

Joanna Iłżecka

Received: 04.12.2012

Accepted: 12.12.2012

Published: 31.12.2012

## Mechanizmy patogenetyczne stwardnienia bocznego zanikowego

### Pathogenetic mechanisms of amyotrophic lateral sclerosis

Samodzielna Pracownia Rehabilitacji Neurologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Joanna Iłżecka, Samodzielna Pracownia Rehabilitacji Neurologicznej,  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 6, 20-093 Lublin, tel.: 505 569 275, e-mail: ilzecka@onet.pl  
*Praca finansowana ze środków własnych*

#### Streszczenie

Stwardnienie boczne zanikowe (SLA) jest chorobą neurozwyrodnieniową, w której dochodzi do uszkodzenia neuronów ruchowych. Patogeneza SLA jest prawdopodobnie wieloczynnikowa, kompleksowa i nie do końca poznana. Mogą w niej uczestniczyć takie mechanizmy, jak: stres oksydacyjny, toksyczność kwasu glutaminowego, dysfunkcja mitochondriów, stres siateczki wewnątrzplazmatycznej, agregacja białek, dysfunkcja cytoszkieletu, zaburzenia transportu aksonalnego, udział komórek glejowych, neurozapalenie, dyskrazja kwasu mlekowego, czynniki genetyczne. Istotną przyczyną stresu oksydacyjnego w SLA są mutacje genu dysmutazy nadtlenkowej 1 (*SOD1*) prowadzące do zmienionej aktywności enzymu i jego toksyczności. Zmutowany enzym *SOD1* bierze udział w reakcjach zapalnych aktywowanych astrocytów i mikrogleju w rdzeniu kręgowym chorych na SLA. Mechanizmy stresu oksydacyjnego i toksyczności glutaminianu są ze sobą sprzężone. Śmierć motoneuronów następuje wskutek aktywacji kaspaz i drogi apoptozy, a uszkodzenie funkcji mitochondriów uczestniczy w tym procesie. Zmiany patomorfologiczne w obrębie siateczki wewnątrzplazmatycznej występują już we wczesnej fazie choroby i wskazują, że stres tej struktury odgrywa istotną rolę w mechanizmie neurodegeneracji w SLA. W chorobie tej występują także nieprawidłowości cytoszkieletu dotyczące neurofilamentów. Zgodnie z hipotezą dyskrazji kwasu mlekowego dysregulacja kanału mięśniowo-neuronalnego kwasu mlekowego prowadzi do stresu komórkowego, toksyczności i postępującego zwyrodnienia. Istotną funkcję w patogenezie SLA mogą także pełnić mutacje genetyczne innych białek niż *SOD1*.

**Słowa kluczowe:** stwardnienie boczne zanikowe, mechanizmy patogenetyczne, stres oksydacyjny, toksyczność glutaminianu, dysfunkcja mitochondriów, agregacja białek, czynniki genetyczne

#### Summary

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease, resulting in a damage of motor neurons. Pathogenesis of ALS is most probably multifactorial, complex and not entirely elucidated. It may involve such mechanisms as oxidative stress, toxicity of glutamic acid, dysfunction of the mitochondria, stress of endoplasmic reticulum, aggregation of proteins, dysfunction of the cytoskeleton, disturbed axonal transport, role of glial cells, neuroinflammatory process, lactic acid dyscrasia, and genetic factors. An important cause of oxidative stress in ALS are mutations of superoxide dismutase 1 (*SOD1*) gene leading to altered activity of the enzyme and its enhanced toxicity. Abnormal *SOD1* participates in inflammatory response of activated astrocytes and microglia in the spinal cord of ALS patients. Mechanisms of oxidative stress and glutamate toxicity are coupled together. Death of motor neurons occurs as a result of activation of caspases and apoptosis, while mitochondrial dysfunction merely participates in the process. Pathomorphological alterations within the endoplasmic reticulum are present already at an early phase of the disease and indicate that stress within this structure plays an important role in the ALS-related process of neurodegeneration. Another interesting feature of ALS are alterations of cytoskeleton, concerning mainly neurofilaments. According to the hypothesis

of lactic acid dyscrasia, dysregulation of myoneuronal lactic acid channel results in cellular stress, toxicity and progressive degeneration. An important role in the pathogenesis of ALS may be also played by genetic mutations of proteins other than SOD1.

**Key words:** amyotrophic lateral sclerosis, pathogenetic mechanisms, oxidative stress, glutamate-related toxicity, mitochondrial dysfunction, aggregation of proteins, genetic factors

## WSTĘP

**S**twardnienie boczne zanikowe (łac. *sclerosis lateralis amyotrophica*, SLA) należy do grupy chorób neurozwyrodnieniowych. Dane z piśmiennictwa dostarczają informacji pozwalających przyjąć, że jest to choroba wielokomórkowa (obejmuje nie tylko neurony ruchowe, ale także komórki gleju) i wieloukładowa (obok układu ruchowego zmiany anatomiczne dotyczą również innych układów)<sup>(1)</sup>. Jednakże układ ruchowy jest uszkodzony najwcześniej i w największym stopniu, czego dowodem są objawy kliniczne choroby i ustalone na ich podstawie kryteria jej rozpoznania. Jakie są przyczyny większej czułości neuronów ruchowych na uszkodzenie? Po pierwsze są to komórki duże, o wysokim metabolizmie, stąd też ich większa wrażliwość na stres oksydacyjny. Są wrażliwe na toksyczne działanie glutaminianu poprzez aktywację receptora AMPA tego kwasu. Po drugie neurony ruchowe wykazują niższą ekspresję cytozolowych białek wiążących wapń, co również może odpowiadać za ich zwiększoną wrażliwość na stres oksydacyjny. Wykazują także większą wrażliwość na stres siateczki wewnątrzplazmatycznej. Po trzecie charakteryzują się wysoką ekspresją enzymu dysmutazy nadtlenkowej 1 (SOD1), co w przypadku jego mutacji prowadzi do stresu oksydacyjnego. Wszystkie wymienione czynniki tworzą warunki dla nadmiernej produkcji wolnych rodników tlenowych, a dodatkowe elementy budowy neuronów ruchowych, takie jak duża sieć neurofilamentów i obecność długich aksonów z rozległą powierzchnią błony plazmatycznej, sprzyjają ich oksydacyjnej modyfikacji. Neurony ruchowe posiadają także zredukowaną możliwość odpowiedzi dla białek szoku cieplnego oraz przypuszczalnie obniżoną funkcję proteasomu<sup>(2,3)</sup>.

Patogeneza SLA jest prawdopodobnie wieloczynnikowa, kompleksowa i nie do końca poznana. Mogą uczestniczyć w niej takie mechanizmy, jak: stres oksydacyjny, toksyczność kwasu glutaminowego, dysfunkcja mitochondriów, stres siateczki wewnątrzplazmatycznej, agregacja białek, dysfunkcja cytoskieletu, zaburzenia transportu aksonalnego, udział komórek glejowych, neurozapalenie, dyskrazja kwasu mlekowego, czynniki genetyczne.

## STRES OKSYDACYJNY

Stres oksydacyjny powstaje w wyniku zaburzenia równowagi pomiędzy produkcją wolnych rodników tlenowych a możliwością ich usuwania w układzie antyoksydacyjnym. Wolne rodniki tlenowe powodują uszkodzenie białek, DNA, lipidów

i błon komórek nerwowych. W płynie mózgowo-rdzeniowym chorych na SLA wykryto wzrost stężenia takich parametrów stresu oksydacyjnego, jak: 8-hydrokso-2'-deoksyguanozyna (8-OHdG), 4-hydroksynonenal czy 3-nitrotyrozyna<sup>(4-6)</sup>. Stwierdzono także wyższe stężenie 8-OHdG w próbkach rdzenia kręgowego<sup>(7)</sup>. Ponadto wykazano podwyższone stężenia białek karbonylowych w rdzeniu kręgowym i korze ruchowej osób zmarłych z powodu SLA, jak również 3-nitrotyrozyny w obrębie neuronów rdzenia kręgowego w przypadku sporadycznej i rodzinnej postaci SLA<sup>(8-11)</sup>.

Istotną przyczyną stresu oksydacyjnego w SLA są mutacje genu *SOD1* prowadzące do zmienionej aktywności enzymu, który może wywołać stres oksydacyjny także w innym mechanizmie niż jego aktywność katalityczna. Cztery główne hipotezy uwzględniające toksyczną funkcję zmutowanego enzymu SOD1 zakładają: nitrację miejsc tyrozyny w obrębie białek, tworzenie się rodników wodorotlenowych, toksyczność miedzi i cynku oraz agregację białek<sup>(12)</sup>. Zmutowany enzym SOD1 może powodować progresję choroby poprzez wzrost produkcji nadtlenków w obrębie mikrogleju. Stabilizuje Rac1-GTP w kompleksie Nox2. Utrzymuje Rac1 w aktywnej formie związanej z GTP, powodując przedłużoną aktywację Nox2 i wzrost produkcji wolnych rodników tlenowych. Wykryto zaburzenia regulacji funkcji tego enzymu zarówno w modelu myszy transgenicznych, jak i u ludzi w przypadku sporadycznego SLA<sup>(13)</sup>. Białko Oxr1 kontroluje wrażliwość komórek neuronalnych na stres oksydacyjny. Wykazano, że u myszy, które są go pozbawione, występuje neurodegeneracja, ponieważ ich neurony są bardziej wrażliwe na stres oksydacyjny. Zaburzenia regulacji tego białka występują również u ludzi chorych na SLA oraz u myszy transgenicznych jeszcze w presymptomatycznym stadium choroby<sup>(14)</sup>.

W SLA stwierdzono obniżenie regulacji genów uczestniczących w odpowiedzi antyoksydacyjnej, między innymi czynnika transkrypcyjnego Nrf2, kilku czynników należących do rodziny S-transferazy glutationu i peroksyredoksyn. Droga Nrf2/ARE może redukować stres oksydacyjny oraz zmniejszać zapalenie i uszkodzenie mitochondriów. Wykryto jej aktywację w obrębie astrocytów, co wskazuje, że odgrywają one rolę w neuroprotekcji. Dysfunkcja układu antyoksydacyjnego w astrocytach może być jednym z elementów w mechanizmie SLA. Badania wykazały zmniejszoną neuronalną ekspresję mRNA Nrf2 u ludzi chorych na sporadyczną postać SLA<sup>(15-17)</sup>.

Z danych dostępnych w literaturze wynika, że stres oksydacyjny w SLA powiązany jest z innymi procesami patofizjologicznymi biorącymi udział w uszkodzeniu neuronów

ruchowych, takimi jak: ekscytotoksyczność, uszkodzenie mitochondriów, agregacja białek, stres siateczki wewnątrzplazmatycznej i zmiana przebiegu sygnału z astrocytów i mikrogleju<sup>(3)</sup>.

### TOKSYCZNOŚĆ KWASU GLUTAMINOWEGO

Zaburzenie równowagi pomiędzy uwalnianiem a usuwaniem kwasu glutaminowego powoduje wzrost jego stężenia w synapsach i nadmierną stymulację receptorów glutaminianowych. Proces ten prowadzi do destabilizacji wewnątrzkomórkowej homeostazy wapnia i aktywacji biochemicznych procesów uszkadzających komórki. System enzymatyczny pobudzony przez wapń może uszkadzać neurony bezpośrednio lub poprzez generację wolnych rodników tlenowych<sup>(18)</sup>.

Badania wykazały podwyższone stężenie kwasu glutaminowego u chorych na SLA oraz redukcję poziomu transportera kwasu glutaminowego w zwierzęcym modelu doświadczalnym *SOD1*<sup>(19,20)</sup>. Inni badacze obserwowali obniżenie stężenia kwasu glutaminowego w wielu regionach ośrodkowego układu nerwowego w tkankach osób zmarłych z powodu SLA<sup>(21,22)</sup>. W badaniach przeprowadzonych w modelu myszy transgenicznych *SOD1* stwierdzono zmienioną ekspresję podjednostki receptora AMPA kwasu glutaminowego, zmniejszoną ekspresję i aktywność transportera kwasu glutaminowego EAAT2 oraz zaburzenia regulacji receptorów glutaminianu w obrębie astrocytów<sup>(3)</sup>. Sugeruje się, że przepuszczalność receptorów AMPA dla jonów wapnia w rogach przednich rdzenia kręgowego może być upośledzona wskutek nieprawidłowości w obrębie podjednostki GluR2 receptora AMPA kwasu glutaminowego<sup>(23)</sup>. Obecnie zidentyfikowano gen związany ze SLA kodujący oksydazę aminokwasu D (DAO). Mutacje enzymu DAO mogą brać udział w mechanizmie ekscytotoksycznego uszkodzenia neuronów ruchowych<sup>(24)</sup>.

