



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA
Dissertação de Mestrado**

**MUTAÇÕES DO GENE SOD-1 (SUPERÓXIDO DISMUTASE 1) NA
FORMA FAMILIAR DA ESCLEROSE AMIOTRÓFICA LATERAL:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

ALEANDRO GERALDO ALVES

**ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Márcio
Teodoro Cordeiro Silva**

**GOIÂNIA-GO
2011**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA**

**MUTAÇÕES DO GENE SOD-1 (SUPERÓXIDO DISMUTASE 1) NA
FORMA FAMILIAR DA ESCLEROSE AMIOTRÓFICA LATERAL:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

ALEANDRO GERALDO ALVES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Genética.

**ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Vera
Aparecida Saddi.**

**CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio
Márcio Teodoro Cordeiro Silva.**

**GOIÂNIA-GO
2011**

A474m Alves, Aleandro Geraldo.
Mutações do gene SOD-1 (Superóxido dismutase 1) na forma familiar da esclerose amiotrófica lateral : revisão sistemática [manuscrito] / Aleandro Geraldo Alves. – 2011.
xii, 42 f.

Bibliografia: f. 29.42

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2011.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi.

Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva.

Inclui lista de figuras, tabelas, abreviaturas e siglas.

1. Esclerose amiotrófica lateral. 2. Esclerose amiotrófica lateral familiar. 3. Superóxido dismutase. 4. Mutação. I. Título.

CDU: 616-004:575.224.2(043.3)

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM GENÉTICA
DEFENDIDA EM 11 DE AGOSTO DE 2011 E APROVADA
PELA BANCA EXAMINADORA COM A NOTA
9,5 (nove e meio.....)

Banca Examinadora



Dr^a. Vera Aparecida Saddi - PUC Goiás
(presidente orientadora)



Dr^o. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva – PUC Goiás
(coorientador)



Dr^a. Rejane da Silva Sena Barcelos – PUC Goiás
(membro interno)



Dr^o. João Carlos Nabout - UEG
(membro externo)

Aos meus queridos pais, Rafael e Altamira , a minha esposa Fernanda e ao meu amado filho Bernardo pelo apoio, incentivo e amor incondicional em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Profª Drª Vera Saddi, minha orientadora, pela paciência, credibilidade, incentivo, ensinamentos e generosidade. Nunca saberei expressar minha gratidão e admiração, neste caso apenas agradeço imensamente por tudo.

Ao Prof. Dr. Márcio Cordeiro, meu co-orientador pela disponibilidade, sabedoria e apoio. Minha admiração e agradecimento.

Aos meus queridos pais Rafael e Altamira pelo amor incondicional, pelos ensinamentos de caráter, honestidade e integridade, pelo apoio durante toda a minha formação. Meu amor por vocês é eterno.

A Fernanda, meu grande amor, pelo permanente apoio, cumplicidade, compreensão, incentivo e companheirismo em todos os momentos. Obrigado pelas palavras sábias de apoio nas horas do desânimo. Amo muito você.

Ao meu filho Bernardo, que eu agradeço a Deus todos os dias da minha vida por ter me presenteado. Amo você incondicionalmente.

Aos meus irmãos, meu sogro e minha sogra pelo apoio e orações.

Às pessoas que indiretamente me deram suporte para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Por fim, agradeço a Deus pela fé, saúde, oportunidade de realizar mais um sonho em minha vida, por ter verdadeiros amigos e uma família, base da minha vida.

"Nosso medo mais profundo não é o de não sermos bons o suficiente. O nosso medo mais profundo é o de sermos poderosos além das medidas. É a nossa luz, e não a nossa escuridão o que mais tememos. Por isso nos perguntamos: Quem somos para nos considerarmos brilhantes, maravilhosos, talentosos, fabulosos? Nós somos crianças de Deus. A nossa falsa humildade não vai servir o mundo. Não há nada de iluminado nesse encolher-se para que outros não se sintam inseguros à nossa volta. Estamos todos aqui para irradiar como fazem as crianças, e a medida em que deixamos a nossa luz brilhar, inconscientemente damos aos outros permissão para que brilhem também. A medida que nos liberamos do nosso próprio medo, a nossa presença, automaticamente libera outros para que façam o mesmo." (Nelson Mandela)

