em cobaias mostram que a disfunção neuronal precede o início dos sintomas e que mecanismos compensatórios adiam as manifestações clínicas até que pelo menos 50% dos neurônios motores tenham sido perdidos. A esta altura, os sinais clínicos aparecem e o número de motoneurônios rapidamente diminui (COTE, 1993). O aumento progressivo e proporcional da idade em muitas populações está vinculado à elevação dos casos de doenças relacionadas à idade, como a ELA (RIGGS et al, 1992; NEILSON et al, 1994). Apesar de mais de um século de pesquisas, ainda não há, atualmente, cura e a terapia disponível pode prolongar a sobrevida por apenas alguns meses. As formas familiares respondem por aproximadamente 10% do total de casos de ELA. Até o momento, 7 genes e o linkage para outros 5 loci adicionais foram identificados na ELA. A maioria dos pacientes, porém, apresenta ELA multifatorial, que é provavelmente causada pela interação complexa entre fatores genéticos e ambientais. Neste trabalho, pretende-se enfatizar os aspectos genéticos importantes na ocorrência da ELA.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

A prevalência absoluta de esclerose lateral amiotrófica (ELA) é estimada em 4-6/100.000 habitantes. Quanto maior a idade, maior a prevalência que atinge o pico no grupo etário entre 60 e 75 anos com 33/100.000 habitantes para o sexo masculino e 14/100.000 para o sexo feminino (TRAYNOR et al, 1999). A preponderância no sexo masculino é mundialmente reconhecida, porém é menos pronunciada no grupo dos maiores de 70 anos de idade e ocorre somente na ELA esporádica - achado ainda inexplicado (CASHMAN et al, 1999). A incidência alcança a taxa de 1-3/100.000 pessoas por ano e se eleva com a idade (PLATO et al, 2002). Observou-se um pico na taxa de incidência entre os 55 e 75 anos de 10.5 e 7.4/100.000 para homens e mulheres respectivamente.

Dados estatísticos dos EUA mostram uma menor taxa de mortalidade em não-brancos do que em brancos (taxa de 1:1.6), mesmo com as diferenças de idade e sexo similares entre os dois grupos (ELIAN e DEAN, 1993). Evidências comprovam o aumento da incidência ajustada à idade e relacionada à latitude, variando de 2.0 em Israel (32° de latitude) a 8.0 nos países escandinavos setentrionais (>60° de latitude) (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). As diferenças geográficas resultam, provavelmente, da variação quanto à metodologia, susceptibilidade genética e/ou fatores ambientais. Dispõe-se de quatro áreas de alta prevalência bem estudadas. Na população dos Chamorros, no Pacífico ocidental, são freqüentes duas condições neurológicas: a ELA, localmente conhecida como “Lytico” e o complexo demência-parkinsonismo de Guam, denominado “Bodig” na área. Bodig e Lytico podem ocorrer, simultaneamente, nos pacientes e suas famílias (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Apesar da forte suspeita de uma etiologia comum, isso não foi comprovada (OYANAGI e WADA, 1999).

A prevalência absoluta em Guam declinou de 100/100.000 pessoas na década de 50 do século passado para 50 e 25/100.000 pessoas para homens e mulheres respectivamente em 1990 (MCGEER et al, 1997). Duas áreas da península japonesa de Kii mostram similarmente alta prevalência, assim como a costa oeste da antiga Papua-Nova

Guiné, agora parte da Indonésia (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). À mesma latitude do Pacífico, outra área de alta incidência foi relatada, trata-se de uma tribo isolada, a Anguru, em Groot Eylandt no Golfo da Carpentaria no norte da Austrália (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Nessas áreas endêmicas do Pacífico sul, a ELA responde por uma em cada dez mortes. Além disso, em Guadalupe observa-se alta frequência de parkinsonismo atípico (ocasionalmente acompanhado por ELA), que lembra aquele descrito em Guam (CHEN et al, 1996).

Há relatos de grupos menores com ELA, relacionados à proximidade profissional ou residência, no mesmo apartamento (n=3), em uma escola (n=3), em um grupo de guardas de uma fazenda na Dakota do Sul (n=4), entre carteiros (n=3), em uma pequena cidade e 6 casos entre 1975 a 1983 em uma pequena comunidade próxima ao lago Michigan, nos EUA. Relatou-se ELA conjugal em Guam (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003) e em outros quatro casais fora do Pacífico ocidental (CORNBLATH et al, 1993). Estes pequenos grupos com ELA podem ter sido resultado de exposição comum a agentes ambientais ou, ao contrário, puramente coincidentes. Nestas condições, a análise é prejudicada pela falta de dados do total da população. Porém, a simples existência dos grupos alerta para possíveis causas genéticas e ambientais.

2.2 FATORES DE RISCO AMBIENTAIS

Os fatores de risco ambientais na neurodegeneração provocada pela ELA eram amplamente desconhecidos. A ocorrência endêmica de ELA, tal como relatado nas áreas de alto risco no Pacífico ocidental, não poderia ser explicada somente por meio de fatores genéticos (AHLISKOG, 1995), o que levou à discussão sobre a interação gene-meio ambiente. As sementes de cicade, minerais presentes na água potável e componentes do solo estavam sob suspeita de causarem neurotoxicidade a longo prazo. Destinou-se atenção especial à semente da palmeira local cicade, em vista da forte correlação entre ELA e a presença de cicasina na comida típica à base das sementes de cicade (ZHANG et al, 1996). A cicasina parece comprometer o reparo neuronal de DNA, estimular a hiperexpressão de RNA mensageiro tau e potencializar a neuroexcitotoxicidade (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

Outros fatores de risco ambiental consistem em história de traumatismo encefálico e raquimedular, atividade física extenuante, exposição à radiação, choques elétricos e contato com solda, tintas, petróleo e trabalho diário em indústria, embora nenhum deles tenha sido consistentemente relacionados à ELA. Apesar de 10% dos pacientes estudados terem apresentado neoplasias, esta associação permanece inexplicada (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Infecções virais de longa latência podem ser potenciais agentes etiológicos da ELA (KARPATI e DALAKAS, 2000). Ácidos nucleicos de enterovírus foram detectados pela reação de transcrição reversa em cadeia de polimerase (RT-PCR) na medula espinhal em 15 de 17 pacientes com ELA esporádica em um estudo francês, porém em menos de 4 em 20 amostras similares em outros estudos (BERGER et al, 2000; MAJOOR-KRAKAUER et, 2003).

Assim, não há evidências contundentes de um papel fundamental dos fatores de risco ambientais na ELA. Contudo admite-se a possibilidade de uma complexa interação entre os vários fatores exógenos e a susceptibilidade genética específica.

2.3 FATORES GENÉTICOS DE RISCO

Os fatores genéticos de risco para ELA são exaustivamente estudados. A agregação familiar dependente-de-idade e com alta penetrância é o maior fator de risco para a doença. A ELA familiar é clínica e geneticamente heterogênea com múltiplas formas autossômicas dominantes e recessivas. A análise genética molecular revelou a participação de muitos genes nesta patologia, alguns dos quais se caracterizam por causarem ELA em um claro padrão de herança monogênica; tais genes serão denominados de Genes Maiores (TABELA 1). Eles conduzem predominantemente à ELA do tipo 1 a 8 ou causam neurodegeneração multissistêmica (Taupatis e ELA com complexo demência-parkinsonismo), tendo a ELA como um sintoma ocasional. Outros genes, aqui referidos como Genes de Susceptibilidade, podem iniciar a cascata de neurodegeneração ou interagir com fatores de risco ambientais ou genéticos (TABELA 2).

TABELA 1: Genes maiores da ELA

Classificação	Gene	Localização	Herança	Referência
Genes maiores				
ELA 1	SOD1	21q22	AD/AR	ROSEN et al, 1993; ANDERSEN et al, 1995
ELA 2	<i>alsin</i> , ALS2CR2 ALS2CR3	2q33-34	AR	HADANO et al, 2001; YANG et al, 2001
ELA 3		18q21	AD	HAND et al, 2002
ELA 4	SETX	9q34	AD	CHEN at al, 2004
ELA 5		15q12-21	AR	HENTATI et al, 1997
ELA 6		16p12	AD	SAPP et al, 2003
ELA 7		20p13	AD	SAPP et al, 2003
ELA 8	VAPB	20q13.3	AD	NISHMURA et al, 2004
CDFTP	Tau	17q21	AD	WILHELMSSEN et al, 1994; HUTTON et al, 1998
DFT		9q21-22	AD	

AD, autossômico dominante; AR autossômico recessivo; SOD superóxido dismutase; DFT demência frontotemporal; CDFTP complexo demência frontotemporal parkinsonismo

FONTE: do autor

TABELA 2: Genes de susceptibilidade para a ELA

Classificação	Gene	Localização	Herança	Referência
Genes de Susceptibilidade				
Neurofilamento de cadeia pesada	NF-H	12q12.2		FIGLEWICZ et al, 1994
Neurofilamento de cadeia leve	NF-L	8p21		XU et al, 1993
Periferina	PRPH	12q12-13		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Transportador do glutamato	EAAT2	11p13-12		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Receptor do glutamato	AMPA	5p33		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Apolipoproteína E	ApoE	19q13.2		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Fator neurotrófico ciliar	FNTC	11q12.2		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Endonuclease apurínica apirimidínica	APEX	14q12-12		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Grupo de sangue P2	P2	2q11		MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003
Debrisoquina hidroxilase	CYP2D6	22q13.1		JAMES et al, 1994
DNA mitocondrial	COX			VIELHABER, 2000
Manganês superóxido dismutase	SOD2	6q25		VAN LANDEGHEM, 1999
Dinactina	DCTN1	2p13		KORTHAUS et al, 1997

FONTE: do autor

2.3.1 Genes Maiores

Nesta revisão discutiremos a ELA monogênica, isto é, aquela que se manifesta por herança mendeliana. Dez são os loci identificados para ELA familiar, existindo 7 genes maiores: SOD1, *alsin*, tau, VAPB, ALS2CR2, ALS2CR3, SNTX (tabela 2).

Pode haver dificuldade de diferenciar a ELA de outras doenças do neurônio motor, em especial entre aquelas formas sem sinais clínicos clássicos. Não raro é o achado de deleções em um dos genes para a atrofia muscular espinhal, SMN1 (survival motor neuron gene) (VELDINK et al, 2005) e SMN2 (centromeric survival motor neuron gene 2) (VELDINK et al, 2001) e no NAIP (neuronal apoptosis inhibitory protein gene) em pacientes com diagnóstico de ELA esporádica ou familiar (PARBOOSINGH et al, 1999). Ademais, aproximadamente 2% dos homens com diagnóstico de ELA são, na verdade, portadores da Doença de Kennedy (atrofia muscular espinobulbar ligada ao X) causada pela expansão de trinucleotídeos no receptor de androgênio (GAROFALO et al, 1993; PARBOOSINGH, 1997). A herança autossômica dominante da ELA familiar ocorre em 5 a 10% dos casos de ELA e é clínica e neuropatologicamente indistinguível da forma esporádica de ELA (CLEVELAND, 1999). A ELA familiar caracteriza-se por ampla variabilidade intra e interfamiliar de idade de início e progressão. A penetrância incompleta foi observada em algumas famílias (DE BELLEROCHE et al, 1995) e comprovada por análise de mutação (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

A ELA familiar autossômica dominante é geneticamente heterogênea. Atualmente, 7 genes, SOD1 (superóxido dismutase 1) no cromossomo 21, tau no cromossomo 17, SNTX no cromossomo 9 e VAPB no cromossomo 20 e mais cinco loci (nos cromossomos 9, 15, 16, 18 e 20) são conhecidos (TABELA 1).