Mutacje enzymu *SOD1* należą do najczęstszych w SLA. Uszkodzone reakcje tlenowe katalizowane przez zmutowany *SOD1* powodują wzrost produkcji wysoko reaktywnych peroksynitratów i rodników wodorowych, prowadząc do nitracji i agregacji białek. Wolne rodniki tlenowe mogą uszkadzać podjednostki neurofilamentu, czego skutkiem jest ich agregacja. Zmniejszone wiązanie cynku przez zmutowany enzym *SOD1* przyczynia się do nieprawidłowej aktywności *SOD1* i produkcji wolnych rodników. Wolne rodniki tlenowe mogą przechodzić przez błonę komórkową i aktywować mikroglej, który z kolei uwalnia cytokiny oraz wytwarza nowe wolne rodniki<sup>(2)</sup>. Mogą one uszkadzać transport kwasu glutaminowego w obrębie astrogleju, powodując wzrost stężenia tego kwasu i ekscytotoksyczność.

W SLA może zachodzić także proces wtórnej ekscytotoksyczności, związanej z obniżeniem energetycznego potencjału komórki. Zaburzenie neuronalnego metabolizmu glukozy oraz dysfunkcja mitochondrialna prowadzą do redukcji wytwarzania ATP lub nieprawidłowego funkcjonowania enzymów uczestniczących w jego powstawaniu, czego wynikiem jest utrata potencjału błonowego komórek. W tej sytuacji dochodzi do upośledzenia funkcjonowania zależnych od jonów

magnezu kanałów receptorów NMDA, co skutkuje nadmierną aktywacją tych receptorów pomimo prawidłowej ekspozycji na kwas glutaminowy<sup>(12)</sup>.

### DYSFUNKCJA MITOCHONDRIALNA

Mitochondria odgrywają zasadniczą rolę w wytwarzaniu energii wewnątrzkomórkowej, utrzymaniu prawidłowej homeostazy wapnia oraz kontroli apoptozy. Konsekwencją ich aktywności jest powstawanie wolnych rodników tlenowych, których niekontrolowane wytwarzanie może uszkadzać białka, lipidy, kwasy nukleinowe i prowadzić do zaburzenia prawidłowego funkcjonowania mitochondriów<sup>(25)</sup>.

Zmiany funkcjonowania mitochondriów związane z wiekiem mogą być istotnym czynnikiem w rozwoju chorób neurozwyrodnieniowych, również SLA. Istnieją dowody na deteriorację funkcji mitochondriów związaną z wiekiem, w tym na akumulację mutacji w mitochondrialnym DNA<sup>(12)</sup>. U osób w podeszłym wieku oraz w przypadkach chorób neurozwyrodnieniowych stwierdzono zmiany morfologiczne błon komórkowych mitochondriów i dysfunkcję oksydacyjnej fosforylacji<sup>(26)</sup>. Badania wykazały zmiany patologiczne w mitochondriach zarówno w modelu doświadczalnym myszy transgenicznych *SOD1*, jak i u ludzi chorych na SLA. Obserwowano złogi konglomeratów mitochondrialnych w rogach przednich rdzenia kręgowego oraz wzrost objętości mitochondriów w neuronach ruchowych. Zjawiskiem występującym w modelu myszy transgenicznych *SOD1* jeszcze w presymptomatycznym stadium choroby jest wakuolizacja mitochondriów. Agregaty mitochondrialne wykryto także w mięśniach chorych na SLA. Wykazano obniżenie transportu elektronowego oraz potencjału błonowego, jak również zwiększenie uszkodzenia mitochondrialnego DNA. Stwierdzono także redukcję mechanizmów mitochondrialnego systemu antyoksydacyjnego<sup>(27-29)</sup>. Fujita i wsp.<sup>(30)</sup> odnotowali obniżenie aktywności oksydazy cytochromu c w rdzeniu kręgowym osób zmarłych z powodu SLA. Wykazano ponadto zmniejszenie aktywności kompleksu I i wewnątrzkomórkowego ATP, a także wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego ADP. Uważa się, że powyższe zmiany mogą uczestniczyć w patogenezie i progresji choroby<sup>(31)</sup>. Badacze obserwowali wysoką częstość występowania mutacji mitochondrialnego DNA w obrębie kory ruchowej i rdzenia kręgowego chorych<sup>(32)</sup>.

Wzrost stężenia wapnia w mitochondrium, spowodowany toksycznością kwasu glutaminowego, może stymulować produkcję wolnych rodników tlenowych. Zmutowany enzym *SOD1* został wykryty w mitochondriach rdzenia kręgowego myszy transgenicznych *SOD1*. Jego obecność była związana z uszkodzeniem oksydacyjnym oraz wakuolizacją mitochondriów. Mitochondrialna akumulacja tego enzymu występuje w przypadku wielu mutacji *SOD1*<sup>(33)</sup>. Wykazano, że energetyczna dysfunkcja mitochondrialna wiąże się ze zmianami synaptycznymi w neuronach ruchowych z obecnością mutacji tego genu<sup>(34)</sup>. Astrocyty szczurów z tą mutacją charakteryzują się zmniejszoną zdolnością mitochondriów do syntezy ATP i produkują większe ilości tlenu azotu i nadtlenu. Dysfunkcja mitochondrialna w astrocytach ma związek z neurotoksycznym

fenotypem warunkującym krótsze przeżycie neuronów ruchowych<sup>(35)</sup>. Dowiedzono, że modulacja powyższej funkcji może wpływać na poprawę czynności ruchowych i wydłużenie okresu przeżycia myszy transgenicznych *SOD1*<sup>(36)</sup>.

Rodríguez i wsp.<sup>(37)</sup> obserwowali morfologiczne zmiany obejmujące mitochondria w obrębie skóry chorych na SLA. Stwierdzono uszkodzenie błon mitochondrialnych i redukcję organeli komórkowych. Powyższe zaburzenia strukturalne mogą odzwierciedlać zmiany w mitochondriach ośrodkowego układu nerwowego w przypadku tej choroby.

Zaproponowano metaboliczną hipotezę SLA, według której zmiany metaboliczne wywołane defektem mitochondrialnym mogą tworzyć odmienne środowisko głównie w tkankach o dużym metabolizmie, na przykład w mięśniach szkieletowych, co może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie bardziej wrażliwych neuronów ruchowych<sup>(38)</sup>. Śmierć motoneuronów w SLA następuje wskutek aktywacji kaspaz i drogi apoptozy, a uszkodzenie funkcji mitochondriów uczestniczy w tym procesie<sup>(39)</sup>.

### STRES SIATECZKI WEWNĄTRZPLAZMATYCZNEJ

Siateczka wewnątrzplazmatyczna to miejsce translacji, wiązania oraz transportu białek. Stres siateczki wewnątrzplazmatycznej jest wywołany zaburzeniami jej struktury i funkcji w wyniku akumulacji białek o nieprawidłowej budowie i zmian w homeostazie wapnia. Uruchamiana jest także odpowiedź białek o nieprawidłowej strukturze (UPR), w której uczestniczą białka ochronne i geny biorące udział w degradacji białek, translacji i indukcji apoptozy<sup>(40,41)</sup>. Zmiany patomorfologiczne w obrębie siateczki wewnątrzplazmatycznej występują już w wczesnej fazie choroby i wskazują, że stres tej struktury odgrywa istotną rolę w mechanizmie SLA<sup>(42)</sup>.

Wewnątrzkomórkowe wtręty związane z gromadzeniem się białek o nieprawidłowej budowie są charakterystyczną cechą SLA. U myszy transgenicznych *SOD1* wrażliwe neurony ruchowe wykazują zróżnicowane zaburzenia regulacji wielu markerów UPR, które to zmiany wyprzedzają proces odnerwienia mięśni<sup>(43)</sup>. Obserwowano zwiększoną aktywność białkowej izomerazy dwusiarczkowej będącej markerem UPR u myszy transgenicznych *SOD1*, gdzie enzym ten występuje w obrębie wtrętów SOD<sup>(44)</sup>. Również markery stresu siateczki wewnątrzplazmatycznej i UPR były podwyższone w rdzeniu kręgowym chorych na sporadyczną postać SLA oraz u myszy transgenicznych *SOD1*<sup>(45,46)</sup>. Zmutowane białko SOD1 może tworzyć agregaty i oddziaływać z białkiem ochronnym BiP w obrębie siateczki wewnątrzplazmatycznej neuronów rdzenia kręgowego. Zmutowany enzym SOD1 może także łączyć się z białkiem degradującym – derliną 1, prowadząc do śmierci w wyniku stresu siateczki wewnątrzplazmatycznej. Struktura ta może być źródłem stresu oksydacyjnego, ponieważ aktywacja UPR powoduje wzrost ekspresji Ero1 i zwiększenie produkcji wolnych rodników tlenowych<sup>(47)</sup>. Ekspozycja neuronów rdzenia kręgowego na płyn mózgowo-rdzeniowy chorych na SLA prowadzi do stresu siateczki wewnątrzplazmatycznej obejmującego wzrost jej fragmentacji, ekspresji markerów UPR i aktywacji

kaspazy 12<sup>(48)</sup>. Białko VAPB jest związane z błoną siateczki wewnątrzplazmatycznej. Jego mutacje obserwowane u chorych na rodzinną postać SLA wywołują zmiany konformacyjne prowadzące do agregacji VAPB i zwiększenia stresu siateczki wewnątrzplazmatycznej<sup>(49)</sup>.

Przyczyny powstawania stresu tej struktury nie są jasne, ale w tkankach ludzi chorych na SLA oraz u myszy transgenicznych *SOD1* wykryto indukcję białek UPR, zaburzenia regulacji białek ochronnych i indukcję białek śmierci komórkowej. W odpowiedzi UPR, oprócz białka VAPB, prawdopodobnie uczestniczy także 43-kDa białko TAR DNA (TDP-43)<sup>(50)</sup>.

Przedłużony stres siateczki wewnątrzplazmatycznej prowadzi do apoptozy neuronów ruchowych. Obserwowano wzrost ekspresji białka stresu CHOP, mediatora apoptozy, w obrębie rdzenia kręgowego myszy transgenicznych *SOD1* i u osób zmarłych z powodu sporadycznej postaci SLA<sup>(51)</sup>. Nagata i wsp.<sup>(52)</sup> sugerują, że zaburzenia równowagi pomiędzy białkami pro- i antyapoptocznymi związanymi ze stresem siateczki wewnątrzplazmatycznej mogą odgrywać istotną rolę w procesie zwyrodnienia neuronów ruchowych w SLA.

Badania dowiodły, że aktywacja białka proapoptocznego Fas w motoneuronach myszy transgenicznych *SOD1* prowadzi do redukcji stężenia kalretikuliny (CRT), co powoduje śmierć neuronu ruchowego poprzez aktywację drogi Fas/NO. W modelu tym zmniejszenie stężenia CRT wyprzedza proces odnerwienia mięśni. Z badań przeprowadzonych *in vitro* wynika, że zarówno obniżenie stężenia CRT, jak i aktywacja Fas wywołują stres siateczki wewnątrzplazmatycznej ograniczony do neuronów ruchowych myszy transgenicznych *SOD1*<sup>(53)</sup>.

### AGREGACJA BIAŁEK

Badania patomorfologiczne wskazują, że w SLA dochodzi do gromadzenia nieprawidłowych białek w komórkach układu nerwowego, na skutek czego powstają wewnątrzkomórkowe wtręty/agregaty białkowe. Układ ubikwityna-proteasom jest głównym wewnątrzkomórkowym mechanizmem proteolitycznym kontrolującym degradację białek z defektem w strukturze. Istnieją dowody na związek reakcji immunozapalnych z funkcjonowaniem tego układu w SLA<sup>(54)</sup>.

Zmutowane białko SOD1 jest częstym wtrętem komórkowym w przypadkach rodzinnej postaci SLA oraz u myszy transgenicznych *SOD1*<sup>(55)</sup>. Powstawanie agregatów białkowych jest indukowane stresem tlenowym. Uszkodzenie oksydacyjne powoduje rozkład dimerów SOD1 do monomerów, czego następstwem jest częściowa agregacja. Zmutowany enzym SOD1 ze zredukowaną funkcją wiązania metali może być mniej stabilny, co także sprzyja jego agregacji<sup>(56,57)</sup>. Wykazano, że tworzenie się włókien amyloidowych białka S100A6 jest modulowane przez wapń i nasila agregację SOD1<sup>(58)</sup>. Agregaty zmutowanego białka SOD1 mają toksyczne działanie na komórki, mogą również hamować transport aksonalny<sup>(59)</sup>.

