

Esclerosis lateral amiotrófica: una actualización

Marín Prida Javier*

RESUMEN

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es la enfermedad degenerativa de las motoneuronas más común en los adultos. Se caracteriza por la pérdida progresiva de motoneuronas que da como resultado un cuadro clínico complejo y, finalmente, la muerte. En la presente revisión se presentan los hallazgos más recientes de la enfermedad. Menos de 10% de los pacientes corresponden a ELA familiar, asociado a varios *loci* de diversas funciones. De estos pacientes, más de 20% poseen mutaciones en el gen codificador de la enzima Cu/Zn superóxido dismutasa (SOD1). La presencia de inclusiones neuronales y defectos en el plegamiento de proteínas son comunes a todas las formas de ELA. La acumulación aberrante de neurofilamentos, la afectación del transporte axonal, el desbalance oxidativo neuronal y la excitotoxicidad mediada por glutamato son algunos de los posibles mecanismos que participan en la patogénesis de la enfermedad. El riluzol, un inhibidor de la liberación de glutamato, es la única droga aprobada para el tratamiento de la ELA, prolongando la sobrevida en tres meses. Más de 30 ensayos clínicos se han llevado a cabo con el fin de obtener nuevos tratamientos para la ELA, incluyendo antioxidantes, antiglutamatérgicos, inmunomoduladores y factores de crecimiento, con resultados insatisfactorios. Actualmente, la terapia génica, el ARN de interferencia y la terapia con células madres forman parte de las estrategias en estudio. Es probable que la intervención simultánea de varios eventos moleculares fisiopatológicos sea la estrategia más adecuada para alterar el curso de esta enfermedad.

Palabras clave: Esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de las motoneuronas.

Amyotrophic lateral sclerosis: an update

ABSTRACT

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is the most common degenerative motor neuron disease in adults. It is characterized by the progressive loss of motor neurons resulting in a complex clinical manifestation and finally, death. This review presents the most recent findings about this disease. Less than 10 % of patients are familial ALS, associated to several loci of different functions. From them, more than 20 % have mutations in the gene encoding Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) enzyme. Neuronal inclusions and defects in protein folding are present in both forms of ALS. Aberrant accumulation of neurofilament, defects in axonal transport, neuronal oxidative imbalance and glutamate excitotoxicity are some of the possible mechanisms involved in the disease pathogenesis. Riluzol, a glutamate inhibitor, is the only approved drug for ALS treatment, producing an increase of 3 months in survival. More than 30 clinic trials have been carried out to obtain new treatments for ALS, including antioxidants, glutamate inhibitors, immunomodulators and growth factors, all with failed results. Genetic therapy, interference RNA and stem cell therapy are currently in study. Probably, the right strategy to follow must be the simultaneous intervention in different molecular events to alter the disease progression.

Key words: Amyotrophic Lateral Sclerosis, motor neuron disease.

INTRODUCCIÓN

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es la enfermedad degenerativa de las motoneuronas (MNs) más común en adultos.¹ Descrita por vez primera en 1869 por el neurólogo francés Jean-Martin Charcot, la ELA ganó mucha publicidad en el siglo pasado debido a que varias celebridades la han padecido, como son los casos de la estrella de beisbol Lou Gehrig, el actor británico David Niven y el astrofísico Stephen Hawking.²

La ELA se caracteriza por una pérdida de la capacidad y actividad motoras, debido a la degeneración de neuronas a todos los niveles del sistema motor, incluyendo las MNs superiores en núcleos grises basales y corteza cerebral, e inferiores en las columnas grises de los cor-

dones medulares espinales y tallo cerebral.³ El cuadro clínico es complejo y en su inicio se puede relacionar con las regiones neurológicas involucradas: bulbar, cervical y lumbar. Los pacientes con inicio bulbar presentan disartria y disfagia. La ELA de inicio cervical se presenta con síntomas de extremidades superiores, unilateral o bilateral. La debilidad proximal se puede presentar en tareas que involucra movimientos del hombro (lavado del cabello, peinarse, etc.), mientras que la distal puede manifestarse en actividades que requieran el agarre en forma de pinza. La ELA de inicio lumbar implica la degeneración celular del asta anterior de la médula espinal lumbar, asociada con signos y síntomas de las MNs inferiores en las piernas como son la tendencia a tropezar y dificultad para mantenerse de pie (debilidad proximal).⁴

EPIDEMIOLOGÍA Y GENÉTICA

En general, 75% de los casos se inician entre la cuarta y sexta décadas de la vida y es más grave a mayor edad en

* Licenciado en Bioquímica, Investigador Aspirante.

Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana.

los afectados. La muerte sobreviene entre tres y cinco años a partir de su aparición en 50% de los pacientes, sólo 10% sobrevive 10 años o más.⁵ Aproximadamente entre 5 y 10% de los casos corresponden a ELA Familiar (ELAf), y los restantes corresponden a ELA Esporádica (ELAe). La ELAf usualmente muestra un patrón de herencia autosómico dominante, aunque se ha descrito también transmisión autosómica recesiva, de presentación más temprana en la vida, como, por ejemplo, en poblaciones consanguíneas del norte de África. Ambas formas son indistinguibles sobre la base de criterios clínicos y patológicos.⁶

En general, la incidencia anual de la ELAe se encuentra entre 1.5 y 2.5 por 100,000 individuos, con una prevalencia de alrededor de 6/100,000. Es ligeramente más frecuente en hombres, con un radio hombre/mujer de 1.5.^{4,7} Existe una forma de ELAe exclusiva del Pacífico occidental, afectando a las personas de la etnia Chamorro (Islas Marianas). Como parte de su dieta tradicional, estos individuos ingieren el vegetal *Cycas circinalis*, el cual acumula un tóxico de origen cianobacteriano, la beta-N-metilamino-L-alanina, que actúa como un agonista del

receptor glutamatérgico ionotrópico tipo NMDA. Esto sugiere que el desarrollo de esta forma de ELAe está vinculado con la excitotoxicidad mediada por glutamato.^{8,9}

Entre 20-30% de los casos de ELAf son debidos a mutaciones de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa-1 (SOD1).¹⁰ Se reportó por primera vez hace más de 15 años¹¹ y hasta el momento se han identificado más de 120 mutaciones puntuales en este gen en pacientes con ELAf, prácticamente todas ellas con herencia autosómica dominante.¹² Aunque muchos estudios de asociación genética se han realizado para la ELAf, solamente unos pocos han identificado los loci involucrados (Tabla 1).

En la mayoría de los casos de ELAf, los candidatos genéticos no se han logrado demostrar en múltiples familias, o los genes mutados se asocian también con otras enfermedades neurodegenerativas. Por tal motivo, estos genes deben ser vistos como posibles factores de riesgo, y no como causantes reales de la ELAf, sugiriendo vías que pueden estar alteradas o jugar un rol en la patogénesis de la enfermedad. Varias mutaciones genéticas representativas de este concepto se muestran en la tabla 2.

Tabla 1
Variantes genéticas de la ELA Familiar⁴

Variedad	Gen involucrado	Locus	Herencia	Función
ELA1	SOD1: Cu-Zn superóxido dismutasa	21q22.1	Autosómica dominante (AD)	Eliminar los aniones superóxido. Más de 120 mutaciones descritas, en su mayoría son puntuales, y se distribuyen en los 5 axones del gen. Pueden afectar el sitio activo, el plegamiento o la estabilidad de la proteína. ¹³
ELA2	ALS2: Alsina	2q33	Autosómica recesiva (AR)	Factor intercambiador de guanina para la GTPasa RAB5A, reguladora de la endocitosis. Se han descrito siete mutaciones diferentes que producen una proteína truncada, sugiriendo una pérdida de función. ¹⁴
ELA3	Desconocido	18q21	AD	Desconocida
ELA4	SETX: senataxina	9q34	AD	Possible función: helicasa de ARN y ADN con implicación en el procesamiento del ARN y reparación del ADN. ¹⁵
ELA5	Desconocido	15q15.1-q21.1	AR	Desconocida
ELA6	Desconocido	16q12.1-q12.2	AD	Desconocida
ELA7	Desconocido	20pter	AD	Desconocida
ELA8	VAPB	20q13.3	AD	Tráfico vesicular en el Retículo Endoplasmático hacia el Aparato de Golgi. La mutación P56S induce un cambio en la localización intracelular de la proteína hacia otros compartimentos. Provoca una ELA de inicio temprano y progresión lenta, con tremor inusual. ¹⁶
ELA10	DCTN1: dinactina 1	2p13	AD	Transporte axonal retrógrado de vesículas y organelos, asociación con microtúbulos y dineína. Se han identificado tres mutaciones en pacientes con ELA. ¹⁷