Antes de se tornar possível a diagnose da ELA por meio de testes moleculares, a ELA familiar (ELAF) autossômica recessiva era considerada rara. Identificaram-se três formas de ELA recessiva, sendo os genes para duas delas (SOD1 e *alsin*) identificados. Estas formas correspondem, provavelmente, a 20 a 30% dos casos de ELAF.

2.3.1.1 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 1 (ELA 1)

Em 1991, o primeiro gene da ELA, a partir de uma forma autossômica dominante, foi mapeado no cromossoma 21q (SIDDIQUE, 1991). Dois anos depois, o gene da superóxido dismutase mostrou ser o gene da ELA (ROSEN et al, 1993). A SOD1 é uma metaloenzima de 153 aminoácidos com alta expressão no tecido nervoso, fígado e eritrócitos. Ela catalisa a conversão do radical superóxido (O_2^-) a oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Até o momento, mais de 90 mutações nos cinco éxons deste gene foram identificadas (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A maioria dessas mutações guarda relação com a ELA familiar autossômica dominante. Entre elas, duas, D90A e D96N, podem causar tanto ELA dominante quanto recessiva (ANDERSEN et al, 1995; ORREL, 2000; ROBBERECHT et al, 1996).

Mutações na SOD1 foram documentadas em 195/916 famílias apresentando ELA autossômica dominante, evidenciando a participação da SOD1 em aproximadamente 21% (variando de 13 a 84%) dos casos de ELA familiar dominante (ANDERSEN et al, 1997; AGUIRRE et al, 1999; JUNEJA et al, 1997; ORREL et al, 1997). A isto se acrescenta o achado de heterosigose para SOD1 em 12% (2,5 a 25%) dos casos de ELA esporádica aparente (N=112) (ORREL et al, 1997; ANDERSEN et al, 1996; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003; PRAMATAROVA, 1995). O padrão de mutação na ELA esporádica assemelha-se àquele da ELA familiar (RADUNOVIC e LEIGH, 1996). A ELA esporádica representaria uma nova mutação de SOD1 ou uma penetrância incompleta de uma mutação dominante nos pais. Algumas mutações da SOD1 exibem um padrão recorrente ou comportam-se como mutações fundadoras, por vezes tendo uma distribuição universal. A mutação A4V, a mais freqüente de todas, é encontrada somente em pacientes norte-americanos (ORREL, 2000).

Muitas mutações no gene da SOD1 comportam-se como dominantes, embora a D90A possa ser herdada recessivamente. Uma mutação sem sentido, envolvendo a transversão de A por C, culmina com a substituição do ácido aspártico pela alanina no códon 90, podendo causar a doença tanto no estado homozigótico quanto no heterozigótico compostos com a mutação D96A (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A herança recessiva da mutação D90A é isolada principalmente em famílias escandinavas (ANDERSEN et al, 1995; ANDERSEN et al, 1997; ANDERSEN et al, 1996). Em outras partes do mundo, esta mutação raramente causa ELA familiar autossômica recessiva e usualmente ocorre em heterosigose (AGUIRRE, 1999; KHORIS et al, 2000; ROSEN et al, 2000). Na população

escandinava setentrional, homozigotos para esta mutação apresentam fenótipo semelhante para a doença com início insidioso (média de idade de início de 44 anos, variando de 20-94). A paresia ascendente lenta começa distalmente nas extremidades inferiores e tem progressão relativamente lenta (sobrevida média de 14 anos) (ANDERSEN et al, 1996). Na população do norte da Suécia e da Finlândia, a mutação D90A responde por 9.6% (44/451) dos casos de ELA (ANDERSEN et al, 1997) e um aumento de 10 vezes na frequência alélica foi observado nesta população (1-2%) (ANDERSEN, 1996). Um estudo de 26 árvores genealógicas recessivas para a mutação D90A demonstrou um mesmo haplótipo fundador em 20 delas (AL-CHALABI et al, 1998). Embora vários fundadores tenham sido identificados em oito pedigrees com mutação D90A dominante, foi sugerida a existência de um fator de proteção estreitamente relacionado à mutação SOD1 na população escandinava setentrional, mais homogênea geneticamente. Este fator poderia explicar a longa duração da doença em escandinavos.

A maioria das mutações em SOD1 é do tipo sem sentido e não existe clara correlação entre elas e a expressão clínica da doença - correlação genotípica-fenotípica (ANDERSEN et al, 1997). Esta variação inter e intrafamiliar dificulta um prognóstico preciso do curso da doença. Características clínicas, idade de início e sobrevivência variam amplamente entre mutações diferentes e, inclusive, entre uma mesma mutação. A variação fenotípica compreende desde doença rapidamente progressiva com sinais apenas do neurônio motor inferior até doença de progressão muito lenta com sinais de comprometimento dos neurônios motores superiores e inferiores (IKEDA et al, 1995; ORREL et al, 1997). Tipicamente, em uma família com ELA de padrão de herança dominante e mutação D90A, encontram-se manifestações entre a amiotrofia focal juvenil do braço até sintomas clássicos de ELA em outros parentes (ROBBERECHT et al, 1996). Foi até mesmo descrita não-penetrância para algumas mutações SOD1, incluindo as mutações I113T, V4G, A767, G21L, A101A e G16S (DENG et al, 1995; JONES et al, 1995), embora a penetrância em muitas mutações SOD1 possa ser alta (85% a idade de 85 anos) em famílias com ELA familiar (DE BELLEROCHE et al, 1995).

Algumas mutações em SOD1 são freqüentemente associadas a “início precoce” (G37R, L38V), “menor sobrevivida” (A4V) ou formas relativamente “benignas” de ELA (G37R, G41D, G93C e H46R) (JUNEJA et al, 1997; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003; RADUNOVIC et al, 1996). Contudo, estas associações devem ser utilizadas com

cautela para a prognose de casos individuais. A paralisia bulbar progressiva parece ser rara no início da doença em pacientes com ELA1, condição uma vez descrita em uma paciente com deleção de SOD1 (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A variação extrema de sobrevida dentro de algumas famílias com ELA pode ter importância no aconselhamento genético das mesmas e levanta questões biológicas fundamentais com relação à existência de outros fatores de risco, genéticos e ambientais, modificadores da doença.

Não está claro como as mutações em SOD1 causam a ELA. Uma vez que a atividade enzimática residual de SOD1 não guarda relação com a expressão da doença em pacientes com a doença, a perda de função de SOD1 não é provavelmente a causa da degeneração dos motoneurônios na ELA (RATOVITSKI et al, 1999). Reforça esta evidência o fato de não ocorrer ELA em modelos murinos knockout (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003; REAUME et al, 1996). De fato, teoriza-se que mutações de SOD1 dominantes ajam através de ganho de função, produzindo proteínas SOD1 mutantes seletivamente tóxicas para motoneurônios. A proteína mutante pode ser responsável pela agregação intracelular de neurofilamentos em neurônios e astrócitos, o que coincide com o início da doença e aumenta à medida que o distúrbio progride (BRUIJN et al, 1998).

Estudos em ratos transgênicos portadores de SOD1 mutante sugerem que a expressão de neurofilamentos influencia seletivamente a susceptibilidade dos motoneurônios e diminui a toxicidade da SOD1 mutante (ver seção abaixo sobre gene de neurofilamento). Outras evidências apontam que a organização dos neurofilamentos pode não ser essencial à ELA mediada por SOD1 mutante (MAJOOR-KRAKAUER ET AL, 2003).

Outro efeito tóxico das mutações de SOD1 pode envolver o aumento da vulnerabilidade neuronal a mecanismos excitotóxicos oriundos da inativação seletiva do transportador de glutamato, EAAT1 (KRUMAN et al, 1999; TROTTI et al, 1999) ou por degeneração mitocondrial (JAARSMA et al, 2001). Um trabalho recente com ratos transgênicos para SOD1 demonstrou que as proteínas SOD1 mutantes podem exercer seus efeitos tóxicos pelo decréscimo da atividade da calcineurina, uma enzima reguladora da excitabilidade neuronal através do controle de canais iônicos e da liberação de neurotransmissores (FERRI et al, 2000; FERRI et al, 2001).

A deposição neurofibrilar e as inclusões semelhantes ao corpúsculo de Lewy compõem o espectro patológico da ELA1 (RADUNOVIC et al, 1996; SHAW et al, 1997).

Inclusões de neurofilamentos podem ocorrer em pacientes com as mutações A4V ou H48Q. É importante mencionar ainda que a mutação I113T (a segunda mutação SOD1 mais comum) parece predispor a extensiva deposição e distribuição multissistêmica intraneuronal de neurofilamentos. A detecção de SOD1 por técnicas imunistoquímicas em inclusões hialinas corpúsculo de Lewy-símiles (IHCL) na medula espinhal de pacientes confirma a presença da enzima (KOKUBO et al, 1999; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003; SHAW et al, 1997). Co-localização de Copper-chaperone e SOD1 sugere interações específicas entre ambas na formação das IHCL (KATO et al, 2001).

2.3.1.2 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 2 (ELA 2)

A ELA familiar autossômica recessiva foi primeiramente descrita em uma família com uniões consangüíneas na Tunísia, exibindo linkage para a região cromossômica 2q33-34. Os sintomas ocorrem na primeira ou segunda décadas de vida e incluem espasticidade progressiva dos membros e de músculos faríngeos e faciais. A sobrevida é relativamente longa, 15 a 20 anos (HENTATI et al, 1994).

O gene para a ELA2 foi identificado em famílias tunisianas e quaitianas, sendo nomeado de *alsin* ou *als2* (HADANO et al, 2001; HADANO et al; 2001; Yang et al, 2001). O splicing deste gene produz transcrições curtas e longas. As deleções afetando a ambas levam ao fenótipo ELA 2, embora deleções homozigotas do exon 9, atingindo somente a forma curta da proteína, causem esclerose lateral juvenil primária (ELJP). Esta é ainda mais rara que a ALS2 e a sua apresentação fenotípica consiste em progressiva paraparesia espástica e paresia de músculos orofaciais e oculares. Porém há evidências de que gene *alsin* não é causa comum de início, na idade jovem, de fenótipo tipo doença do neurônio motor superior na ELA esporádica, e tampouco está associado a fenótipo mais típico (AL-CHALABI et al 2003; HAND et al, 2003).

A expressão de *alsin* foi encontrada em células neuronais do cérebro e medula espinhal de ratos. Como *alsin* possui domínios protéicos similares a plecstrina e guanine-nucleotide exchange factors (GEFs), conhecidos por ativarem GTPases (hidrolases de guanosina trifosfato). Portanto, *alsin* pode agir como regulador/ativador de GTPases modular

a interação de microtúbulos, a organização da membrana e o tráfego neuronal. Foi também proposto que a perturbação na dinâmica endossomial causada pela perda do domínio funcional da proteína ELA 2 que confere atividade a RAB5 GEF pode servir de base para disfunção e degeneração em várias doenças do neurônio motor. (OTOMO et al, 2001).

Um estudo identificou três genes na região crítica de ALS2: ALS2CR1, ALS2CR2 e ALS2CR3 (HADANO et al, 2001). O gene ALS2CR2 codificou uma proteína denominada IPILP (interacting protein ILP). A IPILP potencializa a atividade anti-apoptótica através de membros da família JNK (SANNA et al, 2002). O gene ALS2CR3 expressa uma proteína denominada de Grif 1. A Grif1 murina foi encontrada em associação a subunidades de receptor GABA-A. A forma imobilizada de Grif 1 precipitou as subunidades alfa-1 e beta-2 do receptor GABA-A em extrato detergente de cérebro murino (BECK et al, 2002).