Białko TDP-43, występujące w jądrze komórkowym, zostało zidentyfikowane jako składnik ubikwitynowanych wtrętów w SLA i odgrywa istotną rolę w metabolizmie RNA. Posiada regulacyjny wpływ na strukturę i stabilność wielu białek

kodujących RNA, przez co odpowiada za różnicowanie neuronów, funkcję synaps i neurodegenerację. Zaproponowano dwa modele powstawania agregatów tego białka. Jeden jest niezależny od tworzenia się ziarnistości stresowych, drugi zależny, w którym przewlekły stres prowadzi do agregacji białek<sup>(60)</sup>. Wtręty TDP-43 obserwowano w cytoplazmie i jądrze neuronów oraz w komórkach glejowych u chorych na SLA<sup>(61)</sup>. Dominujące mutacje w *TARDBP*, który koduje TDP-43, były opisane jako pierwotna przyczyna choroby. W badaniach stwierdzono, że uszkodzone białko może indukować neurodegenerację. Powyższe mutacje występują zarówno w rodzinnej, jak i sporadycznej postaci SLA. Nadmierna ekspresja zmutowanego TDP-43 u myszy transgenicznych przyczyniała się do zwyrodnienia korowych i rdzeniowych neuronów ruchowych z postępującym spastycznym niedowładem czterokończynowym. Neurony w uszkodzonych okolicach mózgu i rdzenia kręgowego wykazywały w jądrze i cytoplazmie akumulację białka TDP-43<sup>(62)</sup>. Również w modelu szczurzym nadmierna ekspresja zmutowanego TDP-43 była przyczyną neurodegeneracji obejmującej głównie układ ruchowy. Powyższy model wykazywał proteinopatię w postaci wtrętów TDP-43, obecności ufosforylowanego TDP-43 w obrębie cytoplazmy i fragmentacji tego białka<sup>(63)</sup>. Zaobserwowano, że istnieje związek pomiędzy nieprawidłową lokalizacją TDP-43 a upośledzeniem białka błonowego VAPB. Myszy transgeniczne z ekspresją zmutowanego genu *VAPB* charakteryzowały się cytoplazmatyczną akumulacją TDP-43 w neuronach ruchowych rdzenia kręgowego<sup>(64)</sup>. Badania prowadzone w modelu myszy transgenicznych *TDP-43* wykazały wzrost poziomu ubikwitinacji, fragmentację TDP-43, fosforylację, glejozę, uszkodzenie funkcji ruchowych i skrócenie czasu przeżycia zwierząt doświadczalnych. Stwierdzono również utratę neuronów, aktywację kaspaz, przemieszczenie białka TDP-43 z jądra do cytoplazmy, wtręty cytoplazmatyczne TDP-43, agregację mitochondrialną<sup>(65)</sup>. Fragmentacja białka TDP-43 w komórkach neuronalnych prowadzi do zaburzeń jego lokalizacji i zmian funkcjonalnych oraz do tworzenia wtrętów komórkowych i cytotoxyczości<sup>(66)</sup>.

Prawdopodobny molekularny mechanizm, w wyniku którego TDP-43 powoduje zachorowanie na SLA, obejmuje toksyczność zmutowanego białka i utratę jego fizjologicznej funkcji. Mutacje TDP-43 mogą interferować z prawidłowymi reakcjami pomiędzy tym białkiem a innymi białkami, skutkując zaburzeniami regulacji transkrypcji, powstawania i transportu RNA. Dane z piśmiennictwa wskazują na rolę TDP-43 w regulowaniu wzrostu aksonalnego i sugerują, że uszkodzenie potranskrypcyjnej regulacji mRNA w cytoplazmie neuronów ruchowych może być istotnym czynnikiem rozwoju SLA<sup>(67)</sup>. Komórki posiadające wtręty TDP-43 wykazują dysfunkcję proteasomu oraz większą skłonność do śmierci<sup>(68)</sup>. Patogenetyczne działanie zmutowanego TDP-43 może wynikać z jego jądrowej lub cytoplazmatycznej utraty funkcji. Na podstawie badań doświadczalnych dowiedziono, że toksyczność tego białka istotniej koreluje z utratą jego funkcji niż z jego agregacją. Co więcej, hamowanie procesu agregacji wykazywało różny efekt na przeżycie neuronalnych i nieneuronalnych komórek w odpowiedzi na stres oksydacyjny<sup>(69)</sup>.

Koagregację różnych białek związanych z DNA w obrębie rdzenia kręgowego obserwowali w SLA Keller i wsp.<sup>(70)</sup> Autorzy przypuszczają, że zmiany metabolizmu RNA w przypadku agregacji różnych białek są wspólnym mechanizmem neurodegeneracji w tej chorobie. Ayala i wsp.<sup>(71)</sup> wykazali w modelu kultur neuronalnych rdzenia kręgowego, że przewlekła ekscytotoksyczność, stres oksydacyjny, dysfunkcja proteasomu i stres siateczki wewnątrzplazmatycznej indukują zaburzenia lokalizacji, fosforylację i agregację TDP-43. Proces współwystępuje z utratą funkcji tego białka w obrębie jądra komórkowego, szczególnie neuronów ruchowych. Stres powoduje, że neurony i inne komórki rdzenia kręgowego wpływają na cytozolową agregację zawierającą białko ERK1/2. Agregaty źle ufosforylowanego ERK1/2 były obserwowane jednocześnie z agregatami TDP-43 w neuronach ruchowych rdzenia kręgowego. Z białkiem TDP-43 współwystępuje także białko FUS/TLS, które tworzy cytoplazmatyczne agregaty i hamuje wzrost komórek<sup>(72)</sup>. Fushimi i wsp.<sup>(73)</sup> stwierdzili, że ekspresja zmutowanego FUS/TLS prowadzi do jego agregacji i cytotoxyczości, potwierdzając obecność powyższej proteinopatii w SLA. Autorzy przypuszczają, że mutacje w obrębie FUS/TLS powodują śmierć komórek, podobnie jak inne proteinopatie, poprzez utratę funkcji białka oraz cytotoxyczość agregatów.

## DYSFUNKCJA CYTOSZKIELETU

Nieprawidłowości cytoszkieletu, takie jak: wtręty zawierające neurofilamenty lub/i peryferynę, zredukowany poziom mRNA podjednostki lekkiej neurofilamentu (NF-L) i mutacje w obrębie podjednostki ciężkiej neurofilamentu (NF-H), mogą odgrywać rolę w mechanizmie neurodegeneracji w SLA<sup>(74)</sup>.

Zmiany w neurofilamentach (neurofilamentopatie) występują w wielu chorobach neurozwyrodnieniowych, w tym w SLA<sup>(75)</sup>. Neurofilamenty są istotnym składnikiem strukturalnym neuronów ruchowych. Neurony podlegające neurodegeneracji zawierają kumulację ufosforylowanych neurofilamentów zarówno w modelu myszy transgenicznych *SOD1*, jak i u ludzi chorych na SLA. Występuje także redukcja ekspresji podjednostki NF-L<sup>(76-78)</sup>. Według danych z piśmiennictwa kumulacja białka neurofilamentu występuje początkowo w dystalnej części aksonu, a w następnej kolejności w ciele komórki i koreluje z ciężkością przebiegu choroby. Obserwowano również zmianę ekspresji genów tego białka<sup>(79)</sup>.

Boylan i wsp.<sup>(80)</sup> wykazali wzrost stężenia ufosforylowanej podjednostki NF-H w surowicy krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na SLA, sugerując, że czynnik ten może być potencjalnym markerem prognostycznym choroby. Podobnie Brettschneider i wsp.<sup>(81)</sup> obserwowali kilkukrotny wzrost stężenia ufosforylowanej podjednostki NF-H w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych na SLA, twierdząc, że może ona być markerem uszkodzenia aksonalnego. Tortelli i wsp.<sup>(82)</sup> w swoich badaniach odnotowali wzrost stężenia podjednostki NF-L w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych i istotną korelację pomiędzy stężeniem tego parametru a zaawansowaniem choroby. Wykryto autoimmunologiczną odpowiedź w stosunku do białek cytoszkieletu u pacjentów z SLA, u których stwierdzono

podwyższone stężenie przeciwciał przeciwko neurofilamentom w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy krwi<sup>(83)</sup>. Lu i wsp.<sup>(84)</sup> uznali, że wzrost stężenia ufosforylowanej podjednostki NF-H we krwi myszy transgenicznych *SOD1* korelował z markerami zaawansowania choroby i stopniem odpowiedzi na leczenie.

Do czynników powodujących nieprawidłową akumulację neurofilamentów w SLA należą: zaburzenia syntezy i proteolizy białka neurofilamentu, uszkodzenie transportu aksonalnego, nieprawidłowa fosforylacja i inne modyfikacje białek. Stwierdzono mutacje w obrębie neurofilamentu w sporadycznej postaci SLA, których nie obserwowano w rodzinnych postaciach tej choroby. Genetyczne mutacje neurofilamentu oraz jego zmieniona struktura mogą wywołać SLA<sup>(85)</sup>. Zmutowany enzym SOD1 może wiązać się bezpośrednio z regionem 3' mRNA NF-L, prowadząc do destabilizacji i zwiększonej degradacji mRNA. Zmiany dotyczące podjednostki neurofilamentu mogą przyczynić się do jego agregacji. Badania Lüdemann i wsp.<sup>(86)</sup> wykazały obniżenie immunoreaktywności N-acetyloglukozaminy neurofilamentu, co może sprzyjać jego akumulacji. Wolne rodniki wytwarzane przez zmutowany enzym SOD1 są zdolne do uszkodzania podjednostki NF-L, a w konsekwencji cytoszkieletu. Obserwowano selektywną nitrację miejsc tyrozynowych NF-L<sup>(87)</sup>. King i wsp.<sup>(88)</sup> w modelu myszy transgenicznych *SOD1* stwierdzili akumulację podjednostki NF-L i białka  $\alpha$ -interneksyny w obrębie aksonów rdzenia kręgowego. Jednakże aksony podlegające zwyrodnieniu nie zawierały akumulacji podjednostki NF-H. Williamson i wsp.<sup>(89)</sup> zauważyli późniejszy początek zachorowania u myszy transgenicznych *SOD1* pozbawionych ekspresji neurofilamentu. Dane z literatury pozwalają uznać, że białko Pin1 jest związane z neurofilamentami w obrębie neuronów rdzenia kręgowego w SLA i hamowanie jego aktywności może zapobiegać śmierci neuronów w wyniku toksycznego działania glutamianu<sup>(90)</sup>.

Łącznie z neurofilamentami we wtrętach komórkowych występuje peryferyna. Zaburzenia jej struktury oraz mutacje w jej obrębie mogą wpływać na zachorowanie<sup>(91)</sup>. Zidentyfikowano wariant peryferyny zawierającej intron 4, powodujący większą formę tego białka (Per61). Zaburzenia regulacji innego wariantu – Per28 obserwowano na poziomie białkowym oraz na poziomie mRNA u pacjentów chorych na SLA. Neurotoksyczny, nieprawidłowy wariant Per28 został wykryty w próbkach rdzenia kręgowego. Zwiększona ekspresja peryferyny u myszy transgenicznych *SOD1* powoduje postępującą selektywną utratę neuronów ruchowych. Toksyczność nadmiernej ekspresji tego białka spowodowana jest aksonalną lokalizacją agregatów złożonych z neurofilamentów, co może być przyczyną uszkodzeń aksonalnych<sup>(92)</sup>.

## ZABURZENIA TRANSPORTU AKSONALNEGO

Neurony ruchowe są wysoce spolaryzowanymi komórkami, posiadającymi długie aksony, w których konieczny jest sprawny transport. Jego zaburzenia, jak również patologia aksonów występują w wielu chorobach neurozwyrodnieniowych, również w SLA<sup>(93,94)</sup>. Według Cheaha i wsp.<sup>(95)</sup> zmiany pobudliwości aksonalnej u chorych na SLA są związane z dysfunkcją kanałów

potasowych. Bilsland i wsp.<sup>(96)</sup> wykazali obecność zaburzeń transportu aksonalnego u myszy transgenicznych *SOD1* jeszcze w presymptomatycznym stadium choroby.