RESUMO

A esclerose amiotrófica lateral (EAL) é uma doença multifatorial que afeta os neurônios motores. Na maioria dos casos, a doença é esporádica, entretanto, 5 a 10% dos pacientes apresentam história familiar (EAL-F). Dentre os pacientes com EAL-F, 12 a 23% apresentam mutações no gene *SOD1*. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática acerca das mutações descritas no gene *SOD1* em pacientes com EAL-F. As bases de dados consultadas incluíram Pubmed, ISI Web of Science e Cochrane Biblioteca Virtual em Saúde. Após a revisão dos resumos, 71 artigos foram selecionados descrevendo mutações no gene *SOD1* em pacientes com EAL-F. O ano que apresentou o maior número de publicações foi 1997 e o Japão foi o país que mais publicou sobre o assunto, aparecendo em 23 artigos. O maior número de mutações foi descrito nos éxons 4 e 5 do gene *SOD1* e as mutações A4V, I113T, I144F, D90A e L38V foram as mais comumente citadas. Até o momento 156 mutações no gene *SOD1* já foram catalogadas em pacientes com EAL-F e esses dados encontram-se depositados no *ALS ONLINE GENETICS DATABASE*, um banco de dados que contém informações específicas sobre mutações associadas à esclerose amiotrófica lateral. Entretanto, os artigos revisados neste estudo descrevem 103 destas mutações. As causas relacionadas às mutações no gene *SOD1* permanecem incertas, assim como a relação entre tais mutações e a evolução da doença, portanto, muito ainda deve ser estudado acerca desse tema.

Palavras-chave: Esclerose Amiotrófica Lateral; Esclerose Amiotrófica Lateral Familiar; Superóxido Dismutase; *SOD-1*; Mutação.

ABSTRACT

Background: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a multifactorial disease that affects motor neurons. In most cases, the disease is sporadic, however, 5 to 10% of patients have a familial history (FALS). Among patients with FALS, 12 to 23% present with mutations in the SOD1 gene. **Objectives:** To present a systematic review about the mutations described in SOD1 gene in patients with FALS. **Methods:** The databases used in this study included PubMed, ISI Web of Science and Cochrane Library Virtual Health. After reading the abstracts, 71 articles were selected and systematically reviewed on this study. **Results:** The largest number of publications was found in 1997, and Japan was the country with the majority of published studies on the subject, with 23 articles. The majority of the mutations were described in exons four and five of SOD1 gene, and A4V, I113T, I144F, D90A and L38V were the most commonly mutation described. More than 156 mutations in the SOD1 gene have been cataloged in patients with ALS-F and these data are deposited in *ALS GENETICS ONLINE DATABASE*, a database that contains specific information on mutations associated with amyotrophic lateral sclerosis. However, the articles reviewed in this study described 103 mutations. **Conclusions:** Several mutations in the SOD1 gene have been described in patients with ALS-F, however, the relationship between such mutations and the pathogenesis of ALS-F remains unclear, as well as the relationship between mutations and disease progression. Further studies are necessary in order to better explain such relationship.

Keywords: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS); Amyotrophic lateral sclerosis familial (FALS); Superoxide Dismutase; *SOD-1*; Mutation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Diferentes mutações catalogas em genes potencialmente associados à EAL-F.....5
- Figura 2** – Localização cromossômica do gene *SOD1*. Fonte: modificada a partir de Pubmed, 2010.....12
- Figura 3** – Estrutura da proteína SOD1. Fonte: (ALS ONLINE GENETICS DATABASE, 2011).....14
- Figura 4** – Reações mediadas pelo cobre catalisadas pela enzima SOD1.....15
- Figura 5** – Países com o maior número de estudos sobre mutações no gene *SOD1* relacionados a EAL-F.....22
- Figura 6** – Número de publicações sobre as mutações no gene *SOD1* relacionadas a EAL-F no período de 1994 a 2011.....22
- Figura 7** – Mutações da SOD1 mais comumente descritas em pacientes com EAL-F.....23
- Figura 8** – Éxons do gene SOD1 mais comumente mutados em pacientes com EAL-F.....23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Genes potencialmente relacionados à forma familiar da EAL-F.....5

Tabela 2 – Dados de incidência e prevalência de EAL na população mundial...6

Tabela 3 – Mutações no gene SOD1 descritas em pacientes com EAL-F no continente Asiático.....18