2.3.1.3 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 3 (ELA 3)

A maioria das formas autossômicas dominantes de ELA familiar não possuía um locus identificado, sendo denominadas genericamente de ELA 3 (SIDDIQUE et al, 1991). 20 membros de uma grande família europeia com ELA autossômica dominante de início na idade adulta sem linkage para o cromossomo 21 foram investigados. Nessa família a doença foi mapeada no cromossoma 18q21, concluindo os autores que esta mutação pode ser a causa mais freqüente de ELAF (HAND et al, 2003).

2.3.1.4 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 4 (ELA 4)

Uma segunda forma de ELA familiar de início precoce (idade média de início de 17 anos) e progressão lenta sem envolvimento bulbar foi localizada no locus 9q34 em uma grande família. Os pacientes apresentam inicialmente disbasia, seguida de paresia e atrofia das mãos e membros inferiores. A paresia é intensa aos 40 ou 50 anos, com perda completa da função do membro na sexta década. À histopatologia encontra-se degeneração das raízes

dorsais, dos núcleos denteado, grácil e olivar inferior (RABIN et al, 1999). Para identificar a base molecular da ELA4, 19 genes foram identificados dentro da região crítica descrita por estudos de linkage, sendo detectadas três mutações sem sentido no gene da senataxina (SETX). As observações na ELA4 sugerem que o gene SETX pode causar neurodegeneração por meio da disfunção da atividade de helicases ou em outros passos do processamento de RNA (CHEN et al, 2004).

2.3.1.5 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 5 (ELA 5)

Esta forma de ELA autossômica recessiva é clinicamente semelhante a ELA2 (HENTATI et al, 1997). A ELA5 pode ser a forma mais prevalente de ELA recessiva e foi encontrada em diferentes grupos étnicos (norte-africanos, sul-asiáticos e europeus). O locus da ELA5 foi mapeado para o cromossomo 15q15.1-q21.1, mas o gene não foi ainda identificado (HENTATI et al, 1997).

2.3.1.6 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 6 (ELA 6)

Um novo locus para a ELA, designado ELA6, com 38Mb no cromossoma 16p12.1-16q2 (SAPP et al, 2003), foi identificado, por meio de análise de linkage, em um de 18 pedigrees norte-americanos com ELA sem evidência de mutação no gene SOD1. Um locus putativo para ELA6 foi identificado em famílias com ELA do Reino Unido sem mutações no gene SOD1 no cromossomo 16q12.1-16q12.2 (ABALKHAIL et al, 2003). Em duas grandes famílias européias sem mutações SOD1, submetidas à análise, foi encontrado linkage para marcadores no cromossomo 16q12 com 4.5 Mb contendo 18 genes e outros 70 genes possíveis. (RUDDY et al, 2003).

2.3.1.7 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 7 (ELA 7)

Foram estudadas 16 famílias americanas, nas quais não foram encontradas evidências de mutações no gene SOD1. Um novo locus para a doença foi identificado no cromossomo 20p13 (SAPP et al, 2003).

2.3.1.8 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA tipo 8 (ELA 8)

O locus do gene da ALS8 foi mapeado no cromossomo 20q13.3 em uma família de brasileiros caucasianos na qual 26 membros em três gerações apresentaram sintomas e sinais neurológicos compatíveis com ELA de progressão lenta. Os sexos eram afetados igualmente e o início das manifestações clínicas da doença ocorria entre 31 e 45 anos, com morte causada por falência respiratória. 12 membros foram examinados. Todos tinham sinais de disfunção do neurônio motor inferior e cinco apresentavam sinais de comprometimento bulbar. Foi realizada a análise linkage na família brasileira com ELA atípica, sendo excluídos todos os outros loci anteriormente descritos. Encontrou-se um novo locus designado posteriormente de ELA8, contando com 2.7 Mb entre os marcadores D20S430 e D20S173 no cromossomo 20q13.33. A ELA8 deve ser uma forma distinta daquela mapeada no fim do braço curto do cromossoma 20, designada aqui por ELA7 (NISHIMURA et al, 2004).

Descobriu-se que a disfunção autossômica dominante com progressão lenta na família brasileira era provocada por uma mutação sem sentido no gene VAPB (vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membrane protein B). Posteriormente, a mesma mutação foi encontrada em outros seis pedigrees nos quais os pacientes apresentavam cursos clínicos diferentes, como ALS8, atrofia muscular espinhal e ELA típica de progressão rápida. Embora não tenha sido possível ligar genealogicamente essas famílias, a análise haplotípica sugeriu efeito fundador. As proteínas associadas às vesículas são proteínas intracelulares de membrana que se associam com microtúbulos e têm função de transporte na membrana. Os dados sugeriram que a variabilidade clínica da doença poderia ser causada pela disfunção do tráfego de membrana intracelular. (NISHIMURA et al, 2004).

2.3.1.9 Taupatias

ELA 1, ELA 4 e ELA 6 representam formas puras de ELA familiar dominante. Porém a ELA pode fazer parte de uma neurodegeneração multissistêmica, incluindo as taupatias e a combinação de ELA com complexo demência-parkinsonismo (CDP). Mutações no gene *tau* são associadas com fenótipo clínico que consiste em demência frontotemporal, doença de Pick, degeneração córticobasal e paralisia progressiva supranuclear. Este fenótipo apresenta variabilidade entre famílias diferentes e dentro de uma mesma família (BIRD et al, 1999; MAJOUR-KRAKAUER et al, 2003; STANFORD et al, 2000; SPILLANTINI et al, 2000; WILHELMSSEN et al, 1994). A abundância de sintomas clínicos sugere que a patologia Tau possa ter papel importante em um vasto número de doenças neurodegenerativas, incluindo ELA, na qual ocorre depósito de neurofilamentos constituídos principalmente de proteína Tau hiperfosforilada. As mutações Tau foram primeiramente reconhecidas no complexo demência frontotemporal-parkinsonismo – CDFTP (HUTTON et al, 1998; WILHELMSSEN et al, 1994). CDP é caracterizado por herança autossômica dominante de distúrbios comportamentais, dislalia and perda de memória, enquanto a amiotrofia e o parkinsonismo podem ocorrer tarde no curso da doença. A prevalência de CDFTP é estimada em 2,8/100.000 habitantes no grupo de idade de 60-70 anos (STEVENS et al, 1998). A proporção de famílias com mutação no gene Tau varia de 13 a 40% (POORKAJ et al, 2001; RIZZU et al, 1999).

No CDFTP, as mutações Tau afetam o alternative splicing do exon 10 do gene Tau, conduzindo a um excesso de isoformas Tau tetra-repetidas. O efeito da tetra-repetição de proteína Tau poderia reduzir a ligação da Tau aos microtúbulos axonais, o que poderia explicar o aumento de proteína Tau hiperfosforilada, levando à axonopatia central e periférica que culmina com morte neuronal e amiotrofia (GOEDERT et al, 1998; HEUTINK, 2000; ISHIHARA et al, 1999; PROBST et al, 2000).

O parkinsonismo de Guadalupe é também considerado uma Taupatia em vista da acumulação de proteínas Tau, principalmente no mesencéfalo. Embora nenhuma mutação Tau tenha sido encontrada, todos os casos são homozigotos para o haplótipo Tau H1 (CAPARROS-LEFEBVRE et al, 2002). O polimorfismo Tau CA36663 está associado com ELA e complexo demência-parkinsonismo de Guam, indicando que Tau não é causa dessa

doença, mas provavelmente age como gene de susceptibilidade (POORKAJ et al, 2001; SCHMIDT et al, 2001).

2.3.1.10 Esclerose Lateral Amiotrófica com Complexo Demência Frontotemporal-parkinsonismo

O fenótipo clínico da esclerose lateral amiotrófica familiar (ELAF) pode consistir em ELA pura, degeneração multissistêmica nas taupatias e na ELA associada a parkinsonismo e demência. Algumas mutações de SOD1 podem causar ELA associada à demência, como observado em uma família com a mutação A76T (ANDERSEN et al, 1997). O parkinsonismo é menos observado, sugerindo toxicidade reduzida das mutações SOD1 sobre os neurônios dopaminérgicos do trato nigroestriatal (PRZEDBORSKI et al, 1996). A ELA de Guam é caracterizada pela co-ocorrência de parkinsonismo, demência e sinais de comprometimento do motoneurônio. A análise do gene SOD1 isolou nesta doença a mutação I113T em dois pacientes sem grau de parentesco de uma amostra de 23 selecionados na península de Kii no Japão (KIKUGAWA et al, 1997; MAJOUR-KRAKAUER et al, 2003).

Outros genes predisponentes à neurodegeneração relacionada à idade também podem contribuir para a ELA. Mutações no gene Tau causam uma variada sintomatologia, como demonstrado recentemente no CDFTP (BIRD et al, 1999; CLARK et al, 1998; DUMANCHIN et al, 1998; HUTTON et al, 1998; WILHELMSSEN et al, 1994) e na paralisia familiar supranuclear atípica progressiva (STANFORD et al, 2000), considerando que o complexo ELA-demência frontotemporal está ligada ao cromossomo 9q (HOSLER et al, 2000). Porém, esses não respondem por toda a agregação familiar da ELA, demência e parkinsonismo (ROSSOR et al, 2000).

Estudos epidemiológicos revelaram agregação da ELA clássica, demência e parkinsonismo, sugerindo que fatores genéticos comuns podem colaborar para as três condições. Notou-se, em um estudo de caso controle, significativo aumento do risco de demência e parkinsonismo em parentes de primeiro e segundo grau de pacientes com ELA (MAJOUR-KRAKAUER et al, 1994; MAJOUR-KRAKAUER et al, 2003). A incidência cumulativa de demência para a idade de 90 anos foi expressivamente maior (15%) em

parentes de pacientes com ELA que nos parentes dos controles. Também é importante relatar que os familiares de pacientes com ELA têm um risco de 7% de desenvolverem parkinsonismo, o dobro do risco dos familiares dos controles (MAJOOR-KRAKAUER et al, 1994). Dados epidemiológicos também indicam uma excessiva coocorrência de demência e parkinsonismo nas famílias dos pacientes com ELA: pacientes com ELA esporádica apresentam probabilidade 12 vezes maior de terem parentes com parkinsonismo, se tiverem demência, que aqueles cuja história familiar seja negativa para essa condição (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2002). Essa agregação expressiva reflete provavelmente susceptibilidade genética para a neurodegeneração generalizada.

Além dos 5 loci descritos acima, muitos outros genes estão envolvidos na ELA, demência e/ou parkinsonismo. A doença de Machado-Joseph mostra amiotrofia associada a parkinsonismo e sintomas espinocerebelares resultantes e é causada por expansão de trinucleotídeos no gene SCA3 do cromossomo 14. Outros exemplos de disfunções genéticas com sintomas piramidais e extrapiramidais são a agregação familiar de doença do neurônio motor, mal de TIC, parkinsonismo decorrente de neuroacantose e uma forma de parkinsonismo e amiotrofia de herança autossômica dominante (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003; RUBIO et al, 1997). O complexo ELA-demência familiar foi relatado em algumas famílias, incluindo as de amish. Uma última forma de ELA foi descrita; trata-se de uma forma juvenil, com longa sobrevivência (de 9 a 27 anos) e variavelmente acompanhada de demência (OTERO, 1998). Outro complexo ELA-demência mostra um padrão de herança autossômica dominante. A ocorrência familiar de ELA com demência, parkinsonismo ou outros sintomas neurológicos é observada num crescente número de doenças neurodegenerativas multissistêmicas, incluindo doença de Huntington ou distrofia neuroaxonal (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Por isso, a história familiar de doentes com ELA deveria ser analisada com detalhes, não somente com foco na ELA, mas também atentar para antecedentes de parkinsonismo e demência.