Upośledzenie transportu aksonalnego i zwyrodnienie aksonów są spowodowane mutacjami obejmującymi kompleks kinezyzny lub dyneiny. Myszy transgeniczne z defektem w genie *KIF1B* kinezyzny wykazywały zaburzenie transportu aksonalnego i neurodegenerację. Charakteryzowały się zakłóconym transportem prekursorów pęcherzyków synaptycznych, który występował we wczesnej fazie choroby<sup>(97)</sup>. W innym z badań obserwowano zmianę ekspresji kinezyzny w ośrodkowym układzie nerwowym zarówno u myszy transgenicznych *SOD1*, jak i ludzi zmarłych z powodu SLA, która może stanowić przyczynę zaburzenia transportu aksonalnego i prowadzić do neurodegeneracji<sup>(98)</sup>. W literaturze dostępne są informacje, z których wynika, że zmutowany enzym SOD1 może reagować z kompleksem kinezyzny 2 poprzez podjednostkę KAP3 i wpływać na zakłócenia w transporcie aksonalnym. Wykryto, że wariant choroby ze zmniejszoną ekspresją KAP3 powoduje wydłużenie okresu przeżycia w przypadku sporadycznego SLA<sup>(99)</sup>. W swoich badaniach Tateno i wsp.<sup>(100)</sup> zaobserwowali, że zmutowany SOD1 przy współdziałaniu KAP3 uszkadza aksonalny transport acetylotransferazy cholinowej i uwalnianie acetylocholino.

Dyneina bierze udział w aksonalnym transporcie mikrotubularnym i do swojej aktywności wymaga obecności dynaktyny. Badacze ustalili, że zmutowany enzym SOD1 wchodzi w reakcję z kompleksem dyneina-dynaktyna i powoduje powstawanie dużych agregatów w rdzeniu kręgowym myszy transgenicznych *SOD1*. Powyższe zmiany są wykrywane już w presymptomatycznym stadium choroby i nasilają się wraz z jej progresją. Proces ten prowadzi do niewydolności transportu zależnego od dyneiny<sup>(101)</sup>. Wiązanie się zmutowanego białka SOD1 z mitochondriami może redukować powstawanie ATP i wpływać na ten transport. Defekt ten może być pogłębiony w wyniku akumulacji hiperdynamicznych mikrotubul, co obserwowano u myszy transgenicznych *SOD1* przed wystąpieniem pierwszych objawów choroby<sup>(102)</sup>. Ponadto w wyniku wzrostu zawartości dyneiny w obrębie agregatów powstaje jej niedobór w puli przeznaczonej do transportu aksonalnego. Dodatkowo, ponieważ dyneina uczestniczy w degradacji agregatów białkowych, uszkodzenie powyższej jej funkcji może prowadzić do zaburzenia degradacji agregatów SOD1<sup>(103)</sup>. Mutacje w obrębie dynaktyny mogą również odgrywać rolę w mechanizmie SLA. Zidentyfikowano rodzinę z powoli postępującą chorobą dolnego neuronu ruchowego, u której występowała mutacja podjednostki kompleksu dynaktyny p150<sup>Glued</sup><sup>(104)</sup>. Neuralna ekspresja zmutowanej dynaktyny p150<sup>Glued</sup> była także przyczyną choroby neuronu ruchowego u myszy transgenicznych. Patologia obejmowała transport pęcherzykowy w komórkach neuronów ruchowych oraz zwyrodnienie aksonalne. Myszy transgeniczne charakteryzujące się mutacją dynaktyny p150<sup>Glued</sup> wykazywały zmiany patomorfologiczne analogiczne do zmian występujących u ludzi chorych na sporadyczną postać SLA, takie jak: wtręty ubikwitynopozytywne, akumulacja neurofilamentów oraz glejoza astrocytarna<sup>(105)</sup>.

Mechanizmy prowadzące do zaburzenia transportu aksonalnego u myszy transgenicznych *SOD1* przebiegają w różny sposób. Po pierwsze upośledzona funkcja mitochondriów powoduje obniżenie mitochondrialnego transportu aksonalnego. Po drugie czynnik martwicy guza (TNF), który jest podwyższony, uszkadza funkcję kinezyzny poprzez zmianę aktywności enzymu p38 MAPK. Po trzecie nadmierna toksyczność kwasu glutaminowego, uczestnicząca w mechanizmie neurodegeneracji w SLA, zmniejsza aksonalny transport neurofilamentów poprzez aktywację kinaz białkowych biorących udział w fosforylacji białek neurofilamentów<sup>(106-108)</sup>.

### UDZIAŁ KOMÓREK GLEJOWYCH

Astrocyty odgrywają istotną rolę w funkcjonowaniu i przeżyciu neuronów ruchowych. Znajduje się w nich transporter kwasu glutaminowego EAAT2/GLT-1, który uczestniczy w usuwaniu kwasu ze szczeliny synaptycznej. Niedostateczna intensywność tego procesu prowadzi do nadmiernej stymulacji receptorów kwasu glutaminowego i ekscytotoksyczności. Astrocyty wpływają także na wrażliwość neuronów ruchowych poprzez zmianę poziomu ekspresji podjednostki GluR2 w ich obrębie. Wzrost ekspresji GluR2 hamuje, natomiast jej obniżenie nasila ich zwyrodnienie w modelu myszy transgenicznych *SOD1*. Astrocyty stanowią również źródło czynników neurotroficznych<sup>(109)</sup>.

Astroglejoza występuje zarówno u ludzi chorych na SLA, jak i w zwierzęcym modelu tej choroby<sup>(110)</sup>. Kultury komórkowe pochodzące z aktywowanych astrocytów i ekstraktu rdzenia kręgowego myszy transgenicznych *SOD1* indukowały apoptozę kultur neuronów ruchowych<sup>(111)</sup>. Funkcja astrocytów polegająca na usuwaniu kwasu glutaminowego ze szczeliny synaptycznej jest w SLA zaburzona. Stwierdzono zmniejszenie transportu tego kwasu w synaptosomach izolowanych z mózgu i rdzenia kręgowego chorych na sporadyczną postać SLA. Proces ten był wtórny do selektywnej utraty astroglejowego transportera kwasu glutaminowego EAAT2/GLT1 w obrębie kory ruchowej i rdzenia kręgowego. Badania eksperymentalne wykazały, że utrata powyższego transportera prowadzi do zwyrodnienia neuronu ruchowego<sup>(112,113)</sup>.

Literatura dostarcza danych potwierdzających fakt, że zmutowany enzym SOD1 uczestniczy w reakcjach zapalnych aktywowanych astrocytów i mikrogleju w rdzeniu kręgowym u chorych na SLA, a także myszy transgenicznych *SOD1*. Obserwowano skrócenie czasu przeżycia neuronów ruchowych poddanych działaniu komórek glejowych z ekspresją tego enzymu<sup>(114)</sup>. Badania przeprowadzone na myszach dowiodły, że neurony ruchowe wykazują patologię typową dla SLA, gdy otoczone są przez komórki glejowe zawierające zmutowany enzym SOD1, co potwierdza hipotezę, że zmiany aktywności gleju spowodowane tym enzymem uczestniczą w mechanizmie SLA<sup>(115)</sup>. Z piśmiennictwa wynika, że astrocyty z ekspresją powyższego enzymu są toksyczne dla neuronów ruchowych. Za toksyczność odpowiedzialne są między innymi zaburzenia metabolizmu w wyniku uwalniania kwasu mlekowego i aktywacji receptora nerwowego czynnika wzrostu p75<sup>(116)</sup>. Stwierdzono,

że zmutowany enzym SOD1 zmienia wpływ astrocytów na budowę podjednostki receptora AMPA neuronu ruchowego. Obecność tego enzymu w astrocytach powoduje niższą ekspresję GluR2 i większą wrażliwość neuronów ruchowych na ekscytotoksyczność<sup>(117)</sup>. Może on aktywować mikroglej, co prowadzi do śmierci neuronów ruchowych. Wykazano, że hamowanie pobudzenia mikrogleju przedłuża życie myszy transgenicznych *SOD1*<sup>(118)</sup>. W innym badaniu obserwowano, że aktywacja mikrogleju koreluje z zaawansowaniem SLA i stopniem uszkodzenia górnego neuronu ruchowego<sup>(119)</sup>. W komórkach mikrogleju stwierdzono zaburzenia regulacji funkcji układu immunologicznego, przekazywania NF-κB i kaskady kaspazy-interleukina<sup>(120)</sup>.

Sica<sup>(121)</sup> sugeruje, że w SLA pierwotnie może dochodzić do uszkodzenia astrocytów, a wtórnie proces patologiczny rozprzestrzenia się na neurony. Początkowo mogą występować zaburzenia produkcji i wydzielania astrocytarnych neuroprzekazników, uszkodzenie transportu kwasu glutaminowego i troficznego oraz metabolicznego wsparcia neuronów ruchowych. Neuregulina 1 (NRG1) jest neuronalną molekułą, w której wzrost pobudzenia receptorów stwierdzono w obrębie aktywowanego mikrogleju u chorych zmarłych z powodu SLA i w modelu doświadczalnym choroby. Aktywacja tej molekuły była obserwowana na początku choroby. Obniżenie regulacji form NRG1 związanych z błoną komórkową może odzwierciedlać ubytek neuronów ruchowych, natomiast podwyższenie przekazywania przez izoformy NRG1 typu wydzielniczego może uczestniczyć w patogenezie SLA na drodze uaktywnienia komórek glejowych<sup>(122)</sup>.

Nie tylko komórki glejowe modulują czynność neuronów ruchowych w SLA. Także neurony ruchowe mają wpływ na czynność komórek glejowych. Wolne rodniki tlenowe produkowane przez neurony ruchowe w odpowiedzi na ekscytotoksyczną aktywację uszkadzają transport kwasu glutaminowego w otaczających je astrocytach. Uwalniane z uszkodzonych neuronów wolne rodniki tlenowe, których źródłem są mitochondria<sup>(123)</sup>, mogą hamować transport zwrotny kwasu glutaminowego do astrocytów, co prowadzi do wzrostu stężenia tego kwasu i nasila ekscytotoksyczność. Wolne rodniki tlenowe mają ponadto możliwość aktywowania komórek glejowych, czego skutkiem jest dalsze wytwarzanie wolnych rodników i prozapalnych cytokin, które pobudzają otaczające komórki glejowe<sup>(124)</sup>. Przypuszcza się, że ekspresja zmutowanego enzymu SOD1 w obrębie neuronów ruchowych indukuje zachorowanie na SLA, natomiast jego toksyczność w komórkach glejowych może zmieniać przebieg choroby już po jej wystąpieniu<sup>(125)</sup>.

### NEUROZAPALENIE

Rolę neurozapalenia w patogenezie SLA dokumentują badania neuropatologiczne, obecność czynników zapalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi chorych, występowanie aktywowanych molekuł w mikrogleju i astrocytach, a także toczący się proces zapalny w uszkodzonych neuronach ruchowych w modelu myszy transgenicznych *SOD1*<sup>(126)</sup>. Na podstawie danych z literatury wiadomo, że mechanizmy zapalne

wyprzedzają zwyrodnienie neuronów ruchowych w SLA, wskazując, że proces zapalny może poprzedzać presymptomatyczną fazę choroby<sup>(127)</sup>.

Neurozapalenie aktywuje mikroglej i astrocycy oraz powoduje infiltrację układu nerwowego przez obwodowe komórki immunologiczne. W SLA stwierdzono patomorfologiczne cechy aktywacji mikrogleju i astrogleju<sup>(128,129)</sup>. Obserwowane są wzajemne interakcje pomiędzy tymi strukturami. Mikroglej może być aktywowany przez cytokiny i chemokiny pochodzące z astrocytów, astroglej przez prozapalne mediatory wytwarzane przez mikroglej<sup>(130,131)</sup>. Uaktywnione komórki glejowe produkują toksyczne molekuly uszkodzające neurony i mogą powodować upośledzenie oksydacyjne białek, lipidów oraz transportera kwasu glutaminowego w astrocycach, a w konsekwencji neurodegenerację<sup>(132)</sup>. Cytokiną prozapalną, która aktywuje mikroglej i prowadzi do toksycznego uszkodzenia neuronów ruchowych, jest czynnik martwicy guza  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). W SLA wykazano mutację genową optineuryny (OPTN), która ujemnie wpływa na aktywację NF- $\kappa$ B indukowaną za pomocą TNF- $\alpha$ . Wtręty zawierające OPTN obserwowano zarówno w rodzinnej, jak i sporadycznej postaci SLA<sup>(133)</sup>. We wczesnej fazie choroby stwierdzono zredukowane wartości limfocytów regulatorowych T oraz monocytów, co sugeruje gromadzenie się tych komórek w obrębie ośrodkowego układu nerwowego w początkowym etapie procesu neurodegeneracyjnego. Regulatorowe komórki T oddziałują na mikroglej w ośrodkowym układzie nerwowym, hamując neurozapalenie poprzez stymulację wydzielania cytokin przeciwzapalnych<sup>(134,135)</sup>. Prostaglandyny (PG) mogą być istotnymi molekulami biorącymi udział w procesie neurozapalnym w SLA. Z badań wynika, że mikrosomalna PGE1, zlokalizowana w obrębie neuronów ruchowych i aktywowanego mikrogleju, może wpływać na wystąpienie objawów choroby<sup>(136)</sup>. Wykazano także istotny wzrost stężenia IFN- $\gamma$  i prozapalnej cytokiny LIGHT w rdzeniu kręgowym osób zmarłych z powodu SLA, co pozwala sądzić, że droga LIGHT/LT- $\beta$ R, w której mediatorem jest IFN- $\gamma$ , może uczestniczyć w patogenezie tej choroby<sup>(137)</sup>.