Tabela 4A – Mutações no gene SOD1 descritas em pacientes com EAL-F no continente Europeu.....19

Tabela 4B – Mutações no gene SOD1 descritas em pacientes com EAL-F no continente Europeu.....20

Tabela 5 – Mutações no gene SOD1 descritas em pacientes com EAL-F continente Americano.....21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALS – do inglês: *Amyotrophic lateral sclerosis*

EAL – Esclerose amiotrófica lateral

EAL-F – Esclerose amiotrófica lateral tipo familiar

SOD1 – Superóxido dismutase

SNC- Sistema nervoso central

NMS- Neurônio motor superior

NMI- Neurônio motor inferior

VNI- ventilação nasal intermitente de pressão positiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBETIVO GERAL.....	02
3. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	02
4. METODOLOGIA.....	02
5. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA FORMA FAMILIAR DA EAL.....	03
5.1 Etiologia.....	03
5.2 Incidência e Prevalência.....	05
5.3 Mortalidade/morbidade.....	07
5.4 Distribuição por gênero e faixas etárias mais acometidas.....	08
6. ASPECTOS CLÍNICOS RELACIONADOS À FORMA FAMILIAR DA EAL.....	08
6.1 Sinais e sintomas.....	08
6.2 Diagnóstico e tratamento.....	09
7. ASPECTOS GENÉTICOS E BIOQUÍMICOS RELACIONADOS À FORMA FAMILIAR DA EAL.....	12
7.1 SOD1.....	12
8. Padrões de herança e penetrância relacionadas à forma familiar da EAL.....	15
9. PRINCIPAIS ESTUDOS MUTACIONAIS DE SOD1 RELACIONADOS À FORMA FAMILIAR DA EAL.....	17
10. RESULTADOS.....	18
11. DISCUSSÃO.....	24
12. CONCLUSÕES.....	27
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

1. Introdução

A esclerose amiotrófica lateral (EAL) é uma doença neurodegenerativa progressiva do sistema nervoso central (SNC), com maior prevalência dentre as patologias que acometem o neurônio motor. A doença é associada à perda dos neurônios motores superiores (NMS) do córtex cerebral e tronco encefálico, afetando também os neurônios motores inferiores (NMI) da medula espinhal (Kobayashi *et al.*, 2011).

Até o momento, não existe uma terapia eficaz capaz de curar ou deter a evolução inexorável da EAL (Palmisano *et al.*, 2011). A etiopatogênese da EAL não é conhecida e vários fatores genéticos, ambientais e endógenos parecem contribuir para o desencadeamento e evolução da neurotoxicidade da doença (Zanoteli *et al.*, 2004). Devido à sua rápida progressão, à agressividade das sequelas, à baixa qualidade de vida dos pacientes, às causas não identificadas da doença, uma crescente busca tem sido empreendida no sentido de explicar as causas genéticas e ambientais da EAL, resultando em um grande número de publicações na literatura mundial (Zinman *et al.*, 2009).

A forma familiar da doença (EAL-F) pode ocorrer como um traço autossômico dominante ou recessivo, sendo responsável por 5 a 10% de todos os pacientes com EAL e grande parte dos genes relacionados à EAL-F permanecem desconhecidos (Zetterström *et al.*, 2011). Entretanto, as mutações no gene que codifica a enzima Cu/Zn superóxido dismutase (SOD1) representam as alterações genéticas mais consistentemente associadas à forma familiar da doença, estando presentes em 12 a 23% dos casos (Wuolikainen *et al.*, 2011). Um paradoxo sobre a EAL-F em humanos é que alguns irmãos do grupo afetado podem ter herdado a mesma mutação no *locus SOD1* sem apresentar sinais da doença e uma significativa heterogeneidade de sintomas é verificada nas famílias. Essas descobertas têm sido observadas em vários estudos de populações independentes e representam uma grande lacuna no conhecimento acerca do papel do gene *SOD1* na patogênese da EAL-F (Heiman-Patterson *et al.*, 2005).

2. Objetivo Geral

Realizar uma revisão sistemática sobre os aspectos clínicos, epidemiológicos e genéticos relacionados a EAL-F, destacando as principais mutações do gene *SOD1* associadas à forma familiar da esclerose amiotrófica lateral.