2.3.2 Genes de Susceptibilidade

Considerando que as mutações nos genes da ELA ocorrem em pacientes portadores da forma familiar e esporádica, mais de 10% dos casos podem ser provavelmente explicados por

múltiplas formas autossômicas dominantes ou recessivas. Como ainda não existem evidências para nenhuma causa ambiental específica para ELA familiar e esporádica, sugere-se que muitos casos da doença sejam resultado da interação de vários genes e fatores ambientais. Descrevem-se aqui alguns dos genes potenciais no desenvolvimento da ELA.

2.3.2.1 Neurofilamentos

O acúmulo anormal de filamentos intermediários no pericário e nos axônios motores proximais é um marco patológico da ELA, sugerindo que as anormalidades na organização de neurofilamentos podem contribuir na patogênese da doença (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Os neurofilamentos são o principal tipo de filamento intermediário expresso por neurônios motores. Eles são formados pelo acoplamento de três subunidades: as subunidades leve (NF-L), média (NF-M) e pesada (NF-H). A NF-L é necessária para o acoplamento das três subunidades, enquanto a NF-M e NF-H formam ligações com outros filamentos nos axônios (JULIEN, 1999). A periferina, outro filamento intermediário, está associada a esferóides axonais na degeneração de motoneurônios de pacientes com ELA (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Ratos transgênicos com sobreexpressão de periferina desenvolveram doença do neurônio motor de início tardio (BEAULIEU et al, 1999; ROBERTSON et al, 2001). Não está claro se o acúmulo de FI (filamentos intermediários) é uma característica secundária da neurodegeneração associada à ELA ou se é a causa primária da doença.

Relatou-se uma deleção (228delC) 1-db no exon 1 do gene da periferina (PRPH), resultando em uma proteína truncada de 85 aminoácidos. A mutação não foi observada em 190 controles normais. A paciente, do sexo feminino, abriu o quadro aos 60 anos e faleceu cinco anos após. Estudos de expressão *in vitro* apontaram que uma mutação 228delC causou uma diminuição da imunorreatividade da periferina. A co-transfecção de periferina mutante junto a filamentos de cadeia leve aumentou a expressão de periferina, assim como a instabilidade da rede de neurofilamentos. Os autores concluíram que mutações no gene da periferina podem responder por uma pequena parcela dos casos de ELA e que a desorganização dos neurofilamentos contribuiria para a patogênese da doença (GROS-LOUIS et al, 2004).

Múltiplas evidências sugerem que os genes de neurofilamentos têm um papel na patogenia. Em primeiro lugar, alelos variantes de NF-H foram encontrados em 1% de 1.300 pacientes com ELA esporádica e em 0,3% de 295 casos de ELAF, mas não em DNA-controle (AL-CHALABI et al, 1999; CLEVELAND, 1999; FIGLEWICZ et al, 1994; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003), embora, seja observada atrofia de motoneurônios em ratos sobreexpressando a forma selvagem de NF-H (COLLARD et al, 1995; XU et al, 1993). Em segundo lugar, estudos de hibridização *in situ* revelaram considerável redução dos níveis de RNAm de NF-H em doentes de ELA com degeneração de motoneurônios espinhais (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Corroborando a importância do papel da NF-H a observação de que sua deficiência acelera os sinais de motoneurônio nos ratos sobreexpressando periferina (BEAULIEU et, 1999).

Um estudo brasileiro avaliou quantitativa e qualitativamente a presença de neurofilamentos e encontrou indícios de que o aumento da concentração destes elementos nos neurônios contribui para a vulnerabilidade seletiva destas células e que os neurofilamentos de cadeia pesada podem ter um papel crucial na etiologia da ELA (MENDONÇA et al, 2005).

Foram demonstrados, em pesquisa americana, efeitos benéficos da remoção de neurofilamentos longos e multifosforilados (intermediários e pesados) dos axônios. Com isto aumentou-se a taxa líquida de movimentação no transporte axonal lento. Mutações em sítios específicos destinadas a produzir neurofilamentos não-fosforilados ou mimetizar fosforilação constitutiva mostram acelerar e retardar, respectivamente, o transporte no axônio. Enfim, a remoção estimularia o transporte neuronal anterógrado na doença por mutação SOD1, pois propiciaria um axoplasma mais flexível (LOBSIGER et al, 2005).

Além disso, uma mutação na NF-L foi detectada em uma família com doença de Marie-Charcot-Tooth tipo 2 (MERSIYANOVA et al, 2000). Importa também citar que modelos murinos mutantes para o gene da NF-L desenvolvem severa degeneração neuromotora axonal e do pericário (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003; XU et al, 1993).

A presença de acúmulo anormal de neurofilamentos na ELAF associada à mutação SOD1 (SHAW et al, 1997) em ratos expressando SOD1 endossa o envolvimento de neurofilamentos na patologia da ELA 1. Surpreendentemente, experimentos com ratos transgênicos para SOD1 mostram que tanto a ausência de neurofilamento NF-L (causando

depleção axonal de FI e decréscimo da condutividade axonal) quanto a sobreexpressão de NF-H (causando aumento de FI no pericário) podem gerar diminuição da susceptibilidade e aumento da sobrevivência nos motoneurônios (COILLARD-DESPRES et al, 2000; JULIEN, 1999; KONG e XU, 2000). Esses estudos também mostraram que a periferina constitui agregados axonais e do pericário (NICHOLSON et al, 2000).

Em conclusão, as variantes de FI são provavelmente fatores modificadores da ELA esporádica e como tal poderiam modular a expressão da doença na ELA relacionada a SOD1.

2.3.2.2 Genes de Excitotoxicidade

O termo excitotoxicidade refere-se a um fenômeno no qual a ativação excessiva ou prolongada de receptores de aminoácidos excitatórios culmina em dano e, eventualmente, em morte dos neurônios envolvidos. A ativação desses receptores leva à despolarização e excitação neuronal e é normalmente transitória. A lesão excitatória de células neuronais parece ser mediada por elevações sustentadas dos níveis intracelulares de cálcio. Reforça esta hipótese, o achado de que altos níveis da proteína ligadora de cálcio paralbumina retarda a degeneração dos neurônios motores em ratos transgênicos para SOD1 e sobreexpressando paralbumina (BEERS et al, 2001; LIN, 1998). Tal mecanismo está implicado na patogênese da ELA e baseia-se em várias observações. Os níveis de glutamato, o maior neurotransmissor do sistema de neurônios motores, estão elevados no líquido cérebro-espinhal de pacientes com ELA (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003), quando se sabe que, em geral, os transportadores de glutamato estão diminuídos no cérebro e medula espinhal de pacientes com ELA (ROTHSTEIN et al, 1992). Os neurônios motores são vulneráveis à excitotoxicidade mediada pelo receptor de glutamato ácido propiônico α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasole (AMPA) e a ingestão de excitotoxinas pode contribuir na patogênese da ELA associada ao complexo demência- parkinsonismo de Guam (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). O riluzole, uma droga antiglutamato, é atualmente a única medicação que mostra algum efeito terapêutico na ELA.

A despolarização da membrana neuronal após ativação de receptores de cálcio voltagem-dependentes permite o influxo desse íon para a célula. A ativação excessiva de

receptores de glutamato, causando morte celular via elevação intracelular de cálcio, pode ser um dos mecanismos de doença do neurônio motor. O glutamato também pode induzir a neurodegeneração, elevando a expressão de RNAm Tau e de proteínas Tau fosforiladas, como observado em cultura de neurônios (COURATIER et al, 1995; MAJLOOR-KRAKAUER et al, 2003). Decréscimo do transporte de glutamato pode provocar elevada concentração sináptica deste receptor. Uma das quatro proteínas transportadoras de glutamato, a isoforma EAAT2, está envolvida na manutenção de níveis extracelulares desse neurotransmissor abaixo daqueles tóxicos para o sistema nervoso.

Em 60% dos casos de ELA esporádica, uma perda de 30 a 95% da atividade da isoforma EAAT2 foi documentada no córtex motor e na medula espinhal, mas não em outras regiões do cérebro (LIN et al, 1998; MAJLOOR-KRAKAUER et al, 2003). A presença de variantes de transcritos de RNAm de EAAT2 não poderia ser explicada por mutação do gene EAAT2 (JACKSON et al, 1999; MEYER et al, 1998). Portanto outros mecanismos devem responder pelos baixos níveis de EAAT2. As mutações de SOD1 podem explicar parcialmente os níveis diminuídos de EAAT2 na ELA (TROTTI et al, 1999, KRUMAN et al, 1999).

2.3.2.3. Apolipoproteína E

A frequência do genótipo da apolipoproteína E (ApoE) $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ na ELA esporádica e familiar não é diferente da encontrada na população geral, portanto, excluindo as mutações ApoE como causa primária da ELA. Por outro lado, o genótipo ApoE tem sido apontado em alguns estudos como tendo efeito sobre a idade de início e apresentação clínica de ELA esporádica. O genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ pode prolongar a sobrevivência em pacientes com ELA, enquanto o alelo $\epsilon 4$ pode predizer uma idade de início mais precoce. Uma proporção significativamente maior de pacientes com ELA e genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ tinha sintomas bulbares, enquanto o genótipo $\epsilon 2/\epsilon 3$ parecia predispor à doença de início pelos membros. Assim, um papel protetor foi conferido aos alelos $\epsilon 2$ e $\epsilon 3$, tal qual na doença de Alzheimer, e uma influência deletéria foi sugerida para o alelo $\epsilon 4$ (MAJLOOR-KRAKAUER et al, 2003).

O mecanismo exato do efeito deletério de $\epsilon 4$ é desconhecido, mas pode simplesmente resultar da falta dos alelos $\epsilon 2$ e $\epsilon 3$. Os produtos dos genes ApoE $\epsilon 2$ e $\epsilon 3$ têm resíduos de cisteína importantes na detoxificação de um produto de peroxidação lipídica, 4-hidroxi-nonenal (HNE), que causa apoptose e está aumentado na medula espinhal de pacientes com ELA. Os produtos do gene $\epsilon 4$ não contêm resíduos de cisteína, logo carecem de ação protetora contra apoptose mediada por HNE. Isto poderia explicar a relação entre estes genótipo ApoE e a susceptibilidade para neurodegeneração (PEDERSEN et al, 2000). Contudo, outros estudos não confirmam a relação entre o alelo $\epsilon 4$ e início precoce, menor sobrevida e presença de sintomas bulbares no início da ELA (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Assim também para pacientes com ELA e CPD de Guam nenhuma associação foi encontrada com os alelos ApoE (CHEN et al, 1996; WARING et al, 1994).

2.3.2.4 Fator Neutrófico Ciliar (FNTC)

Níveis diminutos de FNTC nos neurônios motores na medula espinhal podem contribuir para o desenvolvimento de ELA, o que se baseia em várias linhas de evidência. Em primeiro plano, baixos níveis de FNTC foram identificados em neurônios de pacientes com ELA (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Em segundo, abolição da expressão gênica de FNTC em ratos knock out para este gene ocasiona neurodegeneração progressiva (MASU et al, 1993). Em terceiro, a frequência do estado homozigoto para a mutação no gene do FNTC está levemente aumentada nos pacientes com ELA esporádica (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A heterosigose para o gene FNTC não está elevada na ELA e o papel do FNTC na ELA parece ser modesto (TAKAHASHI et al, 1994). Além disso, em um estudo mais recente com uma amostra de 400 pacientes com ELA, 351 dos quais com ELA esporádica e 49 com ELA familiar e mutação homozigótica para o gene SOD1, não foram verificadas diferenças na idade de início, apresentação clínica, taxa de progressão e tempo de duração da doença naqueles com uma ou duas cópias do alelo nulo, sugerindo que o FNTC não modifica de forma importante a ELA.