Tabla 2
Genes de susceptibilidad para la ELA

Gen involucrado	Locus	Función
ANG: angiogenina	14q11.2	RNAasa con actividad angiogénica importante en varios tejidos, incluyendo el sistema nervioso, donde pudiera representar un inductor de la neuroneovascularización. Se ha confirmado la asociación con ELA en poblaciones de Irlanda y Escocia. ^{18,19}
VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial	6p12	Citoquina que controla el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. En el sistema nervioso posee actividad protectora. Sujetos homocigóticos para algunos haplotipos de la secuencia promotora del gen VEGF tienen mayor riesgo de padecer ELA. ²⁰
SMN: proteína de sobrevida motoneuronal espinal	5q12.2-q13.3	Participa en el procesamiento del ARN. Se asocia con la degeneración de las MNs en la Atrofia Espinal Muscular. Aquellos genotipos que producen un decremento en SMN se relacionan con una mayor susceptibilidad a la ELA. ²¹
NF-H: neurofilamento subunidad pesada	22q12.2	Forma parte del citoesqueleto neuronal. Participa en el transporte axonal. Las deposiciones de neurofilamentos en soma y axón proximal son características de la ELA. Se ha observado que varias mutaciones en el gen del NF-H se relacionan con la enfermedad. ^{22,23}
CHMP2B	2p11.2	Participa en el transporte intracelular de vesículas. Una mutación heterocigótica en el exón 6 del gen codificante ha sido asociada con la ELA. ²⁴

PATOGENESIS

Entre las características patológicas de la ELA se encuentran el engrosamiento en la zona proximal de los axones motores debido al entrecruzamiento anormal y desorientación de los neurofilamentos (NFs), las inclusiones neuronales citoplasmáticas similares a cuerpos de Lewy, la fragmentación del aparato de Golgi y la degeneración axonal walleriana.²⁵ Se han propuesto numerosas hipótesis para explicar el inicio y la progresión de la ELA, incluyendo la agregación de proteínas, la excitotoxicidad mediada por glutamato, la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo, la neuroinflamación, la apoptosis y la disruptión del transporte axonal.²⁶ Sin embargo, no se ha logrado definir un mecanismo etiológico que unifique todas las evidencias, y es posible que la enfermedad progrese hacia los estadios finales a partir de causas diversas. A continuación se exponen algunas evidencias relacionadas fundamentalmente con el estrés oxidativo, la excitotoxicidad y el papel que juega la acumulación de los neurofilamentos como característica patológica esencial de la ELA.

PAPEL DE LA SOD1

La SOD1 cataliza la conversión del anión superóxido (O_2^-) en oxígeno molecular (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Es una enzima homodimérica ubicua y cada monómero une un ion de zinc y de cobre. El zinc juega un papel en la estabilidad estructural de la enzima, mientras que el cobre participa en el mecanismo catalítico. Las evidencias sugieren que la toxicidad mediada por SOD1

no es debida a una pérdida de su función, sino a una diversificación en las propiedades de la enzima.⁸ Se han propuesto dos hipótesis para explicar este efecto. Una de ellas plantea que las SOD1 mutantes pliegan incorrectamente oligomerizando en complejos de alto peso molecular que finalmente provocan la muerte de las MNs.²⁷ La segunda hipótesis plantea que las SOD1 mutantes adquieren propiedades aberrantes catalizando reacciones redox que dañan sustratos críticos para la viabilidad neuronal.¹⁴

ESTRÉS OXIDATIVO

Se ha observado que el sistema nervioso central es más susceptible al daño celular debido a la producción de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno que otros tejidos. La aparición de productos oxidativos indicadores del daño en proteínas, el ADN y los lípidos ha sido reportada en pacientes con ELA, tanto en médula espinal como en otras regiones del sistema nervioso central.²⁸ Tal es el caso de niveles incrementados de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG, marcador de daño al ADN), hemoxigenasa-1 (proteína modificadora de malondialdehído),^{29,30} y de 3-nitrotirosina.³¹ Similares resultados se obtuvieron en el modelo de ratón transgénico de sobreproducción de SOD1 mutada.^{32,33} La administración de antioxidantes en este modelo ha probado ser beneficiosa ya sea retrasando el inicio de la enfermedad, prolongando la supervivencia o ambas, como por ejemplo el extracto de la planta *Ginkgo biloba*.³⁴