Dostępna literatura potwierdza, że obecność samej tylko ekspresji zmutowanego enzymu SOD1 w mikrogleju nie jest wystarczająca do wywołania SLA. Hipotetyczne mechanizmy toksyczności mikrogleju wywołane przez powyższy enzym obejmują wzrost potencjału cytotoksycznego wtórnie do wzmożonego wydzielania TNF- $\alpha$ , tlenu azotu i nadtlenu oraz obniżonej produkcji neuroprotektynnie działającej IL-6. Zewnątrkomórkowy zmutowany enzym SOD1 może wykazywać toksyczność także poprzez sekrecję chromagraniny, co przyczynia się do aktywacji mikrogleju i śmierci neuronów ruchowych. Pobudzenie mikrogleju przez SOD1 możliwe jest ponadto poprzez szpikowy czynnik różnicujący 88 (MyD88)<sup>(138,139)</sup>.

W płynie mózgowo-rdzeniowym i we krwi chorych na SLA stwierdzono podwyższone mediatory prozapalne. Fiala i wsp.<sup>(140)</sup> wykryli zwiększone stężenie IL-17 we krwi pacjentów, Kuhle i wsp.<sup>(141)</sup> obserwowali podwyższone stężenia zapalnych chemokin zarówno we krwi, jak i płynie mózgowo-rdzeniowym. Inne badanie donosi o podwyższeniu stężenia chemokiny RANTES w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi chorych na SLA<sup>(142)</sup>.

Z kolei Babu i wsp.<sup>(143)</sup> odnotowali wyższe stężenia markerów procesu zapalnego, takich jak: TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  i tlenek azotu w surowicy krwi chorych. W płynie mózgowo-rdzeniowym zaobserwowano także istotny statystycznie wzrost stężenia białka MCP-1 uczestniczącego w aktywacji mikrogleju<sup>(144)</sup>. Podwyższone jest również stężenie lipopolisacharydów we krwi, co sugeruje obecność układowego zapalenia w SLA<sup>(145)</sup>.

## DYSKRAZJA KWASU MLEKOWEGO

Vadakkadath i wsp.<sup>(146)</sup> zaproponowali nowy molekularny model patogenezy SLA. Według hipotezy dyskrazji kwasu mlekowego możliwe jest istnienie kanału mięśniowo-neuronalnego kwasu mlekowego utrzymującego homeostazę kwasu mlekowego pomiędzy mięśniami i neuronami ruchowymi. Dysregulacja tego połączenia prowadzi do stresu komórkowego, toksyczności i postępującego zwyrodnienia. Brak neurotransmisji może być przyczyną zaniku mięśni, natomiast nadmierne gromadzenie się kwasu mlekowego w miocytach może sprzyjać zwyrodnieniu mięśni. Wynikiem zaburzenia homeostazy kwasu mlekowego i postępującej śmierci neuronów ruchowych może być stan, w którym pozostałe włókna mięśniowe zmuszone są wykonywać cięższą pracę w celu skompensowania prawidłowej funkcji mięśni, oznaczającą produkcję większej ilości kwasu mlekowego i/lub innych toksycznych związków indukujących neurotoksyczność w obrębie neuronów ruchowych, co prowadzi do ich zwyrodnienia i śmierci. Zjawisko to może być przyczyną progresji SLA.

Molekularny model hipotezy dyskrazji kwasu mlekowego zakłada, że uszkodzenie hipotetycznego, zależnego od ATP kanału mięśniowo-neuronalnego kwasu mlekowego, wtórnie do dysfunkcji mitochondrialnego łańcucha oddechowego, prowadzi do toksyczności kwasu mlekowego i defektu połączenia nerwowo-mięśniowego. Gdy protony łańcucha oddechowego nie mogą być dłużej zaangażowane w proces translokacji asparagianu z mitochondriów do komórek cytoplazmy, jego akumulacja w mitochondrium hamuje konwersję szczawiooctanu do asparagianu wskutek aktywności aminotransferazy asparagianu. Gromadzący się szczawiooctan jest przetwarzany do kwasu jabłkowego za pomocą mitochondrialnej dehydrogenazy kwasu jabłkowego lub do cytrynianu przez syntetazę cytrynianu. Cytrynian może być konwertowany do kwasu jabłkowego przez wiele enzymów. W cytoplazmie następuje konwersja kwasu jabłkowego do szczawiooctanu przez dehydrogenazę kwasu jabłkowego. Cytrynian z udziałem liazy cytrynianu ulega przekształceniu do szczawiooctanu. W cytoplazmie szczawiooctan jest konwertowany do fosfopirogronianu, natomiast kwas jabłkowy do pirogronianu. Akumulacja tego ostatniego może hamować glikolizę, a beztlenowy metabolizm powoduje jego przekształcanie do mleczanu z udziałem dehydrogenazy kwasu mlekowego. W wyniku hamowania zamiany szczawiooctanu do asparagianu gromadzi się kwas glutaminowy, który może powodować ekscytotoksyczność. Powyższe reakcje zachodzą zarówno w komórkach nerwowych, jak i mięśniowych. W sytuacji, w której funkcjonowanie kanału mięśniowo-neuronalnego zależnego od ATP jest upośledzone,



toksyczne stężenia kwasu mlekowego i glutaminowego w obrębie zakończeń nerwowych i połączeń nerwowo-mięśniowych prowadzą do dysfunkcji i zwyrodnienia zakończeń nerwowych. Omówiony cykl wzrostu produkcji kwasu mlekowego i neurotoksyczności stale się powtarza<sup>(146)</sup>.

### CZYNNIKI GENETYCZNE

W 1993 roku opisano mutację genu *SOD1* u chorych na SLA<sup>(147)</sup>. Do chwili obecnej wykryto ponad 150 mutacji tego genu. Około 20% pacjentów z rodzinną postacią choroby i około 2% chorych na sporadyczną postać SLA posiada mutacje w genie *SOD1*. Mechanizm, w wyniku którego mutacje *SOD1* powodują SLA, wynika głównie z toksyczności zmutowanego białka. W późniejszych latach wykryto mutacje również innych genów, takich jak: *VEGF*, *Alsin*, *VAPB*, *SETX*, *ANG* i *DCTN1*<sup>(148-151)</sup>.

Gen *ANG* oprócz udziału w angiogenezie reguluje rybosomalną transkrypcję RNA. Hamuje również apoptozę poprzez inhibicję translokacji czynnika indukującego apoptozę do jądra komórkowego. Wykazano, że *ANG* jest czynnikiem wydzielanym przez neurony, który ulega endocytozie przez astroglę, co prowadzi do neuroprotekcji. Mutacja *ANG* powoduje utratę powyższych funkcji<sup>(152)</sup>.

Obecnie zwrócono uwagę na mutację genu *TARDBP*, który koduje białko TDP-43. Mutację tę wykryto u około 3% chorych na rodzinną postać SLA i u około 1,5% pacjentów z postacią sporadyczną tej choroby<sup>(153)</sup>.

Opisano mutacje dwóch genów dotyczących funkcji wiązania RNA/DNA u chorych na rodzinną postać SLA. Dotyczą one *TDP-43* i *FUS/TLS*<sup>(154-157)</sup>. *TDP-43* i *FUS/TLS* należą głównie do białek jądrowych uczestniczących w procesie przetwarzania RNA. Rezultatem ich mutacji jest przemieszczenie zmutowanych białek z właściwej lokalizacji w jądrze do cytoplazmy, gdzie tworzą wtręty. Gdy podlegają mutacji, mogą uczestniczyć w uszkodzeniu neuronów ruchowych także poprzez utratę aksonalnego transportu mRNA. Nie wiadomo, czy stres oksydacyjny bierze udział w tym procesie, aczkolwiek oksydacja mRNA została wykryta u chorych na SLA i u myszy transgenicznym *SOD1*. U myszy transgenicznym obserwowano wzrost oksydacji mRNA w rdzeniu kręgowym w komórkach nerwowych i oligodendrocytach w okresie poprzedzającym zachorowanie na SLA<sup>(158)</sup>. Verstraete i wsp.<sup>(159)</sup> wykryli we krwi chorych podwyższone stężenia białka TDP-43.

Zidentyfikowano trzy typy mutacji genu *OPTN* w SLA<sup>(160)</sup>. *OPTN* należy do białek cytosolowych, które tworzą kompleksy z innymi białkami: miozyną VI, Rab8, huntingtiną, receptorem transferynowym, kinazą I związaną z TANK, wpływającymi na funkcjonowanie białek komórkowych, aparatu Golgiego, drogę przekazywania NF- B. Mutacje lub zmiana homeostazy *OPTN* indukują proces neurodegeneracji<sup>(161)</sup>. Wykazano ponadto, że mutacje *OPTN* powodują powstawanie toksycznych agregatów komórkowych w modelu doświadczalnym<sup>(162)</sup>.

Mutacje genu *VAPB* są skojarzone z rodzinną postacią SLA i wywołują stres siateczki wewnątrzplazmatycznej. Zmutowana postać *VAPB* może wiązać się z proteasomem i gromadzić

w obrębie siateczki wewnątrzplazmatycznej. Nadmierna ekspresja tego zmutowanego białka prowadzi do nieprawidłowej akumulacji ubikwityny i powstawania kompleksów ubikwitynowanych białek<sup>(163)</sup>.

Rodzinną postać SLA może być spowodowana mutacjami *PFN1*<sup>(164)</sup>, który odgrywa istotną rolę w konwersji monomeru aktywny do filamentu aktywny. W wyniku mutacji tego genu powstają agregaty białkowe zawierające także TDP-43. Zmutowane białko *PFN1* charakteryzuje się redukcją wiązania aktywny i może hamować wzrost aksonu. Neurony ruchowe z ekspresją powyższego białka wykazują wolniejszy wzrost i odznaczają się mniejszą zawartością filamentów w stosunku do monomerów<sup>(165)</sup>.

Gen *SQSTM1* koduje patologiczne białko p62 biorące udział w neurodegeneracji. Uczestniczy ono głównie w procesie autofagii, w odpowiedzi stresu oksydacyjnego i przekazywaniu komórkowym. Zidentyfikowano mutacje *SQSTM1* u chorych na rodzinną i sporadyczną postać SLA, co wskazuje na rolę p62 w patogenezie choroby<sup>(166,167)</sup>.

Gen *SIGMAR1* posiada właściwości neuroprotekcjne. Obserwowano zaburzenia układu ruchowego u myszy z jego niedoborem. W SLA wykryto mutację tego genu<sup>(168)</sup>. Zastosowanie agonisty *SIGMAR1* poprawia funkcję ruchową i przeżycie neuronów ruchowych u myszy transgenicznym *SOD1*<sup>(169)</sup>.

Stwardnienie boczne zanikowe przebiegające z otępieniem może być spowodowane mutacją genu *C9orf72*. Dotyczy ona 24-46% chorych na rodzinną postać SLA i 4-21% chorych na postać sporadyczną tej choroby. Jak dotąd nie poznano sposobu, w jaki uszkodzenie metabolizmu RNA występujące w przypadku mutacji tego genu powoduje SLA. Badania pośmiertne chorych z mutacją *C9orf72* wykazały także obecność wtrętów TDP-43<sup>(170,171)</sup>.

Gen *UBQLN2*, związany z chromosomem X, jest odpowiedzialny za występowanie rodzinnej postaci SLA. W 20% przypadków współwystępuje otępienie. Białko *UBQLN2* wiąże się z funkcjonowaniem układu ubikwityna-proteasom. Mutacje genowe powodują powstawanie wtrętów komórkowych. Wykazano, że ekspresja zmutowanego białka *UBQLN2* spowalnia proteosomalną degradację<sup>(172)</sup>.