2.3.2.5 Debrisoquina Hidroxilase Citocromo P450

O polimorfismo protéico no gene da proteína debrisoquina hidroxilase citocromo P450 (CYP2D6) responde por taxa diminuta de metabolismo de toxinas exógenas, tornando-se um dos fatores de risco para doença de Parkinson (SMITH et al, 1992). Três estudos mencionaram o alelo b da CYP2D6 como fator de risco para ELA. Um estudo não revelou associação entre este alelo e a ELA dentre 50 pacientes com a doença e controles (JAMES et al, 1994). Um segundo estudo apresentou aumento significativo da frequência do alelo CYP2D6 b em 50 pacientes (SIDDONS et al, 1996). Nos Chamorros a frequência deste alelo mutante é mais alta que em caucasianos. Mas nenhuma diferença foi descrita entre a população de chamorros saudáveis e pacientes com ELA e CDP de Guam (CHEN et al, 1996).

2.3.2.6 Endonuclease Apurínica e Apirimidínica (APEX)

Como níveis reduzidos da enzima de reparo do DNA endonuclease apurínica apirimidínica foram detectados no córtex frontal de pacientes com ELA, acredita-se que esta alteração seja um fator de risco (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Dois estudos sustentam esta hipótese: as mutações foram encontradas em 4 de 117 pacientes com ELA esporádica e quatro de nove pacientes com ELA, mas não em controles (HAYWARD et al, 1999; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A EAA também deve ter um papel no complexo parkinsonismo-demência de Guam em razão da sua interação com um metabólito da Cicasina (metilazoximetanol-MAM), uma gene-toxina potencial na ELA de Guam, que leva a baixas concentrações e atividade reduzida da EAA (ESCLAIRE et al, 1999). Embora as mutações no gene da EAA não contribuam para uma grande proporção de casos, o papel na lesão do DNA pode ser importante.

2.3.2.7 Metabolismo Mitocondrial (COX)

Acumulam-se evidências de disfunção mitocondrial tanto adquirida quanto herdada na ELA. A disfunção mitocondrial foi detectada em biópsias musculares de pacientes com ELA (BEAL, 2000), assim como um aumento da lesão oxidativa à autópsia do sistema nervoso central de doentes com ELAF e ELA esporádica (BOWLING et al, 1993; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A vacuolização mitocondrial é uma característica patológica precoce em ratos mutantes para o gene SOD1, sugerindo que o leakage e a translocação na mitocôndria possa ser um evento primário, levando a maior degeneração (JAARSMA et al, 2001). Adicionalmente, foram relatados na ELA mutações no DNA mitocondrial (DNAMt), como deleções ou depleção (VIELHABER et al, 2000), e a mutação da subunidade 1 da oxidase do citocromo C codificado pelo DNAMt (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Disfunções mitocondriais podem ser causadas também por níveis diminuídos de manganase superóxido dismutase mitocondrial (SOD2). Esta enzima mitocondrial é codificada por um gene nuclear no cromossomo 6. Ademais, foi descoberta uma mutação Ala9Val na SOD2 em alguns pacientes com ELA esporádica (VAN LANDEGHEM et al, 1999). Não obstante, ocorre em ratos knockout para SOD2 degeneração nos gânglios da base, bem como distúrbio motor progressivo com paresia (LEBOWITZ e PEDERSEN, 1996). Em adição, neurônios murinos com níveis diminuídos de SOD1 cultivados são mais sensíveis à neurotoxicidade do glutamato que aqueles com atividade de SOD2 intacta (LI et al, 1998). E ainda, a disfunção de SOD2 exacerba a expressão da doença em ratos transgênicos para SOD1 (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

2.3.2.8 Dinactina 1 (DCTN1)

O gene da Dinactina 1 foi mapeada no cromossoma humano 2p13 (KORTHAUS et al, 1997). A interação dineína-dinactina é provavelmente um componente essencial para o transporte axonal de vesículas e organelas (HOLZBAUR e TOKITO, 1996).

Foi relatada uma troca única de base no gene da DCTN 1 em uma família norte americana com doença do neurônio motor inferior autossômica dominante sem alterações sensoriais, resultando na substituição de uma serina por uma glicina na posição 9 nos membros afetados. A substituição G59S ocorreu em uma subunidade altamente conservada de dinactina com ligação direta a microtúbulos. A dinactina é essencial para o transporte retrógrado de vesículas e organelas nos microtúbulos (PULS et al, 2003).

Mostrou-se em dois irmãos com ALS provável heterosigose para a transição 3153C-T no exon 20 do gene da dinactina, resultando em uma substituição de arg785 por trp (R785W). A paciente apresentou inicialmente envolvimento dos membros superiores aos 55 anos, enquanto um irmão abriu o quadro com início bulbar aos 64 anos. A irmã e a mãe assintomáticas eram portadoras da mesma mutação, o que sugere penetração incompleta. A mutação não foi identificada em 150 controles (MUNCH et al, 2004).

2.3.2.9 Outros Genes Candidatos

Foram propostos vários genes candidatos para ELA, seja como uma doença monogênica ou multifatorial. Apesar da SOD1 estar envolvida na ELA por meio de mecanismos não relacionados à atividade anti-oxidante, incluem-se entre os genes adicionais aqueles importantes na remoção de radicais livres. A proteína citosólica copper-chaperone para superóxido desmutase (CCS) medeia o aporte de cobre para SOD1. Experimentos em ratos knockout para CSS mostraram redução marcante da atividade de SOD1, sugerindo o papel da CCS na ELA (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

A associação entre o alelo B da monoamino oxidase (MAO-B), um gerador de radicais livres, com o início tardio de ELA, evidencia influência no dano oxidativo na ELA (ORRU et al, 1999). O gene Bcl-2, codificante de uma proteína inibidora de apoptose, pode estar implicado na ELA, uma vez que ele atenua a neurodegeneração em modelos de ELA mediados por SOD1 (VUKOSAVIC et al, 1999). A medula espinhal de pacientes com ELA apresentam expressão aumentada do fator de transcrição do RNAm c-jun, que, evidentemente, pode estar correlacionado ao processo neurodegenerativo da ELA (JAARSMA et al, 1996; VIRGO e DE BELLEROCHE, 1995).

Outros genes candidatos pertencem ao grupo daqueles associados a ELA e linfoma (GORDON et al, 1997; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). É possível que a região no braço longo do cromossomo 22, próxima aos genes de neurofilamentos, contenha vários genes potencialmente moduladores da susceptibilidade a ELA: o grupo sanguíneo fenótipo P2 é sobre-representado dentre os pacientes com ELA (43% dos veteranos americanos com ELA, mais que o dobro do esperado), e aparece freqüentemente nos índios Chamorros das ilhas de Guam e Saipan. O grupo sanguíneo P2 é igualmente freqüente na população da Suécia setentrional, onde a mutação D90A prevalece (AL-CHALABI et al, 1998; MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). A grande similaridade estrutural entre P2 e gangliosídeo GM1 poderia explicar as características imunológicas típicas de pacientes com ELA, como o aumento de anticorpos imunoglobulina M (IgM) contra o gangliosídeo GM1 por reação cruzada com os antígenos do grupo sanguíneo do sistema P (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

Outros genes podem interferir na predisposição à ELA. São eles, o gene da cadeia β do receptor de Interleucina 2, localizado em 22q12.2-q12 (que é um locus para outras neoplasias do sistema linfóide) e o gene do fator inibitório da leucemia (FIL) em 22q12.1-q12.2 (GIESS et al, 2000). Recentemente, ratos knockout para elemento de resposta à hipóxia (ERH) do gene do fator endotelial de crescimento vascular (FCEV) desenvolveram uma condição similar à da ELA, mas as mutações em FECV ainda não foram detectadas na ELA humana (OOSTHUYSE et al, 2001).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há fortes evidências de interação entre genes ou entre seus produtos em ratos duplamente transgênicos. O efeito prejudicial seletivo dos genes mutados na ELA indica a interação entre genes especificamente expressos em neurônios. Por outro lado, não se exclui a deficiência específica de proteção neuronal contra os efeitos prejudiciais dos genes da ELA (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

Experimentos recentes demonstraram efeito de modificação recíproco entre genes da ELA (genes da SOD1, neurofilamentos, excitotoxicidade e mitocondriais). O efeito genético de modificação pode resultar de uma interação entre produtos gênicos (interação entre proteínas). Porém, é plausível que produtos gênicos alterados modulem a expressão gênica - interação proteína-gene (NEWBERRY e ABBOTT, 2001).

Modelos murinos transgênicos comprovaram que mutações nos genes de neurofilamentos retardam a ELA mediada por SOD1. O efeito interativo entre genes pode também aumentar a neurodegeneração, como na elevação da vulnerabilidade à excitotoxicidade observada nas mutações SOD1, na sobre-regulação do gene Tau pela toxicidade do glutamato e na alta prevalência do raro grupo sanguíneo P2 nos habitantes nativos de Guam e na população escandinava, na qual a mutação SOD1 causa uma rara forma recessiva de ELA1 (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

Suspeita-se de uma interação gene-ambiente, quando um fator de risco ambiental específico modula o risco para uma doença em pessoas com susceptibilidade genotípica. Deve-se considerar o controle exógeno da expressão genotípica como uma causa possível de neurodegeneração, sobretudo na ELA de Guam. A observação de que o acúmulo de neurofilamentos (um marco patológico na ELA de Guam e do CPD) freqüente na população indígena Chamorro de Guam, na qual o consumo alimentar de sementes da palmeira Cicade é alto, corrobora para a hipótese de que a ingestão de sementes de cicade, para um subgrupo específico desta população com predisposição genética para acúmulo de neurofilamentos, possa ser mais danosa (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003).

A prevalência do polimorfismo do gene Tau na população de Guam, distinto das mutações slice site na FTDP-17 (POORKAJ et al, 2001), e a observação de que a cicasina pode causar sobre-expressão persistente de RNAm Tau (ESCLAIRE et al, 1999), sugerem que o polimorfismo tau pode aumentar a susceptibilidade à expressão de tau modulada pela cicasina. Ainda, o polimorfismo específico do gene CYP2D6, mais freqüente na população de Chamorro, pode elevar a susceptibilidade às toxinas ambientais locais prevalentes (CHEN et al, 1996).

A detecção de fatores de risco ambiental implicados na interação gene-ambiente na ELA é difícil, por força da heterogeneidade genética da ELA e porque a exposição específica pode levar somente a um pequeno aumento no risco. Além disso, o

mecanismo patogênico dos genes mutados na ELA variam conforme o gene, e até mesmo segundo a mutação, alguns agindo sobre o acúmulo de neurofilamentos, outros através da via da excitotoxicidade.

Cada gene de ELA ou mesmo cada mutação pode responder a um diferente estímulo ambiental. Provavelmente a abordagem mais sensata para o estudo da interação gene-ambiente na ELA seria a de avaliar o efeito adicional de fatores ambientais sobre mutações específicas nos genes de ELA (pois a expressão variável na ELA monogênica pode depender da exposição endógena) ou sobre a variação alélica de genes de susceptibilidade, como foi preconizado para a demência de Alzheimer (SLOOTER e DUIJN, 1997). A identificação da interação gene-ambiente é de grande importância, pois a evidência de influências exógenas na evolução da doença ajudaria a elaborar estratégias de prevenção da doença na população de risco. Além do que, poderia auxiliar a esclarecer a patogênese da ELA.

Neuropatologicamente, os distintos tipos de ELA familiar e esporádica caracterizam-se pela inclusão neuronal de neurofilamentos. Esses achados apontam para uma patogênese comum na degeneração de neurônios motores em todos os tipos de ELA. O maior desafio da pesquisa atual é descobrir o papel das mutações nos genes maiores e nos genes de susceptibilidade no mecanismo patogênico.