Varios estudios han abordado la relación entre el riesgo a padecer ELA y la exposición ambiental a metales.³⁵ Los niveles de cobre tienden a aumentar a medida que

progesa la enfermedad, indicando una desregulación en su metabolismo y favoreciendo la generación del estrés oxidativo. El empleo de queladores de cobre, como el dietiltiocarbamato, la D-penicilamina y la batocuproína, ha mostrado efectos beneficiosos tanto *in vitro* como *in vivo*.^{36,37}

EXCITOTOXICIDAD

Una de las primeras teorías propuesta como mecanismo patogénico de la ELA fue la excitotoxicidad mediada por glutamato. Los niveles suprafisiológicos de este neurotransmisor inducen el influxo de calcio al interior neuronal, el cual activa cascadas de señalización que finalmente llevan a la muerte celular. Se han observado niveles incrementados de este neurotransmisor en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con ELA.³⁸ Este incremento puede ser el resultado de una afectación en la recaptación del neurotransmisor, que a su vez puede provocar la inactivación o pérdida de sus transportadores. Más de la mitad de los pacientes con ELA muestran una pérdida funcional dramática del transportador de glutamato EAAT2, que puede ser el resultado de un procesamiento aberrante del ARNm en estos pacientes.^{39,40} Por otro lado, se ha demostrado que el tratamiento con antagonistas del receptor de glutamato tipo AMPA en el ratón transgénico para SOD1 mutante puede prolongar su supervivencia.⁴¹ Sin embargo, se han cuestionado los mecanismos excitotóxicos como iniciadores de la patología porque se vuelven relevantes tardíamente en la enfermedad.

NEUROFILAMENTOS

Un signo patológico temprano de ambas formas de la ELA son los esferoides axonales e inclusiones en el pericario motoneuronal compuestos por agregados de neurofilamentos (NFs) y periferina.⁴² Los NFs y la periferina se expresan exclusivamente en tejido neuronal. Pertenece a la familia de los filamentos intermedios (FIs, diámetro entre 10-12 nm, intermedio entre los microtúbulos, de 23-25 nm, y los microfilamentos, de 5-8 nm), que está representada por más de 70 genes diferentes clasificados en cinco tipos sobre la base de la homología de secuencia.⁴³ Los NFs están compuestos por 3 subunidades: NF-L (68 kDa), NF-M (95 kDa) y NF-H (115 kDa) con una estequiometría de 4 : 2 : 1 en ese orden.⁴⁴ Los NFs son esenciales para el transporte de cargas dentro del axón. El estado de mayor fosforilación del dominio C-terminal de las subunidades NF-H y NF-M determina un enlentecimiento del transporte e incremento del calibre axonal, en el cual participan las proteínas motoras dineína (transporte retrógrado) y kinesina (transporte

anterógrado).^{45,46} Alrededor del 1 % de los casos de ELAe está asociado con mutaciones en el gen codificante del NF-H.^{22,47,48} Se ha demostrado la localización aberrante de NFs hiperfosforilados tanto en cultivos primarios de MNs tratadas con glutamato,⁴⁹ como en ratones transgénicos para SOD1, y la afectación consecuente del transporte axonal.⁵⁰

Por otro lado, la periferina es capaz de autoensamblarse para formar homopolímeros filamentosos, y también puede asociarse con los NFs, coexistiendo en distintos tipos neuronales, incluyendo las MNs espinales.²⁵ La sobreexpresión de periferina causa la agregación intraespinal de esta proteína y la degeneración selectiva de MNs, siendo el único FI neuronal que produce este efecto en modelos transgénicos.⁵¹ Aunque normalmente la periferina muestra bajos niveles de expresión en las MNs, se ha observado un incremento de estos niveles en pacientes con ELA y su presencia en las inclusiones motoneuronales.^{52,53} Asimismo, se han identificado algunas mutaciones en el gen codificante de la periferina relacionadas con casos de ELAe.⁵⁴

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA LA ELA

A pesar de los grandes avances logrados en el estudio de los eventos moleculares y celulares que subyacen en el desarrollo de la ELA, aún no se han obtenido drogas efectivas para el tratamiento de la enfermedad, con excepción del riluzol. Este compuesto es un inhibidor de la liberación de glutamato que prolonga 3 meses la vida de los pacientes con ELA.^{55,56} Se han llevado a cabo más de 30 ensayos clínicos que incluyen compuestos antioxidantes, anti-glutamatérgicos, moduladores del sistema inmune y factores de crecimiento, con resultados insatisfactorios (Tabla 3).⁵⁷