Mutacje w genie *VCP* występują u 1-2% pacjentów z rodzinną postacią SLA i u mniej niż 1% chorych na sporadyczną postać tej choroby<sup>(173)</sup>. Z piśmiennictwa wynika, że mutacje genu *ataksyny 2* oraz *TAF15* mogą także odgrywać rolę w patogenezie SLA<sup>(174)</sup>.

### PODSUMOWANIE

W pracy przedstawiono aktualną wiedzę na temat mechanizmów patogenetycznych SLA. Na podstawie dostępnych danych można uznać, że są one ze sobą wzajemnie powiązane. Chociaż wszystkie odgrywają istotną rolę w SLA, to zastosowanie w jego terapii u ludzi riluzolu, jedyne leku z niewielkim pozytywnym efektem, sugerowało, że szczególnie ważny może być mechanizm toksyczności glutaminianu. Obecnie wydaje się, że pierwszoplanową rolę w etiopatogenezie SLA, zarówno postaci rodzinnej, jak i sporadycznej, odgrywają czynniki

genetyczne, co jest udokumentowane w literaturze. Zwłaszcza w ostatnich kilku latach wykryto wiele mutacji genowych, które mogą pełnić funkcję w procesie neurodegeneracji w SLA, i częściowo wyjaśniono mechanizmy, w wyniku których prowadzą one do zwyrodnienia neuronów ruchowych. Należy sądzić, że wiele mutacji jest jeszcze nieznanymi, jednak ich zidentyfikowanie jest kwestią czasu. Wiadomo, że stwierdzone w SLA mutacje różnych genów powodują tworzenie się agregatów białkowych, co wiąże się z utratą fizjologicznej funkcji białek i toksycznością tych agregatów. Ich toksyczny wpływ na komórki jest sprzężony między innymi ze znanymi mechanizmami patogenetycznymi SLA, takimi jak: stres oksydacyjny, toksyczność kwasu glutaminowego, dysfunkcja mitochondriów, stres siateczki wewnątrzplazmatycznej, zmiana funkcjonowania komórek glejowych, zaburzenia struktury cytoszkieletu, zaburzenia przewodnictwa aksonalnego, mechanizm neurozapalny. Mutacje genowe mogą być ich przyczyną. Przypuszcza się, że mutacje genowe mogą powodować również inne, nieznanne jeszcze mechanizmy prowadzące do zwyrodnienia neuronów ruchowych. Najwięcej dowodów na ten temat dostarczają badania przebiegu neurodegeneracji przeprowadzone w modelu doświadczalnym myszy transgenicznych *SOD1*. Jednakże wciąż nie wiemy, dlaczego ubikwitynowane wtręty zawierające zmutowane białko TDP-43 i FUS zostały wykryte bez mutacji w odpowiednich genach.

Nie można wykluczyć, że mutacje genowe w przypadku SLA mogą być spowodowane nieodkrytymi, szkodliwymi czynnikami środowiskowymi. Możliwe, że prowadzą one do wyżej opisanych mechanizmów patogenetycznych bez mutacji genowych, czego dowodem są zmiany w obrębie mitochondriów występujące u ludzi wraz z wiekiem. Jak już wspomniano, występująca degeneracja funkcji mitochondriów związana z wiekiem, w tym akumulacja mutacji w mitochondrialnym DNA. Wydaje się zatem, że szkodliwe czynniki środowiskowe mogą odgrywać kluczową rolę w zapoczątkowaniu kaskady zmian prowadzących do neurodegeneracji w SLA. Hipoteza udziału czynników wirusowych w etiopatogenezie choroby wydawała się nieaktualna. Ostatnio jednak wykryto podwyższenie transkryptów polimerazy retrowirusa (HERV-K) w mózgach osób zmarłych z powodu SLA, co sugeruje, że w etiologii tej choroby nie można wykluczyć udziału zakażenia wirusowego. Etiologia SLA jest najprawdopodobniej wieloczynnikowa, ale czynniki środowiskowe wywołujące chorobę wciąż pozostają nieznanymi.

PIŚMIENNICTWO:

**BIBLIOGRAPHY:**

1. Ince P.G., Clark B., Holton J. i wsp.: Disease of movement and system degeneration. Motor neuron disease (amyotrophic lateral sclerosis). W: Love S., Louis D.N., Ellison D.W. (red.): Greenfield's Neuropathology. Hodder Arnold, Londyn 2008.
2. Barber S.C., Shaw P.J.: Oxidative stress in ALS: key role in motor neuron injury and therapeutic target. *Free Radic. Biol. Med.* 2010; 48: 629-641.
3. Ferraiuolo L., Kirby J., Grierson A.J. i wsp.: Molecular pathways of motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Rev. Neurol.* 2011; 7: 616-630.

4. Ihara Y., Nobukuni K., Takata H., Hayabara T.: Oxidative stress and metal content in blood and cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients with and without a Cu, Zn-superoxide dismutase mutation. *Neurol. Res.* 2005; 27: 105-108.
5. Smith R.G., Henry Y.K., Mattson M.P., Appel S.H.: Presence of 4-hydroxynonenal in cerebrospinal fluid of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1998; 44: 696-699.
6. Tohgi H., Abe T., Yamazaki K. i wsp.: Remarkable increase in cerebrospinal fluid 3-nitrotyrosine in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1999; 46: 129-131.
7. Fitzmaurice P.S., Shaw I.C., Kleiner H.E. i wsp.: Evidence for DNA damage in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 1996; 19: 797-798.
8. Shaw P.J., Ince P.G., Falkous G., Mantle D.: Oxidative damage to protein in sporadic motor neuron disease spinal cord. *Ann. Neurol.* 1995; 38: 691-695.
9. Ferrante R.J., Brown S.E., Shinobu L.A. i wsp.: Evidence of increased oxidative damage in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem.* 1997; 69: 2064-2074.
10. Abe K., Pan L.H., Watanabe M. i wsp.: Induction of nitrotyrosine-like immunoreactivity in the lower motor neuron of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.* 1995; 199: 152-154.
11. Beal M.F., Ferrante R.J., Browne S.E. i wsp.: Increased 3-nitrotyrosine in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1997; 42: 644-654.
12. Shaw P.J., Kuncel R.W.: Current concepts in the pathogenesis of ALS. W: Kuncel R.W. (red.): Motor Neuron Disease. WB Saunders, Londyn 2002.
13. Boillée S., Cleveland D.: Revisiting oxidative damage in ALS: microglia, Nox, and mutant SOD1. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 474-478.
14. Oliver P.L., Finelli M.J., Edwards B. i wsp.: Oxr1 is essential for protection against oxidative stress-induced neurodegeneration. *PLoS Genet.* 2011; 7: e1002338.
15. Petri S., Körner S., Kiaei M.: Nrf2/ARE signaling pathway: key mediator in oxidative stress and potential therapeutic target in ALS. *Neurol. Res. Int.* 2012; 2012: 878030.
16. Jiang H., Tian X., Guo Y. i wsp.: Activation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 cytoprotective signaling by curcumin protect primary spinal cord astrocytes against oxidative toxicity. *Biol. Pharm. Bull.* 2011; 34: 1194-1197.
17. Johnson J.A., Johnson D.A., Kraft A.D. i wsp.: The Nrf2-ARE pathway: an indicator and modulator of oxidative stress in neurodegeneration. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008; 1147: 61-69.
18. Heath P.R., Shaw P.J.: Update on the glutamatergic neurotransmitter system and the role of excitotoxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2002; 26: 438-458.
19. Shaw P.J., Forrest V., Ince P.G. i wsp.: CSF and plasma amino acid levels in motor neuron disease: elevation of CSF glutamate in a subset of patients. *Neurodegeneration* 1995; 4: 209-216.
20. Bendotti C., Tortarolo M., Suchak S.K. i wsp.: Transgenic SOD1 G93A mice develop reduced GLT-1 in spinal cord without alterations in cerebrospinal fluid glutamate levels. *J. Neurochem.* 2001; 79: 737-746.
21. Tsai G., Stauch-Slusher B., Sim L. i wsp.: Reductions in acidic amino acids and N-acetyl-aspartyl glutamate (NAAG) in amyotrophic lateral sclerosis CNS. *Brain Res.* 1991; 655: 195-201.
22. Plaitakis A., Constantakakis E., Smith J.: The neuroexcitotoxic amino acids glutamate and aspartate are altered in the spinal cord and brain in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1988; 24: 446-449.

23. Kwak S., Hideyama T., Yamashita T., Aizawa H.: AMPA receptor-mediated neuronal death in sporadic ALS. *Neuropathology* 2010; 30: 182-188.
24. Mitchell J., Paul P., Chen H.J. i wsp.: Familial amyotrophic lateral sclerosis is associated with a mutation in D-amino acid oxidase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2010; 107: 7556-7561.
25. Di Carlo M., Giacomazza D., Picone P. i wsp.: Are oxidative stress and mitochondrial dysfunction the key players in the neurodegenerative diseases? *Free Radic. Res.* 2012; 46: 1327-1338.
26. Eckmann J., Eckert S.H., Leuner K. i wsp.: Mitochondria: mitochondrial membranes in brain ageing and neurodegeneration. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2013; 45: 76-80.
27. Swerdlow R.H., Parks J.K., Cassarino D.S. i wsp.: Mitochondria in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Exp. Neurol.* 1998; 153: 135-142.
28. Jung C., Higgins C.M., Xu Z.: Mitochondrial electron transport chain complex dysfunction in a transgenic mouse model for amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem.* 2002; 83: 535-545.
29. Fukada K., Zhang F., Vien A. i wsp.: Mitochondrial proteomic analysis of a cell line model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Moll. Cell. Proteomics* 2004; 3: 1211-1223.
30. Fujita K., Yamauchi M., Shibayama K. i wsp.: Decreased cytochrome c oxidase activity but unchanged superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in the spinal cord of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurosci. Res.* 1996; 45: 276-281.
31. Ghiasi P., Hosseinkhani S., Noori A. i wsp.: Mitochondrial complex I deficiency and ATP/ADP ratio in lymphocytes of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurol. Res.* 2012; 34: 297-303.
32. Dhaliwal G.K., Grewal R.P.: Mitochondrial DNA deletion mutation levels are elevated in ALS brains. *Neuroreport* 2000; 11: 2507-2509.
33. Jaarsma D., Rognoni F., van Duijn W. i wsp.: CuZn superoxide dismutase (SOD1) accumulates in vacuolated mitochondria in transgenic mice expressing amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutations. *Acta Neuropathol.* 2001; 102: 293-305.
34. Magrané J., Sahawneh M.A., Przedborski S. i wsp.: Mitochondrial dynamics and bioenergetic dysfunction is associated with synaptic alterations in mutant SOD1 motor neurons. *J. Neurosci.* 2012; 32: 229-242.
35. Cassina P., Cassina A., Pehar M. i wsp.: Mitochondrial dysfunction in SOD1G93A-bearing astrocytes promotes motor neuron degeneration: prevention by mitochondrial-targeted antioxidants. *J. Neurosci.* 2008; 28: 4115-4122.
36. Miquel E., Cassina A., Martínez-Palma L. i wsp.: Modulation of astrocytic mitochondrial function by dichloroacetate improves survival and motor performance in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* 2012; 7: e34776.
37. Rodríguez G.E., González D.M., Monachelli G.M. i wsp.: Morphological abnormalities in mitochondria of the skin of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Arq. Neuropsiquiatr.* 2012; 70: 40-44.
38. Gonzalez de Aguilar J.L., Dupuis L., Oudart H., Loeffler J.P.: The metabolic hypothesis in amyotrophic lateral sclerosis: insight from mutant Cu/Zn-superoxide dismutase mice. *Biomed. Pharmacother.* 2005; 59: 190-196.
39. Sathasivam S., Gierson A.J., Shaw P.J.: Characterization of the caspase cascade in a cell culture model of SOD-1 related familial amyotrophic lateral sclerosis: expression, activation and therapeutic effects of inhibition. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2005; 31: 467-485.
40. Schroder M.: Endoplasmic reticulum stress responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65: 862-894.
41. Lindholm D., Wootz H., Korhonen L.: ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell. Death Differ.* 2006; 13: 385-392.
42. Sasaki S.: Endoplasmic reticulum stress in motor neurons of the spinal cord in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2010; 69: 346-355.
43. Saxena S., Cabuy E., Caroni P.: A role for motoneuron subtype-selective ER stress in disease manifestations of FALS mice. *Nat. Neurosci.* 2009; 12: 627-636.
44. Atkin J.D., Farq M.A., Turner B.J. i wsp.: Induction of the unfolded protein response in familial amyotrophic lateral sclerosis and association of protein disulfide isomerase with superoxide dismutase 1. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 30152-30165.
45. Atkin J.D., Farg M.A., Walker A.K.: Endoplasmic reticulum stress and induction of the unfolded protein response in human sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 2008; 30: 400-407.
46. Kikuchi H., Almer G., Yamashita S.: Spinal cord endoplasmic reticulum stress associated with a microsomal accumulation of mutant superoxide dismutase-1 in an ALS model. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006; 103: 6025-6030.
47. Nishitoh H., Kadowaki H., Nagai A. i wsp.: ALS-linked mutant SOD1 induces ER stress- and ASK1-dependent motor neuron death by targeting Derlin-1. *Genes Dev.* 2008; 22: 1451-1464.
48. Vijayalakshmi K., Alladi P.A., Ghosh S. i wsp.: Evidence of endoplasmic reticular stress in the spinal motor neurons exposed to CSF from sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurobiol. Dis.* 2011; 41: 695-705.
49. Chen H.J., Anagnostou G., Chai A. i wsp.: Characterization of the properties of a novel mutation in VAPB in familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 40266-40281.
50. Lautenschlaeger J., Prell T., Grosskreutz J.: Endoplasmic reticulum stress and the ER mitochondrial calcium cycle in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2012; 13: 166-177.
51. Ito Y., Yamada M., Tanaka H.: Involvement of CHOP, an ER-stress apoptotic mediator, in both human sporadic ALS and ALS model mice. *Neurobiol. Dis.* 2009; 36: 470-476.
52. Nagata T., Ilieva H., Murakami T. i wsp.: Increased ER stress during motor neuron degeneration in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol. Res.* 2007; 29: 767-771.
53. Bernard-Marissal N., Moumen A., Sunyach C. i wsp.: Reduced calreticulin levels link endoplasmic reticulum stress and Fas-triggered cell death in motoneurons vulnerable to ALS. *J. Neurosci.* 2012; 32: 4901-4912.
54. Bendotti C., Marino M., Cheroni C. i wsp.: Dysfunction of constitutive and inducible ubiquitin-proteasome system in amyotrophic lateral sclerosis: implication for protein aggregation and immune response. *Prog. Neurobiol.* 2012; 97: 101-126.
55. Watanabe M., Dykes-Hoberg M., Culotta V.C. i wsp.: Histological evidence of protein aggregation in mutant SOD1 transgenic mice and in amyotrophic lateral sclerosis neural tissues. *Neurobiol. Dis.* 2001; 8: 933-941.
56. Valentine J.S., Hart P.J.: Misfolded CuZnSOD and amyotrophic lateral sclerosis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2003; 100: 3617-3622.
57. Rodriguez J.A., Valentine J.S., Eggers D.K. i wsp.: Familial amyotrophic lateral sclerosis-associated mutations decrease the thermal stability of distinctly metallated species of human copper/zinc superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 15932-15937.
58. Botelho H.M., Leal S.S., Cardoso I. i wsp.: S100A6 amyloid fibril formation is calcium-modulated and enhances superoxide dismutase-1 (SOD1) aggregation. *J. Biol. Chem.* 2012; 287: 42233-42242.
59. Brotherton T.E., Li Y., Cooper D. i wsp.: Localization of a toxic form of superoxide dismutase 1 protein to pathologically affected tissues in familial ALS. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2012; 109: 5505-5510.