Muitas doenças neurodegenerativas, incluindo ELA, demência de Alzheimer, doença de Pick, doença de Parkinson, doença por príons e doença por expansão de trinucleotídeos caracterizam-se por placas senis, corpúsculo de Lewy, acúmulo neurofibrilar, inclusões citoplasmáticas na glia, esferóides etc. Todas estas lesões constituem-se de proteínas, como o β -amilóide, Tau, neurofilamentos, α -sinucleína, príons ou proteínas contendo poliglutamina. Por isso, é possível que todas estas doenças neurodegenerativas resultem da interação anormal entre proteínas, que não leva só à perda de função, mas também ao ganho de função, cujos efeitos sobre neurônios podem levá-los à morte (MAJOOR-KRAKAUER et al, 2003). Novas abordagens terapêuticas para a prevenção ou reversão da interação anormal de proteína-proteína poderiam mostrar benefícios para o grupo de doenças neurodegenerativas caracterizadas pela agregação anormal de proteínas.

REFERÊNCIAS

ABALKHAIL, H., MITCHELL, J., HABGOOD, J. et al. A new familial amyotrophic lateral sclerosis locus on chromosome 16q12.1-16q12.2. **Am J Hum Genet**, v.2, p. 283-289, 2003.

AGUIRRE, T., MATTHIJS, G., ROBBERECHT, W., TILKIN, P., CASSIMAN, J.J. Mutational analysis of the Cu/Zn superoxide dismutase gene in 23 familial and 69 sporadic cases of amyotrophic lateral sclerosis in Belgium. **Eur J Hum Genet**, v.7, p.599-602, 1999.

AHLKOG, J.E., WARING, S.C., KURLAND, L.T. et al. Guamanian neurodegenerative disease: investigation of the calcium metabolism/heavy metal hypothesis. **Neurology**, v.45, p.1340-1344, 1995.

AL-CHALABI, A., ANDERSEN, P.M., CHIOZA, B. et al. Recessive amyotrophic lateral sclerosis families with the D90A SOD1 mutation share a common founder: evidence for a linked prospective factor. **Hum Mol Genet**, v.7, p. 2045-2050, 1998.

AL-CHALABI, A., ANDERSEN, P.M., NILSSON, P. et al. Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis. **Hum Mol Genet**, v.8, p.157-164, 1999.

AL-CHALABI, A., ENAYAT, Z.E., BAKKER, M.C. et al. Association of apolipoprotein E epsilon 4 allele with bulbar-onset motor neuron disease. **Lancet**, v.347, p.159-160, 1996.

AL-CHALABI, A., SCHEFFLER, M.D., SMITH, B.N. et al. Ciliary neurotrophic factor genotype does not influence clinical phenotype in amyotrophic lateral sclerosis. **Ann Neurol**, v.54, p. 130-134, 2003.

ANDERSEN, P.M., FORSGREN, L., BINZER, M. et al. Autosomal recessive adult-onset amyotrophic lateral sclerosis associated with homozygosity for Asp90Ala CuZn-superoxide dismutase mutation. A clinical and genealogical study of 36 patients. **Brain**, v.119, p.1153-1172, 1996.

ANDERSEN, P.M., NILSSON, P., ALA-HURULA, V. et al. Amyotrophic lateral sclerosis associated with homozygosity for a Asp90Ala mutation in CuZn-superoxide dismutase. **Nat Genet**, v.10, p.61-66, 1995.

ANDERSEN, P.M., NILSSON, P., KERANEN, M.L. et al. Phenotypic heterogeneity in motor neuron disease patients with CuZn-superoxide dismutase mutations in Scandinavia. **Brain**, v.120, p.1723-1737, 1997.

BEAL, M.F. Energetics in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. **Trends Neurosci**, v.23, p.298-304, 2000.

BEAULIEU, J.M., NGUYEN, M.D., JULIEN, J.P. Late onset death of motor neurons in mice overexpressing wild-type peripherin. **J Cell Biol**, v.147, p.531-544, 1999.

BECK, M. et al. Identification, molecular cloning, and characterization of a novel GABA-A receptor-associated protein, GRIF-1. **J Biol Chem**, v.277, p. 30079-30090, 2002.

BEERS DR, HO BK, SIKLOS L et al. Parvalbumin overexpression alters immune-mediated increases in intracellular calcium, and delays disease onset in a transgenic model of familial amyotrophic lateral sclerosis. **J Neurochem**, v.79, p.499-509, 2001.

BERGER, M.M., KOPP, N., VITAL, C., REDL, B., AYMARD, M., LINA, B. Detection and cellular localization of enterovirus RNA sequences in spinal cord of patients with ALS. **Neurology**, v.54, p.20-25, 2000.

BIRD, T.D., NOCHLIN, D., POORKAJ, P. et al. A clinical pathological comparison of three families with frontotemporal dementia and identical mutations in the tau gene (P301L). **Brain**, v.122, p.741-756, 1999.

BOWLING, A.C., SCHULZ, J.B., BROWN, R.H. JR, BEAL, M.F. Superoxide dismutase activity, oxidative damage, and mitochondrial energy metabolism in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. **J Neurochem**, v.61, p.2322-2325, 1993.

BRUIJN, L.I., HOUSEWEART, M.K., KATO, S. et al. Aggregation and motor neuron toxicity of na ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1. **Science**, v.281, p.1851-1854, 1998.

CAPARROS-LEFEBVRE, D., SERGEANT, N., LEES, A. et al. Guadeloupean parkinsonism: a cluster of progressive supranuclear palsy-like tauopathy. **Brain**, v.125, p.801-811, 2002.

CASHMAN, N., WHITE, C., ANDERSON, F. Gender and presentation age in ALS patient care database. **Neurology**, v.52, p.A166, 1999.

CHEN, X., XIA, Y., GRESHAM, L.S. et al. ApoE and CYP2D6 polymorphism with and without parkinsonism-dementia complex in the people of Chamorro, Guam. **Neurology**, v.47, p.779-784, 1996.

CHEN, Y.Z., BENNET, C.L., HUYNH, H.M. et al. DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). **Am J Hum Genet**, v.74, p.1128-1135, 2004.

CLARK, L.N., POORKAJ, P., WSZOLEK, Z. et al. Pathogenic implications of mutations in the tau gene in pallido-ponto-nigral degeneration and related neurodegenerative disorders linked to cromosome 17. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.95, p.13103-13107, 1998.

CLEVELAND D. W. From Charcot to SOD1: mechanisms of selective motor neuron death in ALS. **Neuron**, v.24, p.515-520, 1999.

COLLARD, J.F., COTE, F., JULIEN, J.P. Defective axonal transport in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. **Nature**, v.375, p.61-64, 1995.

CORNBLATH, D.R., KURLAND, L.T., BOYLAN, K.B., MORRISON, L. T., BOYLAN, K. B., MORRISON, L. et al. Conjugal amyotrophic lateral sclerosis: report of a young married couple. **Neurology**, v.43, p.2378-2380, 1993.

COUILLARD-DESPRES, S., MEIER, J., JULIEN, J.P. Extra axonal neurofilaments do not exacerbate disease caused by mutant Cu,Zn superoxide dismutase. **Neurobiol Dis**, v.7, p.462-470, 2000.

COTE, F., COLLARD J.F., JULIEN J. P. Progressive neuropathy in transgenic mice expressing the human neurofilament heavy gene: a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. **Cell**, v.73, p.35-46, 1993.

COURATIER, P., SINDOU, P., TABARAUD, F., DIOP, A.G., SPENCER, P.S., HUGON, J. Modulation of tau neuronal expression induced by NMDA, non-NMDA and metabotropic glutamate receptor agonists. **Neurodegeneration**, v.4, p.33-41, 1995.

COX, P.R., ZOGHBI, H.Y. Sequencing, expression analysis, and mapping of three unique human tropomodulin genes and their mouse orthologs. **Genomics**, v.63, p.97-107, 2000.

DE BELLEROCHE, J., ORRELL, R., KING, A. Familial amyotrophic lateral sclerosis/motor neurone disease (FALS): a review of current developments. **J Med Genet**, v.32, p.841-847, 1995.

DENG, H.X., TAINER, J.A., MITSUMOTO, H. et al. Two novel SOD1 mutations in patients with familial amyotrophic lateral sclerosis. **Hum Mol Genet**, v.4, p.1113-1116, 1995.

DUMANCHIN, C., CAMUZAT, A., CAMPION, D. et al. Segregation of a missense mutation in the microtubule-associated protein tau gene with familial frontotemporal dementia and parkinsonism. **Hum Mol Genet**, v.7, p.1825-1829, 1998.

ELIAN, M., DEAN, G. Motor neuron disease and multiple sclerosis among immigrants to England from the Indian subcontinent, the Caribbean, and east and west Africa. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.56, p.454-457, 1993.

ESCLAIRE, F., KISBY, G., SPENCER, P., MILNE, J., LESORT, M., HUGON, J. The Guam cycad toxin methylazoxymethanol damages neuronal DNA and modulates tau mRNA expression and excitotoxicity. **Exp Neurol**, v.155, p.11-21, 1999.

FERRI, A., GABBIANELLI, R., CASCIATI, A., CELSI, F., ROTILIO, G., CARRI, M.T. Oxidative inactivation of calcineurin by Cu,Zn superoxide dismutase G93A, a mutant typical of familial amyotrophic lateral sclerosis. **J Neurochem**, v.79, p.531-538, 2001.

FERRI, A., GABBIANELLI, R., CASCIATI, A., PAOLUCCI, E., ROTILIO, G., CARRI, M.T. Calcineurin activity is regulated both by redox compounds and by mutant familial amyotrophic lateral sclerosis-superoxide dismutase. **J Neurochem**, v.75, p.606-613, 2000.

GAROFALO, O., FIGLEWICZ, D.A., LEIGH, P.N. et al. Androgen receptor gene polymorphisms in amyotrophic lateral sclerosis. **Neuromuscul Disord**, v.3, p.195-199, 1993.

GIESS, R., BECK, M., GOETZ, R., NITSCH, R.M., TOYKA, K.V., SENDTNER, M. Potential role of LIF as a modifier gene in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. **Neurology**, v.54, p.1003-1005, 2000.

GOEDERT, M., CROWTHER, R.A., SPILLANTINI, M.G. Tau mutations cause frontotemporal dementias. **Neuron**, v.21, p.955-958, 1998.

GORDON, P.H., ROWLAND, L.P., YOUNGER, D.S. et al. Lymphoproliferative disorders and motor neuron disease: an update. **Neurology**, v.48, p.1671-1678, 1997.

GROS-LOUIS, F. et al. A frameshift deletion in peripherin gene associated with amyotrophic lateral sclerosis. **J Biol Chem**, v.279, p.45951-45956, 2004.

FIGLEWICZ, D.A., KRIZUS, A., MARTINOLLI, M.G. et al. Variants of the heavy neurofilament subunit are associated with development of amyotrophic lateral sclerosis. **Hum Mol Genet**, v.3, p. 1757-1761, 1994.

HADANO, S., HAND, C.K., OSUGA, H. et al. A gene encoding a putative GTPase regulator is mutated in familial amyotrophic lateral sclerosis 2. **Nat Genet**, v.29, p.166-173, 2001.

HADANO, S., YANAGISAWA, Y., SKAUG, J. et al. Cloning and characterization of three novel genes, ALS2CR1, ALS2CR2 and ALS2CR3, in the juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS2) critical region at chromosome 2q33-q34: candidate genes for ALS2. **Genomics**, v.71, p.200-213, 2001.