Entre las nuevas estrategias terapéuticas para la ELA se encuentran la terapia génica y celular. El empleo del ARN de interferencia (ARNi) para disminuir o abolir la expresión de un gen específico ha dado resultados prometedores en modelos experimentales. Por ejemplo, se ha demostrado que la inhibición de la expresión de SOD1 mediante terapia génica con ARNi en ratones transgénicos para ese gen, ha logrado mejorar la supervivencia de MNs en la médula espinal, así como un retraso en el inicio de los síntomas y mejoría en la actividad motora.^{58,59} Por otro lado, también se han empleado vectores virales como vehículo de expresión de factores tróficos en modelos de ELA, como es el caso del GDNF (Factor Neurotrófico Derivado de la Glia)⁶⁰ y el IGF-1,⁶¹ este último mostrando una eficacia terapéutica significativa. La terapia celular permite reemplazar células perdidas o proveer un soporte funcional a las células dañadas para prevenir su degeneración.

Tabla 3.
Algunos ensayos clínicos llevados a cabo para la ELA

Droga	Acción
BDNF	Neurotrofina
CNTF	Neurotrofina
Creatina	Estabiliza la función mitocondrial
Gabapentina	Anticonvulsivante
Interferón beta-1A	Immunomodulador
Lamotrigina	Inhibe la liberación de glutamato
Minociclina	Inhibe la activación de caspasas
Pentoxifilina	Inhibe el TNF α (Factor de Necrosis Tumoral- α)
IGF-1' recombinante	Neurotrofina
Riluzol	Inhibe la liberación de glutamato
Topiramato	Agente antieexcitotóxico
Vitamina E	Antioxidante

* BDNF (Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro); CNTF (Factor Neurotrófico Ciliar); IGF 1 (Factor de Crecimiento similar a Insulina 1).

ración posterior. En la ELA, la sustitución de las MNs perdidas es casi improbable debido al tiempo requerido para el crecimiento axonal y la reinervación muscular, y la rápida progresión de la enfermedad. Las investigaciones se han enfocado en la obtención de células de soporte para proteger a las MNs que permanecen vivas. Entre ellas podemos mencionar las células madres neuronales progenitoras,⁶² las células derivadas de una línea de teratocarcinoma humano⁶³ y de células de Sertoli,⁶⁴ así como células sanguíneas de cordón umbilical humano.⁶⁵

Es posible que las discrepancias entre los estudios preclínicos y clínicos de la ELA se deban a las limitaciones en los modelos *in vitro* e *in vivo* de la enfermedad. Las diferencias fisiológicas, anatómicas y genéticas entre humanos y ratones impiden la extrapolación precisa de la dosis y la farmacocinética. Los ratones transgénicos para SOD1 mutante han sido usados ampliamente en los estudios preclínicos. Estos candidatos pudieran funcionar en los casos de ELA asociados a defectos en SOD1, pero no en el resto de los pacientes que constituyen la mayoría.⁶⁶

CONCLUSIONES

La ELA es una enfermedad multifactorial donde intervienen diferentes mecanismos bioquímicos, varios genes y diversos tipos celulares. Los candidatos terapéuticos que ataquen solamente a uno de esos mecanismos pudieran no ser suficientes para alterar el curso de la enfermedad, siendo preferible la intercepción simultánea en múltiples aspectos de la patogénesis.