3. Objetivos Específicos

- 1) Revisar os principais aspectos clínicos e epidemiológicos da forma familiar da EAL.
- 2) Identificar os principais aspectos genéticos e bioquímicos relacionados ao desenvolvimento da forma familiar da EAL.
- 3) Descrever os padrões de herança relacionados à forma familiar da EAL.
- 4) Revisar os principais estudos mutacionais relacionados à forma familiar da EAL.
- 5) Identificar e descrever as mutações detectadas no gene *SOD1* em indivíduos com a forma familiar da EAL.

4. Metodologia

Uma revisão sistemática, assim como outros tipos de estudo de revisão, é uma forma de pesquisa que utiliza como fonte de dados a literatura sobre determinado tema (Sampaio & Mancini, 2007). É uma revisão planejada para responder a uma pergunta específica e que utiliza métodos explícitos e sistematizados de busca de dados para identificar, selecionar e avaliar criticamente os estudos disponíveis sobre um tema, além de coletar e analisar os dados destes estudos (Castro, 2001), dessa forma, uma revisão sistemática depende da qualidade da fonte primária das informações (Sampaio & Mancini, 2007). Este estudo revisou os principais aspectos epidemiológicos, genéticos e bioquímicos relacionados a forma familiar da EAL.

A presente pesquisa empregou estratégias de busca nas bases de dados da literatura médica mundial, incluindo o Pubmed, ALS Online Genetics Database, ISI Web of Science e Cochrane Biblioteca Virtual em Saúde. Os termos usados na busca foram "SOD1, ALS, gene, mutation, familiar, study", resultando em 130 citações, com último acesso em 14 de junho de 2011.

A partir das citações obtidas, foram selecionados todos os resumos disponíveis. Os resumos foram lidos sistematicamente e os artigos que apresentaram conteúdo relacionado à história familiar da EAL foram buscados na íntegra, sendo criteriosamente lidos. De acordo com os objetivos propostos no estudo, os principais dados foram coletados, incluindo aspectos clínicos e epidemiológicos, genéticos e bioquímicos, além dos padrões de herança e mutações relacionados à forma familiar da EAL e estudos mutacionais relacionados à forma familiar da EAL.

Os dados coletados foram analisados de forma descritiva e quantitativa, sendo, subsequentemente, resumidos de maneira a oferecer informações sobre os aspectos genéticos mais relevantes da forma familiar da EAL.

5. Aspectos epidemiológicos da forma familiar da EAL

5.1 Etiologia

Embora sua etiopatogenia ainda não esteja clara, a EAL é considerada uma doença multifatorial. Os defeitos genéticos em alguns pacientes com EAL tornam-os suscetíveis à doença. Isso é verdade não só nas formas familiares de esclerose amiotrófica lateral (EAL-F), mas também em alguns casos de forma esporádica (Gamez *et al.*, 2006).

Interações gene-ambiente parecem desempenhar um papel importante no aparecimento da doença, como história de trauma no cérebro e medula espinhal, alimentação, atividade física extenuante, exposição às radiações ionizantes, choques elétricos, exposição a materiais de solda, pintura, petróleo, ou indústrias de laticínios. No entanto, nenhum fator de risco exógeno para EAL foi relatado de forma consistente (Majoor-Krakauer *et al.*, 2003).

Investigações laboratoriais identificaram várias alterações da função celular em neurônios motores de pacientes com EAL, como diminuição da produção de energia, metabolismo anormal do cálcio, alteração no transporte axonal e ativação de proteases e nucleases. Vários fatores são propostos para a indução destes fenômenos, incluindo infecções latentes por vírus, toxinas, agentes não virais, inseticidas, pesticidas e reações auto-imunes (Pasinelli *et al.*, 2006).

O mecanismo pelo qual a mutação do gene *SOD1* provoca a degeneração dos neurônios motores permanece incerto (Zinman *et al.*, 2009). Estudos demonstram que a maioria das mutações no gene *SOD1* mantém a atividade enzimática, indicando que a EAL-F não é causada por perda ou redução da atividade de *SOD1*, mas sim pelo ganho de função tóxica causada pela proteína mutante. A natureza dessa função tóxica também não é compreendida (Zetterström *et al.*, 2011).