HAND, C.K., DEVON, R.S., GROS-LOUIS, F. et al. Mutation screening of the ALS2 gene in sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. **Arch Neurol**, v.60, p.1768-1771, 2003.

HAND, C.K., KHORIS, J., SALACHAS, F. et al. A novel locus for familial amyotrophic lateral sclerosis, on chromosome 18q. **Am J Hum Genet**, v.70, p.1, 2001.

HAYWARD, C., COLVILLE, S., SWINGLER, R.J., BROCK, D.J. Molecular genetic analysis of the APEX nuclease gene in amyotrophic lateral sclerosis. **Neurology**, v.52, p.1899-1901, 1999.

HENTATI, A., BEJAOU, K., PERICAK-VANCE, M.A. et al. Linkage of recessive familial amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 2q33-q35. **Nat Genet**, v.7, p.425-428, 1994.

HENTATI, A.O.K., PERICAK-VANCE, M.A., AHMAD, A. et al. Linkage of a common locus for recessive amyotrophic lateral sclerosis. **Am J Hum Genet**, v.61, p.A279, 1997.

HEUTINK, P. Untangling tau-related dementia. **Hum Mol Genet**, v.9, p.979-986, 2000.

HOLZBAUR, E.L., TOKITO, M.K. Localization of the DCTN1 gene encoding p150Glued to human chromosome 2p13 by fluorescence in situ hybridization. **Genomics**, v.31 (n.3), p. 398-399, 1996.

HOSLER, B.A., SIDDIQUE, T., SAPP, P.C. et al. Linkage of familial amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal dementia to chromosome 9q21-q22. **JAMA**, v.284, p.1664-1669, 2000.

HUTTON, M., LENDON, C.L., RIZZU, P. et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. **Nature**, v.393, p.702-705, 1998.

IKEDA, M., ABE, K., AOKI, M. et al. Variable clinical symptoms in familial amyotrophic lateral sclerosis with a novel point mutation in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. **Neurology**, v.45, p.2038-2042, 1995.

ISHIHARA, T., HONG, M., ZHANG, B. et al. Age-dependent emergence and progression of a tauopathy in transgenic mice overexpressing the shortest human tau isoform. **Neuron**, v.24, p.751-762, 1999.

JAARSMA, D., HOLSTEGE, J.C., TROOST, D. et al. Induction of c-Jun immunoreactivity in spinal cord and brainstem neurons in a transgenic mouse model for amyotrophic lateral sclerosis. **Neurosci Lett**, v.219, p.179-182, 1996.

JACKSON, M., STEERS, G., LEIGH, P.N., MORRISON, K.E. Polymorphisms in the glutamate transporter gene EAAT2 in European ALS patients. **J Neurol**, v.246, p.1140-1144, 1999.

JAARSMA, D., ROGNONI, F., VAN DUIJIN, W., VERSPAGET, H.W., HAASDIJK, E.D et al. CuZn superoxide dismutase (SOD1) accumulates in vacuolated mitochondria in transgenic mice expressing amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutations. **Acta Neuropathol** (Berlin), v.102, p.293-305, 2001.

JAMES, C.M., DANIELS, J., WILES, C.M., OWEN, M.J. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism in motor neuron disease. **Neurodegeneration**, v.3, p.149-152, 1994.

JONES, C. T., SWINGLER, R. J., SIMPSON, S. A., BROCK, D. J. Superoxide dismutase mutations in a unselected cohort of Scottish amyotrophic lateral sclerosis patients. **J Med Genet**, v.32, p. 290-292, 1995.

JULIEN, J.P. Neurofilament functions in health and disease. **Curr Opin Neurobiol**, v.9, p.554-560, 1999.

JUNEJA, T., PERICAK-VANCE, M.A., LAING, N.G., DAVE, S., SIDDIQUE, T. Prognosis in familial amyotrophic lateral sclerosis: progression and survival in patients with glu100gly and ala4val mutations in Cu,Zn superoxide dismutase. **Neurology**, v.48, p.55-57, 1997.

KARPATI, G., DALAKAS, M.C. Viral hide-and-seek in sporadic ALS: a new challenge. **Neurology**, v.54, p.6-7, 2000.

KATO, S., SUMI-AKAMARU, H., FUJIMURA, H. et al. Copper chaperone for superoxide dismutase co-aggregates with superoxide dismutase 1 (SOD1) in neuronal Lewy body-like hyaline inclusions: an immunohistochemical study on familial amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 gene mutation. **Acta Neuropathol** (Berl), v.102, p.233-238, 2001.

KHORIS, J., MOULARD, B., BRILOTTI, V. et al. Coexistence of dominant and recessive familial amyotrophic lateral sclerosis with the D90A Cu,Zn superoxide dismutase mutation within the same country. **Eur J Neurol**, v.7, p.207-211, 2000.

KIKUGAWA, K., NAKANO, R., INUZUKA, T. et al. A missense mutation in the SOD1 gene in patients with amyotrophic lateral sclerosis from the Kii Peninsula and its vicinity, Japan. **Neurogenetics**, v.1, p.113-115, 1997.

KOKUBO, Y., KUZUHARA, S., NARITA, Y. et al. Accumulation of neurofilaments and SOD1-immunoreactive products in a patient with familial amyotrophic lateral sclerosis with I113T SOD1 mutation. **Arch Neurol**, v.56, p.1506-1508, 1999.

KONG, J., XU, Z. Overexpression of neurofilament subunit NF-L and NF-H extends survival of a mouse model for amyotrophic lateral sclerosis. **Neurosci Lett**, v.281, p.72-74, 2000.

KORTHAUS, D. et al. Integrated radiation hybrid map of human chromosome 2p13: possible involvement of dynactin in neuromuscular diseases. **Genomics**, v.43 (n.2), p. 242-244, 1997.

KRUMAN, I.I., PEDERSEN, W.A., SPRINGER, J.E., MATTSON, M.P. ALS-linked Cu/Zn-SOD mutation increases vulnerability of motor neurons to excitotoxicity by a mechanism involving increased oxidative stress and perturbed calcium homeostasis. **Exp Neurol**, v.160, p.28-39, 1999.

LEBOWITZ, M.S., PEDERSEN, P.L. Protein inhibitor of mitochondrial ATP synthase: relationship of inhibitor structure to pH-dependent regulation. **Arch Biochem Biophys**, v.330, p.342-354, 1996.

LI, Y., COPIN, J.C., REOLA, L.F. et al. Reduced mitochondrial manganese-superoxide dismutase activity exacerbates glutamate toxicity in cultured mouse cortical neurons. **Brain Res**, v.814, p.164-170, 1998.

LIN, C.L., BRISTOL, L.A., JIN, L. et al. Aberrant RNA processing in a neurodegenerative disease: the cause for absent EAAT2, a glutamate transporter, in amyotrophic lateral sclerosis. **Neuron**, v.20, p.589-602, 1998.

LOBSIGER, C.S. et al. Altered axonal architecture by removal of the heavily phosphorylated tail domains strongly slows superoxide dismutase 1 mutant-mediated ALS. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.102 (n.29), p. 10351-10356, 2005.

MAJOOR-KRAKAUER, D., HOFMAN, A., GALJAARD, H., JOHNSON, W.G., ROWLAND, L.P., OTTMAN, R. Increased familial aggregation of dementia and parkinsonism in amyotrophic lateral sclerosis. **Clin Genet**, v.62, p.83-101, 2003.

MAJOOR-KRAKAUER, D., OTTMAN, R., JOHNSON, W.G., ROWLAND, L.P. Familial aggregation of amyotrophic lateral sclerosis, dementia, and Parkinson's disease: evidence of shared genetic susceptibility. **Neurology**, v.44, p.1872-1877, 1994.

MASU, Y., WOLF, E., HOLTMANN, B., SENDTNER, M., BREM, G., THOENEN, H. Disruption of the CNTF gene results in motor neuron degeneration. **Nature**, v.365, p.27-32, 1993.

MCGEER, P.L., SCHWAB, C., MCGEER, E.G., HADDOCK, R.L., STEELE, J.C. Familial nature and continuing morbidity of the amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex of Guam. **Neurology**, v.49, p.400-409, 1997.

MERSIYANOVA, I. V., PEREPELOV A. V., POLYAKOV A. V. et al. A new variant of Charcot-Marie-Tooth-disease type 2 is probably the result of a mutation in the neurofilament-light gene. **Am J Hum Genet**, v.67, p37-46, 2000.

MENDONÇA, D.M.F., CHIMELLI, L., MARTINEZ, A.M.B. Quantitative evidence for neurofilament heavy subunit aggregation in motor neurons of spinal cords of patients with amyotrophic lateral sclerosis. **Braz J Med Biol Res**, v.38, n.6, p.925-933, 2005.

MEYER, T., MUNCH, C., VOLKEL, H., BOOMS, P., LUDOLPH, A.C. The EAAT2 (GLT-1) gene in motor neuron disease: absence of mutations in amyotrophic lateral sclerosis and a point mutation in patients with hereditary spastic paraplegia. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.65, p.594-596, 1998.

MUNCH, C., SEDLMEIER, R. et al. Point mutations of the p150 subunit of dynactin (DCTN1) gene in ALS. **Neurology**, v.63, p.724-726, 2004.

NEWBERRY, H.J., ABBOTT, C.M. Of mice, men and motor neurons. **Trends Genet**, v.17, p.S2-S6, 2001.

NEILSON, S., ROBINSON, L., ALPEROVITCH, A. Rising amyotrophic lateral mortality in France 1968-90: increased life expectancy and inter-disease competition as an explanation. **J Neurology**, v.241, p.448-455, 1994.

NICHOLSON, S.J., WITHERDEN, A.S., HAFEZPARAST, M., MARTIN, J.E., FISHER, E.M. Mice, the motor system, and human motor neuron pathology. **Mamm Genome**, v.11, p.1041-1052, 2000.

NISHIMURA, A.L., MITNE-NETO, M. et al. A mutation in the vesicle-trafficking protein VAPB causes late-onset spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. **Am Hum Genet**, v.75, p. 822-831, 2004.

OOSTHUYSE, B., MOONS, L., STORKEBAUM, E. et al. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. **Nat Genet**, v.28, p.131-138, 2001.

OTOMO, A., HADANO, S., OKADA, T., MIZUMURA, H., KUNITA, H., SHOWGUCHI-MIYATA, J. et al. ALS2, a novel guanine nucleotide exchange factor for the small GTPase Rab5, is implicated in endosomal dynamics. **Hum. Molec. Genet**, v. 28, p. 131-138, 2001.

ORRELL, R.W. Amyotrophic lateral sclerosis: copper/zinc superoxide dismutase (SOD1) gene mutations. **Neuromuscul Disord**, v.10, p.63-68, 2000.

ORRELL, R.W., HABGOOD, J.J., GARDINER, I. et al. Clinical and functional investigation of 10 missense mutations and a novel frameshift insertion mutation of the gene for copper-zinc superoxide dismutase in UK families with amyotrophic lateral sclerosis. **Neurology**, v.48, p.746-751, 1997.

ORRU, S., MASCIA, V., CASULA, M. et al. Association of monoamine oxidase B alleles with age at onset in amyotrophic lateral sclerosis. **Neuromuscul Disord**, v.9, p.593-597, 1999.

OTERO SILICEO, E., ARRIADA-MENDICOA, N., BALDERRAMA, J. Juvenile familial amyotrophic lateral sclerosis: four cases with long survival. **Dev Med Child Neurol**, v.40, p.425-428, 1998.

OYANAGI, K., WADA, M. Neuropathology of parkinsonism-dementia complex and amyotrophic lateral sclerosis of Guam: an update. **J Neurol**, v.246, p.II19-27, 1999.