REFERENCIAS

- Shaw PJ. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 1046-57.
- Bruijn LI, et al. Pathways to hope. The state of research into amyotrophic lateral sclerosis (online). Available at: http://www.alsa.org/research/white_paper.cfm?CFID=2413422&CFTOKEN=35b61c8abdb4f02c83884973188B2E62805A6813AF77DB23. Accessed: Dec 20, 2008.
- Rowland LP. What's in A Name? Amyotrophic Lateral Sclerosis, Motor Neuron Disease and Allelic Heterogeneity. *Ann Neurol* 1998; 43: 691-4.
- Mitchell JD, Borasio GD. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2007; 369: 2031-41.
- Nelson LM. Epidemiology of ALS. *Clin Neurosci* 1995; 3: 327-31.
- Figlewicz DA, Orrell RW. The genetics of motor neuron diseases. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2003; 4: 225-31.
- Chio A. Risk factors in the early diagnosis of ALS: European epidemiological studies. *Amyotroph Lat Scler and Other Mot Neuron Dis* 2000; 1: S13-S18.
- Rodríguez ALR y cols. Bases biológicas y patobiológicas humanas de la esclerosis lateral amiotrófica. *Universitas Médica* 2006; 47: 35-54.
- Ince PG, Codd GA. Return of the cycad hypothesis: does the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex (ALS/PDC) of Guam have new implications for global health? *Neuropathol Appl Neurobiol* 2005; 31: 345-53.
- Andersen PM. The genetics of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Suppl Clin Neurophysiol* 2004; 57: 211-27.
- Rosen DR, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.
- Gros Louis F, et al. Genetics of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 956-72.
- Andersen PM. Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2006; 6: 37-46.
- Cozzolino M, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: from current developments in the laboratory to clinical implications. *Antioxid and Redox Sign* 2008; 10: 405-43.
- Chen YZ, et al. DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). *Am J Hum Genet* 2004; 74: 1128-35.
- Nishimura AL, et al. A mutation in the vesicle trafficking protein VAPB causes late onset spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 822-31.
- Munch C, et al. Heterozygous R1101K mutation of the DCTN1 gene in a family with ALS and FTD. *Ann Neurol* 2005; 58: 777-80.
- Greenway MJ, et al. ANG mutations segregate with familial and "sporadic" amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 2006; 38: 411-13.
- Greenway MJ, et al. A novel candidate region for ALS on chromosome 14q11.2. *Neurology* 2004; 63: 1936-8.
- Lambrechts D, et al. VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death. *Nat Genet* 2003; 34: 383-94.
- Veldink JH, et al. SMN genotypes producing less SMN protein increase susceptibility to and severity of sporadic ALS. *Neurology* 2005; 65: 820-5.
- Al Chalabi A, et al. Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 157-64.
- Tomkins J, et al. Novel insertion in the KSP region of the neurofilament heavy gene in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Neuroreport* 1998; 9: 3967-70.
- Parkinson N, et al. ALS phenotypes with mutations in CHMP2B (charged multivesicular body protein 2B). *Neurology* 2006; 67: 1074-7.
- Cluskey S, Ramsden DB. Mechanisms of neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *J Clin Pathol Mol Pathol* 2001; 54: 386-92.
- Bruijn LI, et al. Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. *Ann Rev Neurosci* 2004; 27: 723.
- Valentine JS, Hart PJ. Misfolded Cu/ZnSOD and amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3617-22.
- Shibata N, et al. Morphological evidence for lipid peroxidation and protein glycation in spinal cords from sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. *Brain Res* 2001; 917: 97-104.