60. Dewey C.M., Cenik B., Sephton C.F. i wsp.: TDP-43 aggregation in neurodegeneration: are stress granules the key? *Brain Res.* 2012; 1462: 16-25.
61. Sumi H., Kato S., Mochimaru Y. i wsp.: Nuclear TAR DNA binding protein 43 expression in spinal cord neurons correlates with the clinical course in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2009; 68: 37-47.
62. Wils H., Kleinberger G., Janssens J. i wsp.: TDP-43 transgenic mice develop spastic paralysis and neuronal inclusions characteristic of ALS and frontotemporal lobar degeneration. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2010; 107: 3858-3863.
63. Zhou H., Huang C., Chen H.: Transgenic rat model of neurodegeneration caused by mutation in the *TDP* gene. *PLoS Genet.* 2010; 6: e1000887.
64. Tudor E.L., Galtrey C.M., Perkinson M.S. i wsp.: Amyotrophic lateral sclerosis mutant vesicle-associated membrane protein-associated protein-B transgenic mice develop TAR-DNA-binding protein-43 pathology. *Neuroscience* 2010; 167: 774-785.
65. Xu Y.F., Zhang Y.J., Lin W.L. i wsp.: Expression of mutant TDP-43 induces neuronal dysfunction in transgenic mice. *Mol. Neurodegener.* 2011; 6: 73.
66. Che M.X., Jiang Y.J., Xie Y.Y. i wsp.: Aggregation of the 35-kDa fragment of TDP-43 causes formation of cytoplasmic inclusions and alteration of RNA processing. *FASEB J.* 2011; 25: 2344-2353.
67. Fallini C., Bassell G.J., Rossoll W.: The ALS disease protein TDP-43 is actively transported in motor neuron axons and regulates axon outgrowth. *Hum. Mol. Genet.* 2012; 21: 3703-3718.
68. Nonaka T., Hasegawa M.: Intracellular seeded aggregation of TDP-43. *Rinsho Shinkeigaku* 2012; 52: 1056-1058.
69. Aulas A., Stabile S., Velde C.: Endogenous TDP-43, but not FUS, contributes to stress granule assembly via G3BP. *Mol. Neurodegener.* 2012; 7: 54.
70. Keller B.A., Volkening K., Droppelmann C.A. i wsp.: Co-aggregation of RNA binding proteins in ALS spinal motor neurons: evidence of a common pathogenic mechanism. *Acta Neuropathol.* 2012; 124: 733-747.
71. Ayala V., Granado-Serrano A.B., Cacabelos D. i wsp.: Cell stress induces TDP-43 pathological changes associated with ERK1/2 dysfunction: implications in ALS. *Acta Neuropathol.* 2011; 122: 259-270.
72. Kryndushkin D., Wickner R.B., Shewmaker F.: FUS/TLS forms cytoplasmic aggregates, inhibits cell growth and interacts with TDP-43 in a yeast model of amyotrophic lateral sclerosis. *Protein Cell.* 2011; 2: 223-236.
73. Fushimi K., Long C., Jayaram N. i wsp.: Expression of human FUS/TLS in yeast leads to protein aggregation and cytotoxicity, recapitulating key features of FUS proteinopathy. *Protein Cell.* 2011; 2: 141-149.
74. Julien J.P., Beaulieu J.M.: Cytoskeletal abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis: beneficial or detrimental effects? *J. Neurol. Sci.* 2000; 180: 7-14.
75. Liu Q., Xie F., Alvarado-Diaz A. i wsp.: Neurofilamentopathy in neurodegenerative diseases. *Open Neurol. J.* 2011; 5: 58-62.
76. Hirano A., Nakano I., Kurland L.T. i wsp.: Fine structural study of neurofibrillary changes in a family with amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1984; 43: 471-480.
77. Menzies F.M., Grierson A.J., Cookson M.R. i wsp.: Selective loss of neurofilament expression in Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) linked amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem.* 2002; 82: 1118-1128.
78. Beck R., Deek J., Safinya C.R.: Structures and interactions in "bottlebrush" neurofilaments: the role of charged disordered proteins in forming hydrogel networks. *Biochem. Soc. Trans.* 2012; 40: 1027-1031.
79. Bergeron C., Beric-Maskarel K., Muntasser S. i wsp.: Neurofilament light and polyadenylated mRNA levels are decreased in amyotrophic lateral sclerosis motor neurons. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1994; 53: 221-230.
80. Boylan K.B., Glass J.D., Crook J.E. i wsp.: Phosphorylated neurofilament heavy subunit (pNF-H) in peripheral blood and CSF as a potential prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2012 [Epub ahead of print].
81. Brettschneider J., Petzold A., Sussmuth S.D. i wsp.: Axonal damage markers in cerebrospinal fluid are increased in ALS. *Neurology* 2006; 66: 852-856.
82. Tortelli R., Ruggieri M., Cortese R. i wsp.: Elevated cerebrospinal fluid neurofilament light levels in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a possible marker of disease severity and progression. *Eur. J. Neurol.* 2012; 19: 1561-1567.
83. Fialová L., Svarcová J., Bartos A. i wsp.: Cerebrospinal fluid and serum antibodies against neurofilaments in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 2010; 17: 562-566.
84. Lu C.H., Petzold A., Kalmar B. i wsp.: Plasma neurofilament heavy chain levels correlate to markers of late stage disease progression and treatment response in SOD1<sup>G93A</sup> mice that model ALS. *PLoS One* 2012; 7: e40998.
85. Millecamps S., Robertson J., Larivière R. i wsp.: Defective axonal transport of neurofilament proteins in neurons over-expressing peripherin. *J. Neurochem.* 2006; 98: 926-938.
86. Lüdemann N., Clement A., Hans V.H. i wsp.: O-glycosylation of the tail domain of neurofilament protein M in human neurons and in spinal cord tissue of a rat model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 31648-31658.
87. Crow J.P., Ye Y.Z., Strong M. i wsp.: Superoxide dismutase catalyzes nitration of tyrosines by peroxynitrite in the rod and head domains of neurofilament-L. *J. Neurochem.* 1997; 69: 1945-1953.
88. King A.E., Blizzard C.A., Southam K.A. i wsp.: Degeneration of axons in spinal white matter in G93A mSOD1 mouse characterized by NFL and alpha-internexin immunoreactivity. *Brain Res.* 2012; 1465: 90-100.
89. Williamson T.L., Bruijn L.I., Zhu Q. i wsp.: Absence of neurofilaments reduces the selective vulnerability of motor neurons and slows disease caused by a familial amyotrophic lateral sclerosis-linked superoxide dismutase 1 mutant. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 9631-9636.
90. Kesavapany S., Patel V., Zheng Y.L. i wsp.: Inhibition of Pin1 reduces glutamate-induced perikaryal accumulation of phosphorylated neurofilament-H in neurons. *Mol. Biol. Cell.* 2007; 18: 3645-3655.
91. Liem R.K., Messing A.: Dysfunctions of neuronal and glial intermediate filaments in disease. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 1814-1824.
92. Xiao S., Tjostheim S., Sanelli T. i wsp.: An aggregate-inducing peripherin isoform generated through intron retention is upregulated in amyotrophic lateral sclerosis and associated with disease pathology. *J. Neurosci.* 2008; 28: 1833-1840.
93. Adalbert R., Coleman M.P.: Axon pathology in age-related neurodegenerative disorders. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2012 Oct 10 [Epub ahead of print].
94. Fischer L.R., Culver D.G., Tennant P. i wsp.: Amyotrophic lateral sclerosis is a distal axonopathy: evidence in mice and man. *Exp. Neurol.* 2004; 185: 232-240.
95. Cheah B.C., Lin C.S., Park S.B. i wsp.: Progressive axonal dysfunction and clinical impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin. Neurophysiol.* 2012; 123: 2460-2467.
96. Bilsland L.G., Sahai E., Kelly G. i wsp.: Deficits in axonal transport precede ALS symptoms *in vivo*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2010; 107: 20523-20528.