PARBOOSINGH, J.S., FIGLEWICZ, D.A., KRIZUS, A. et al. Spinobulbar muscular atrophy can mimic ALS: the importance of genetic testing in male patients with atypical ALS. **Neurology**, v.49, p.568-572, 1997.

PARBOOSINGH, J.S., MEININGER, V., MCKENNA-YASEK, D., BROWN, R.H. JR., ROULEAU, G.A. Deletions causing spinal muscular atrophy do not predispose to amyotrophic lateral sclerosis. **Arch Neurol**, v.56, p.710-712, 1999.

PEDERSEN, W.A., CHAN, S.L., MATTSON, M.P. A mechanism for the neuroprotective effect of apolipoprotein E: isoform-specific modification by the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. **J Neurochem**, v.74, p.1426-1433, 2000.

PLATO, C.C., GARRUTO, R.M., GALASKO, D. et al. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of Guam: changing incidence rates during the past 60 years. **Am J Epidemiol**, v.157 (n.2), p.149-157, 2002.

POORKAJ, P., GROSSMAN, M., STEINBART, E. et al. Frequency of tau gene mutations in familial and sporadic cases of non-Alzheimer dementia. **Arch Neurol**, v.58, p.383-387, 2001.

POORKAJ, P., TSUANG, D., WIJSMAN, E. et al. TAU as a susceptibility gene for amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex of Guam. **Arch Neurol**, v.58, p.1871-1878, 2001.

PRAMATAROVA, A., FIGLEWICZ, D.A., KRIZUS, A. et al. Identification of new mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene of patients with familial amyotrophic lateral sclerosis. **Am J Hum Genet**, v.56, p.592-596, 1995.

PROBST, A., GOTZ, J., WIEDERHOLD, K.H. et al. Axonopathy and amyotrophy in mice transgenic for human four-repeat tau protein. **Acta Neuropathol (Berl)**, v.99, p.469-481, 2000.

PRZEDBORSKI, S., DHAWAN, V., DONALDSON, D.M. et al. Nigrostriatal dopaminergic function in familial amyotrophic lateral sclerosis patients with and without copper/zinc superoxide dismutase mutations. **Neurology**, v.47, p.1546-1551, 1996.

PULS, I., JONNAKUTY, C. et al. **Mutant dynactin in motor neuron disease**. **Nat Genet**, v.33, p.455-456, 2003.

RABIN, B.A., GRIFFIN, J.W., CRAIN, B.J., SCAVINA, M., CHANCE, P.F., CORNBATH, D.R. Autosomal dominant juvenile amyotrophic lateral sclerosis. **Brain**, v.122, p.1539-1550, 1999.

RADUNOVIC, A., LEIGH, P.N. Cu/Zn superoxide dismutase gene mutations in amyotrophic lateral sclerosis: correlation between genotype and clinical features. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.61, p.565-572, 1996.

RATOVITSKI, T., CORSON, L.B., STRAIN, J. et al. Variation in the biochemical/biopsychal properties of mutant superoxide dismutase 1 enzymes and the rate of disease progression in familial amyotrophic lateral sclerosis kindreds. **Hum Mol Genet**, v.8, p.1451-1460, 1999.

REAUME, A.G., ELLIOTT, J.L., HOFFMAN, E.K. et al. Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. **Nat Genet**, v.13, p.43-47, 1996.

RIGGS, J. E., SCHOCHET, S. S. Rising mortality due to Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis, a manifestation of the competitive nature of human mortality. **J Clin Epidemiol**, v. 45, p. 1007-1012, 1992.

RIZZU, P., VAN SWIETEN, J.C., JOOSSE, M. et al. High prevalence of mutations in the microtubule-associated protein tau in a population study of frontotemporal dementia in the Netherlands. **Am J Hum Genet**, v.64, p.414-421, 1999.

ROBBERECHT, W., AGUIRRE, T., VAN DEN BOSCH, L., TILKIN, P., CASSIMAN, J.J., Matthijs. G. D90A heterozygosity in the SOD 1 gene is associated with familial and apparently sporadic amyotrophic lateral sclerosis. **Neurology**, v. 47, p.1336-1339, 1996.

ROBERTSON, J., BEAULIEU, J.M., DOROUDCHI, M.M., DURHAM, H.D, JULIEN, J.P. et al. Apoptotic death of neurons exhibiting peripherin aggregates is mediated by the proinflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha. **J Cell Biol**, v.155, p.217-226, 2001.

ROSEN, D.R., SIDDIQUE, T., PATTERSON, D. et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. **Nature**, v.362, p.59-62, 1993.

ROSSOR, M.N., REVESZ, T., LANTOS, P.L., WARRINGTON, E.K. Semantic dementia with ubiquitin-positive tau-negative inclusion bodies. **Brain**, v.123, p.267-276, 2000.

ROTHSTEIN, J.D., MARTIN, L.J., KUNCL, R.W. Decreased glutamate transport by the brain and spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. **N Engl J Med**, v.326, p.1464-1468, 1992.

ROWLAND, L.P.M. **Tratado de Neurologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.588-591.

RUBIO, J.P., DANEK, A., STONE, C. et al. Chorea-acanthocytosis: genetic linkage to chromosome 9q21. **Am J Hum Genet**, v.61, p.899-908, 1997.

RUDDY, D. M., PARTON, M. J., AL-CHALABI, A. et al. Two families with familial amyotrophic lateral sclerosis are linked to a novel locus on chromosome 16q. **Am J Hum Genet**, v.2, p.390-396, 2003.

SANNA, M.G., CORREIA, J.S., LUO, Y. et al. ILPIP, a novel anti-apoptotic protein that enhances XIAP-mediated activation of JNK1 and protection against apoptosis. **J Biol Chem**, v.277, p. 30454-30462, 2002.

SAPP, P.C. et al. Identification of two novel loci for dominantly inherited familial amyotrophic lateral sclerosis. **Am J Hum Genet**, v.73, p.397-403, 2003.

SCHMIDT, M.L., ZHUKAREVA, V., PERL, D.P. et al. Spinal cord neurofibrillary pathology in Alzheimer disease and Guam Parkinsonism-dementia complex. **J Neuropathol Exp Neurol**, v.60, p.1075-1086, 2001.

SHAW, C.E., ENAYAT, Z.E., POWELL, J.F. et al. Familial amyotrophic lateral sclerosis. Molecular pathology of a patient with a SOD1 mutation. **Neurology**, v.49, p.1612-1616, 1997.

SIDDIQUE, T., FIGLEWICZ, D.A., PERICAK-VANCE, M.A. et al. Linkage of a gene causing familial amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 21 and evidence of genetic-locus heterogeneity. **N Engl J Med**, v.324, p.1381-1384, 1991.

SIDDONS, M.A., PICKERING-BROWN, S.M., MANN, D.M., OWEN, F., COOPER, P.N. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism frequencies in patients with amyotrophic lateral sclerosis. **Neurosci Lett**, v.208, p.65-68, 1996.

SLOOTER, A.J., VAN DUIJN, C.M. Genetic epidemiology of Alzheimer disease. **Epidemiol Rev**, v.19, p.107-119, 1997.

SMITH, C.A., GOUGH, A.C., LEIGH, P.N. et al. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease [published erratum appears in *Lancet* 1992 July 4; 340 (8810): 64] [see comments]. **Lancet**, v.339, p.1375-1377, 1992.

SMITH, C. A., GOUGH, A. C., LEIGH, P. N. et al. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism in motor neuron disease. **Neurodegeneration**, v.3, p.149-152, 1992.

SPELLANTINI, M.G., GOEDERT, M. Tau mutations in familial frontotemporal dementia. **Brain**, v.123, p.857-859, 2000.

STANFORD, P.M., HALLIDAY, G.M., BROOKS, W.S. et al. Progressive supranuclear palsy pathology caused by a novel silent mutation in exon 10 of the tau gene: expansion of the disease phenotype caused by tau gene mutations. **Brain**, v.123, p.880-893, 2000.

STEVENS, M., VAN DUIJIN, C.M., KAMPHORST, W. et al. Familial aggregation in frontotemporal dementia. **Neurology**, v.50, p.1541-1545, 1998.

SWASH, M. An algorithm for ALS diagnosis and management. **Neurology**, v.53 (Suppl. 5), p. S58-S62, 1999.

TAKAHASHI, R., YOKOJI, H., MISAWA, H. et al. A null mutation in the human CNTF gene is not causally related to neurological diseases. **Nat Genet**, v.7, p.79-84, 1994.

TRAYNOR, B.J., CODD, M.B., CORR, B., FORDE, C., FROST, E., HARDIMAN, O. Incidence and prevalence of ALS in Ireland, 1995-97: a population-based study. **Neurology**, v. 52, p. 504-509, 1999.

TROTTI, D., ROLFS, A., DANBOLT, N.C., BROWN, R.H. JR., HEDIGER, M.A. SOD1 mutants linked to amyotrophic lateral sclerosis selectively inactivate a glial glutamate transporter. **Nat Neurosci**, v.2, p.427-433, 1999.

VAN LANDEGHEM, G.F., TABATABAIE, P., BECKMAN, G., BECKMAN, L., ANDERSEN, P.M. Manganese-containing superoxide dismutase signal sequence

polymorphism associated with sporadic motor neuron disease. **Eur J Neurol**, v.6, p.639-644, 1999.

VELDINK, J.H., KALMIJN, S. et al. SMN genotypes producing less SMN protein increase susceptibility to and severity of sporadic ALS. **Neurology**, v.65 (n.6), p.820-5, 2005.

VELDINK, J.H., VAN DEN BERG, L.H., COBBEN, J.M. et al. Homozygous deletion of the survival motor neuron 2 gene is a prognostic factor in sporadic ALS. **Neurology**, v.56, p.749-752, 2001.

VIELHABER, S., KUNZ, D., WINKLER, K. et al. Mitochondrial DNA abnormalities in skeletal muscle of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. **Brain**, v.123, p.1339-1348, 2000.

VIRGO, L., DE BELLEROCHE, J. Induction of the immediate early gene c-jun in human spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis with concomitant loss of NMDA receptor NR-1 and glycine transporter mRNA. **Brain**, v.676, p.196-204, 1995.

VUKOSAVIC, S., DUBOIS-DAUPHIN, M., ROMERO, N., PRZEDBORSKI, S. Bax and Bcl-2 interaction in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. **J Neurochem**, v.73, p.2460-2468, 1999.

WARING, S.C., O'BRIEN, P.C., KURLAND, L.T. et al. Apolipoprotein E allele in Chamorro with amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex. **Lancet**, v.343, p.611, 1994.

WILHELMSSEN, K.C., LYNCH, T., PAVLOU, E., HIGGINS, M., NYGAARD, T.G. Localization of disinhibition-dementia-parkinsonism-amyotrophy complex to 17q21-22. **Am J Hum Genet**, v. 55, p.1159-1165, 1994.

WONG, P.C., PARDO, C.A., BORCHELT, D.R. et al. An adverse property of a familial ALS-linked SOD1 mutation causes motor neuron disease characterized by vacuolar degeneration of mitochondria. **Neuron**, v.14, p.1105-1116, 1995.

XU, Z., CORK, L.C., GRIFFIN, J.W., CLEVELAND, D.W. Increased expression of neurofilament subunit NF-L produces morphological alterations that resemble the pathology of human motor neuron disease. **Cell**, v.73, p.23-33, 1993.

YANG, Y., HENTATI, A., DENG, H.X. et al. The gene encoding alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis. **Nat Genet**, v. 29, p.160-165, 2001.

ZHANG, Z.X., ANDERSON, D.W., MANTEL, N., ROMAN, G.C. Motor neuron disease on Guam: geographic and familial occurrence, 1956-85. **Acta Neurol Scand**, v.94, p.51-59, 1996.