29. Bogdanov MB, et al. Increased oxidative damage to DNA in ALS patients. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 652-8.
30. Ferrante RJ, et al. Evidence of increased oxidative damage in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 1997; 69: 2064-74.
31. Beal MF, et al. Increased 3-nitrotyrosine in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1997; 42: 644-54.
32. Liu D, et al. The roles of free radicals in amyotrophic lateral sclerosis: reactive oxygen species and elevated oxidation of protein, DNA, and membrane phospholipids. *FASEB J* 1999; 13: 2318-28.
33. Bogdanov MB, et al. Elevated "hydroxyl radical" generation in vivo in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 1998; 71: 1321-4.
34. Ferrante RJ, et al. Therapeutic efficacy of EGb761 (Ginkgo biloba extract) in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Mol Neurosci* 2001; 17: 89-96.
35. Bergomi M, et al. Environmental exposure to trace elements and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population based case control study. *Environ Res* 2002; 89: 116-23.
36. Gabbianielli R, et al. Aberrant copper chemistry as a major mediator of oxidative stress in a human cellular model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 1999; 73: 1175-80.
37. Hottinger AF, et al. The copper chelator d-penicillamine delays onset of disease and extends survival in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 1548-51.
38. Rothstein JD, et al. Abnormal excitatory amino acid metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1990; 28: 18-25.
39. Maragakis NJ, et al. Altered expression of the glutamate transporter EAAT2b in neurological disease. *Ann Neurol* 2004; 55: 469-77.
40. Lin CL, et al. Aberrant RNA processing in a neurodegenerative disease: the cause for absent EAAT2, a glutamate transporter, in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuron* 1998; 20: 589-602.
41. Rattray M, Bendotti C. Does excitotoxic cell death of motor neurons in ALS arise from glutamate transporter and glutamate receptor abnormalities? *Exp Neurol* 2006; 201: 15-23.
42. Kato S. Amyotrophic lateral sclerosis models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol* 2008; 115: 97-114.
43. Hesse M, et al. Genes for intermediate filament proteins and the draft sequence of the human genome: novel keratin genes and a surprisingly high number of pseudogenes related to keratin genes 8 and 18. *J Cell Sci* 2001; 114: 2569-75.
44. Lee MK, Cleveland DW. Neuronal intermediate filaments. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 187-217.
45. Shea TB, Flanagan LA. Kinesin, dynein and neurofilament transport. *Trends Neurosci* 2001; 24: 644-8.
46. Shea TB, et al. Does neurofilament phosphorylation regulate axonal transport? *Trends Neurosci* 2003; 26: 397-400.
47. Tomkins J, et al. Novel insertion in the KSP region of the neurofilament heavy gene in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Neuroreport* 1998; 9: 3967-70.
48. Figlewicz DA, et al. Variants of the heavy neurofilament subunit are associated with the development of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1757-61.
49. Ackerley S, et al. Glutamate slows axonal transport of neurofilaments in transfected neurons. *J Cell Biol* 2000; 150: 165-76.
50. Williamson TL, Cleveland DW. Slowing of axonal transport is a very early event in the toxicity of ALS linked SOD1 mutants to motor neurons. *Nat Neurosci* 1999; 2: 50-6.
51. Beaulieu JM, et al. Late onset of motor neurons in mice overexpressing wild type peripherin. *J Cell Biol* 1999; 147: 531-44.
52. He CZ, Hays AP. Expression of peripherin in ubiquinated inclusions of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 2004; 217: 47-54.
53. Robertson J, et al. A neurotoxic peripherin splice variant in a mouse model of ALS. *J Cell Biol* 2003; 160: 939-49.
54. Gros Louis F, et al. A frameshift deletion in peripherin gene associated with amyotrophic lateral sclerosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 45951-6.
55. Bensimon G, et al. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med* 1994; 330: 585-91.
56. Lacomblez L, et al. Dose ranging study of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 1996; 347: 1425-31.
57. Lanka V, Cudkowicz M. Therapy development for ALS: lessons learned and path forward. *Amyotroph Lat Scler* 2008; 9: 131-40.
58. Ralph GS, et al. Silencing mutant SOD1 using RNAi protects against neurodegeneration and extends survival in an ALS model. *Nat Med* 2005; 11: 429-33.
59. Raoul C, et al. Lentiviral mediated silencing of SOD1 through RNA interference retards disease onset and progression in a mouse model of ALS. *Nat Med* 2005; 11: 423-8.
60. Guillot S, et al. Local GDNF expression mediated by lentiviral vector protects facial nerve motoneurons but not spinal motoneurons in SOD1 (G93A) transgenic mice. *Neurobiol Dis* 2004; 16: 139-49.
61. Kaspar BK, et al. Retrograde viral delivery of IGF 1 prolongs survival in a mouse ALS model. *Science* 2003; 301: 839-42.
62. Chi L, et al. Motor neuron degeneration promotes neural progenitor cell proliferation, migration, and neurogenesis in the spinal cords of amyotrophic lateral sclerosis mice. *Stem Cells* 2006; 24: 34-43.
63. Garbuzova Davis S, et al. Positive effect of transplantation of hNT neurons (NTera 2/D1 cell line) in a model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* 2002; 174: 169-80.
64. Hemendinger R, et al. Sertoli cells improve survival of motor neurons in SOD1 transgenic mice, a model of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* 2005; 196: 235-43.
65. Garbuzova Davis S, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12: 255-70.
66. Vincent AN, et al. Strategic approaches to developing drug treatments for ALS. *Drug Discovery Today* 2008; 13(1/2): 67-72.



Correspondencia: Javier Marín Prida.

Ave. 23 No. 21425 entre 214 y 222.

La Coronela, La Lisa, Ciudad de la Habana. Cuba.

Tels.: (53 7) 271 9531/37/38.

Correo electrónico: javier@cieb.sld.cu