97. Zhao C., Takita J., Tanaka Y. i wsp.: Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1B $\beta$ . *Cell* 2001; 105: 587-597.
98. Kuźma-Kozakiewicz M., Chudy A., Gajewska B. i wsp.: Kinesin expression in the central nervous system of humans and transgenic hSOD1G93A mice with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener. Dis.* 2012 [Epub ahead of print].
99. Landers J.E., Melki J., Meininger V. i wsp.: Reduced expression of the Kinesin-Associated Protein 3 (KIFAP3) gene increases survival in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2009; 106: 9004-9009.
100. Tateno M., Kato S., Sakurai T. i wsp.: Mutant SOD1 impairs axonal transport of choline acetyltransferase and acetylcholine release by sequestering KAP3. *Hum. Mol. Genet.* 2009; 18: 942-955.
101. Zhang F., Ström A.L., Fukada K. i wsp.: Interaction between familial amyotrophic lateral sclerosis (ALS)-linked SOD1 mutants and the dynein complex. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 16691-16699.
102. Fanara P., Banerjee J., Hueck R.V. i wsp.: Stabilization of hyperdynamic microtubules is neuroprotective in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 23465-23472.
103. Ravikumar B., Acevedo-Arozena A., Imarisio S. i wsp.: Dynein mutations impair autophagic clearance of aggregate-prone proteins. *Nat. Genet.* 2005; 37: 771-776.
104. Puls I., Jonnakuty C., LaMonte B.H. i wsp.: Mutant dynactin in motor neuron disease. *Nat. Genet.* 2003; 33: 455-456.
105. Laird F.M., Farah M.H., Ackerley S. i wsp.: Motor neuron disease occurring in a mutant dynactin mouse model is characterized by defects in vesicular trafficking. *J. Neurosci.* 2008; 28: 1997-2005.
106. Miller K.E., Sheetz M.P.: Axonal mitochondrial transport and potential are correlated. *J. Cell. Sci.* 2004; 117: 2791-2804.
107. De Vos K., Severin F., van Herreweghe F. i wsp.: Tumor necrosis factor induces hyperphosphorylation of kinesin light chain and inhibits kinesin-mediated transport of mitochondria. *J. Cell Biol.* 2000; 149: 1207-1214.
108. Brownlee J., Yates A., Bajaj N.P. i wsp.: Phosphorylation of neurofilament heavy chain side-arms by stress activated protein kinase-1 $\beta$ /Jun N-terminal kinase-3. *J. Cell Sci.* 2000; 113: 401-407.
109. Van Den Bosch L., Robberecht W.: Crosstalk between astrocytes and motor neurons: what is the message? *Exp. Neurol.* 2008; 211: 1-6.
110. Ekestern E.: Neurotrophic factors and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener. Dis.* 2004; 1: 88-100.
111. Pehar M., Cassina P., Vargas M.R. i wsp.: Astrocytic production of nerve growth factor in motor neuron apoptosis: implications for amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem.* 2004; 89: 464-473.
112. 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.* 1992; 326: 1464-1468.
113. Rothstein J.D., Van Kammen M., Levey A.I. i wsp.: Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1995; 38: 73-84.
114. Nagai M., Re D.B., Nagata T. i wsp.: Astrocytes expressing ALS-linked mutated SOD1 release factors selectively toxic to motor neurons. *Nat. Neurosci.* 2007; 10: 615-622.
115. Clement A.M., Nguyen M.D., Roberts E.A. i wsp.: Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science* 2003; 302: 113-117.
116. Ferraiuolo L., Higginbottom A., Heath P.R. i wsp.: Dysregulation of astrocyte-motoneuron cross-talk in mutant superoxide dismutase 1-related amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2011; 134: 2627-2641.
117. Van Damme P., Bogaert E., Dewil M. i wsp.: Astrocytes regulate GluR2 expression in motor neurons and their vulnerability to excitotoxicity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2007; 104: 14825-14830.
118. Kriz J., Nguyen M.D., Julien J.P.: Minocycline slows disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 2002; 10: 268-278.
119. Bretschneider J., Toledo J.B., van Deerlin V.M. i wsp.: Microglial activation correlates with disease progression and upper motor neuron clinical symptoms in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* 2012; 7: e39216.
120. Yamanaka K.: Glial pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Rinsho Shinkeigaku* 2011; 51: 1192-1194.
121. Sica R.E.: Is amyotrophic lateral sclerosis a primary astrocytic disease? *Med. Hypotheses* 2012; 79: 819-822.
122. Song F., Chiang P., Wang J. i wsp.: Aberrant neuregulin 1 signaling in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2012; 71: 104-115.
123. Rao C.V., Weiss J.H.: Excitotoxic and oxidative cross-talk between motor neurons and glia in ALS pathogenesis. *Trends Neurosci.* 2004; 27: 17-23.
124. Giulian D.: Reactive glia as rivals in regulating neuronal survival. *Glia* 1993; 7: 102-110.
125. Yamanaka K., Boillee S., Roberts E.A. i wsp.: Mutant SOD1 in cell types other than motor neurons and oligodendrocytes accelerates onset of disease in ALS mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2008; 105: 7594-7599.
126. Liu G., Fiala M., Mizwicki M.T. i wsp.: Neuronal phagocytosis by inflammatory macrophages in ALS spinal cord: inhibition of inflammation by resolvin D1. *Am. J. Neurodegener. Dis.* 2012; 1: 60-74.
127. Vargas M.R., Pehar M., Diaz-Amarilla P.J. i wsp.: Transcriptional profile of primary astrocytes expressing ALS-linked mutant SOD1. *J. Neurosci. Res.* 2008; 86: 3515-3525.
128. McGeer P.L., McGeer E.G.: Inflammatory processes in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2002; 26: 459-470.
129. Philips T., Robberecht W.: Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease. *Lancet Neurol.* 2011; 10: 253-263.
130. Von Bernhardi R., Eugenin J.: Microglial reactivity to  $\beta$ -amyloid is modulated by astrocytes and proinflammatory factors. *Brain Res.* 2004; 1035: 186-193.
131. Gowing G., Philips T., Van Wijmeersch B. i wsp.: Ablation of proliferating microglia does not affect motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis caused by mutant superoxide dismutase. *J. Neurosci.* 2008; 28: 10234-10244.
132. Papadimitriou D., Le Verche V., Jacquier A. i wsp.: Inflammation in ALS and SMA: sorting out the good from the evil. *Neurobiol. Dis.* 2010; 37: 493-502.
133. Fujita K., Izumi Y., Kaji R.: Inflammatory mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Nerve* 2012; 64: 273-278.
134. Mantovani S., Garbelli S., Pasini A. i wsp.: Immune system alterations in sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients suggest an ongoing neuroinflammatory process. *J. Neuroimmunol.* 2009; 210: 73-79.
135. Kipnis J., Avidan H., Caspi R.R., Schwartz M.: Dual effect of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in neurodegeneration: a dialogue with microglia. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2004; 101 (supl. 2): 14663-14669.
136. Miyagishi H., Kosuge Y., Ishige K., Ito Y.: Expression of microsomal prostaglandin E synthase-1 in the spinal cord in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Pharmacol. Sci.* 2012; 118: 225-236.
137. Aebischer J., Moumen A., Sazdovitch V. i wsp.: Elevated levels of IFN $\gamma$  and LIGHT in the spinal cord of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 2012; 19: 752-759.

138. Liu Y., Hao W., Dawson A. i wsp.: Expression of amyotrophic lateral sclerosis – linked SOD1 mutant increases the neurotoxic potential of microglia via TLR2. *J. Biol. Chem.* 2009; 284: 3691-3699.
139. Urushitani M., Sik A., Sakurai T. i wsp.: Chromogranin-mediated secretion of mutant superoxide dismutase proteins linked to amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Neurosci.* 2006; 9: 108-118.
140. Fiala M., Chattopadhyay M., La Cava A. i wsp.: IL-17A is increased in the serum and in spinal cord CD8 and mast cells of ALS patients. *J. Neuroinflammation* 2010; 7: 76.
141. Kuhle J., Lindberg R.L., Regeniter A. i wsp.: Increased levels of inflammatory chemokines in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 2009; 16: 771-774.
142. Rentzos M., Nikolaou C., Rombos A. i wsp.: RANTES levels are elevated in serum and cerebrospinal fluid in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2007; 8: 283-287.
143. Babu G.N., Kumar A., Chandra R. i wsp.: Elevated inflammatory markers in a group of amyotrophic lateral sclerosis patients from northern India. *Neurochem. Res.* 2008; 33: 1145-1149.
144. Wilms H., Sievers J., Dengler R. i wsp.: Intrathecal synthesis of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in amyotrophic lateral sclerosis: further evidence for microglial activation in neurodegeneration. *J. Neuroimmunol.* 2003; 144: 139-142.
145. Zhang R., Miller R.G., Gascon R. i wsp.: Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *J. Neuroimmunol.* 2009; 206: 121-124.
146. Vadakkadath Meethal S.V., Atwood C.S.: Lactate dyscrasia: a novel explanation for amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Aging* 2012; 33: 569-581.
147. Rosen D.R., Siddique T., Patterson D. i wsp.: Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.
148. Eymard-Pierre E., Lesca G., Dollet S. i wsp.: Infantile-onset ascending hereditary spastic paralysis is associated with mutations in the alsin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71: 518-527.
149. Nishimura A.L., Mitne-Neto M., Silva H.C. i wsp.: A mutation in the vesicle-trafficking protein VAPB causes late-onset spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 75: 822-831.
150. Chem Y.Z., Bennett C.L., Huynh H.M. i wsp.: DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 74: 1128-1135.
151. Greenway M.J., Andersen P.M., Russ C. i wsp.: *ANG* mutations segregate with familial and “sporadic” amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Genet.* 2006; 38: 411-413.
152. Skorupa A., King M.A., Aparicio I.M. i wsp.: Motoneurons secrete angiogenin to induce RNA cleavage in astroglia. *J. Neurosci.* 2012; 32: 5024-5038.
153. Corrado L., Ratti A., Gellera C. i wsp.: High frequency of *TARDBP* gene mutations in Italian patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Hum. Mutat.* 2009; 30: 688-694.
154. Lagier-Tourenne C., Cleveland D.W.: Rethinking ALS: the FUS about TDP-43. *Cell* 2009; 136: 1001-1004.
155. Brown J.A., Min J., Staropoli J.F. i wsp.: SOD1, ANG, TARDBP and FUS mutations in amyotrophic lateral sclerosis: a United States clinical testing lab experience. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2012; 13: 217-222.
156. Lattante S., Conte A., Zollino M. i wsp.: Contribution of major amyotrophic lateral sclerosis genes to the etiology of sporadic disease. *Neurology* 2012; 79: 66-72.
157. Nagayama S., Minato-Hashiba N., Nakata M. i wsp.: Novel *FUS* mutation in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis and corticobasal degeneration. *J. Clin. Neurosci.* 2012; 19: 1738-1739.
158. Chang Y., Kong Q., Shan X. i wsp.: Messenger RNA oxidation occurs early in disease pathogenesis and promotes motor neuron degeneration in ALS. *PLoS One* 2008; 3: e2849.
159. Verstraete E., Kuiperij H.B., van Blitterswijk M.M. i wsp.: TDP-43 plasma levels are higher in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2012; 13: 446-451.
160. Maruyama H.: Identification of a new causative gene of amyotrophic lateral sclerosis: optineurin. *Rinsho Shinkeigaku* 2012; 52: 1-5.
161. Ying H., Yue B.Y.: Cellular and molecular biology of optineurin. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 2012; 294: 223-258.
162. Kryndushkin D., Ihrke G., Piermartiri T.C., Shewmaker F.: A yeast model of optineurin proteinopathy reveals a unique aggregation pattern associated with cellular toxicity. *Mol. Microbiol.* 2012; 86: 1531-1547.
163. Moumen A., Virard I., Raoul C.: Accumulation of wildtype and ALS-linked mutated VAPB impairs activity of the proteasome. *PLoS One* 2011; 6: e26066.
164. Daoud H., Dobrzyniecka S., Camu W. i wsp.: Mutation analysis of *PFN1* in familial amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurobiol. Aging* 2013; 34: e1-e2.
165. Wu C.H., Fallini C., Ticozzi N. i wsp.: Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2012; 488: 499-503.
166. Fecto F., Yan J., Vemula S.P. i wsp.: *SQSTM1* mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Arch. Neurol.* 2011; 68: 1440-1446.
167. Rubino E., Rainero I., Chiò A. i wsp.: *SQSTM1* mutations in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2012; 79: 1556-1562.
168. Al-Saif A., Al-Mohanna F., Bohlega S.: A mutation in sigma-1 receptor causes juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 2011; 70: 913-919.
169. Mancuso R., Oliván S., Rando A. i wsp.: Sigma-1R agonist improves motor function and motoneuron survival in ALS mice. *Neurotherapeutics* 2012; 9: 814-826.
170. Renton A.E., Majounie E., Waite A. i wsp.: A hexanucleotide repeat expansion in *C9ORF72* in the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011; 72: 245-268.
171. De Jesus-Hernandez M., MacKenzie I.R., Boeve B.F. i wsp.: Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 2011; 72: 245-256.
172. Pratt A.J., Getzoff E.D., Perry J.P.: Amyotrophic lateral sclerosis: update and new developments. *Degener. Neurol. Neuromuscul. Dis.* 2012; 2012: 1-14.
173. Abramzon Y., Johnson J.O., Scholz S.W. i wsp.: Valosin-containing protein (*VCP*) mutations in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Aging* 2012; 33: 2231.
174. Couthouis J., Hart M.P., Shorter J. i wsp.: A yeast functional screen predicts new candidate ALS disease genes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2011; 108: 20881-20890.