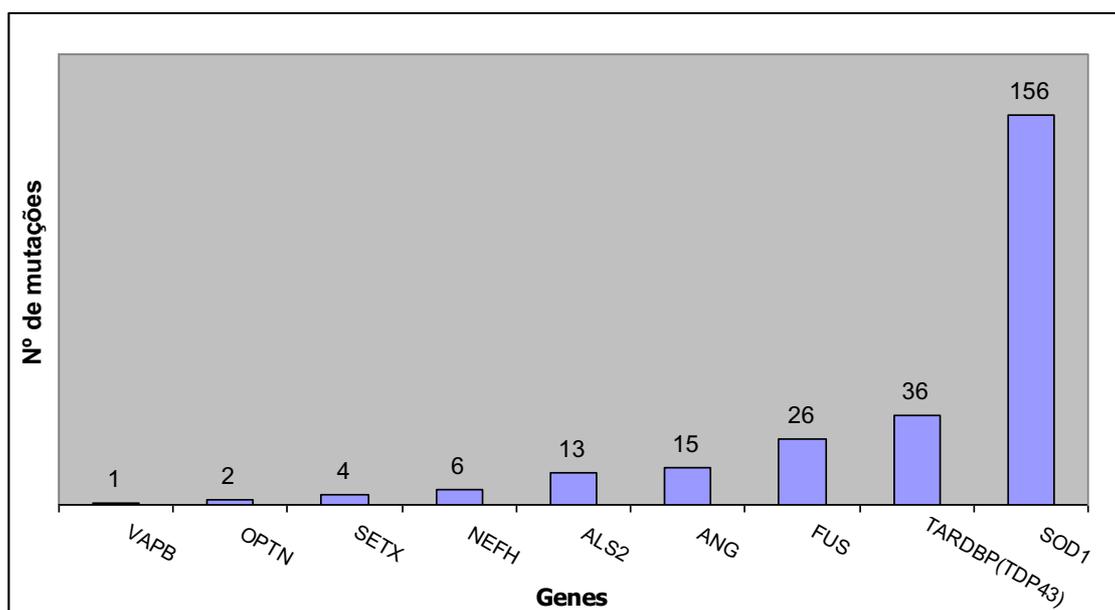
Aproximadamente 12 a 23% dos casos de EAL-F estão ligados ao cromossomo 21q22.1 (Rabe *et al.*, 2010). Neste endereço gênico, 156 mutações *missense* com um padrão de herança autossômica dominante em todos os cinco éxons do gene *Cu/Zn Superóxido Dismutase (SOD1)* já foram catalogadas (*ALS ONLINE GENETICS DATABASE*, 2011). Além da *SOD1*, outros genes relacionados a EAL-F (Tabela 1) já foram descritos. Entretanto, acredita-se que vários outros genes associados à EAL-F ainda permaneçam desconhecidos (Pasinelli *et al.*, 2006), resultando em grande heterogeneidade genética e, seguramente, variados mecanismos etiopatogênicos para esta doença (Silva, 2006). Em um estudo realizado na Espanha, Holanda e Inglaterra, mutações no gene *FUS* foram descritos com uma prevalência de 8%, representando o segundo alvo genético mais comumente alterado em indivíduos com EAL-F (Syriani *et al.*, 2011). As frequências das mutações nos genes *FUS* e *TARDBP* foram estudadas em Taiwan, revelando resultados de 13% e 20%, respectivamente (Tsai *et al.*, 2011). As frequências de mutações no gene *FUS* descritas em Taiwan (13%) foram significativamente mais elevadas que aquelas descritas na população dos países europeus (8%).

Tabela 1- Genes potencialmente relacionados à forma familiar da EAL-F.

Fonte: Silva, 2006.

Nome do locus	Gene	Locus	Proteína
ALS1	SOD1	21q22.1	Superoxide dismutase
ALS2	ALS2	2q33	Alsin
ALS3		18q21	
ALS4	SETX	9q34	Senataxina (provável helicase)
ALS5		15q15.1-q21.1	
ALS6		16q12	
ALS6	FUS	16p11.2	RNA-binding protein FUS
ALS7		20p13	
ALS8	VAPB	20q13.3	Proteína B associada a membrana vesicular
ALS9	ANG	14q11	Angiogenina
ALS10	TARDBP	1p36.2	TAR DNA-binding protein 43

Até o momento, 259 mutações já foram catalogadas em diferentes genes descritos em associação com a EAL-F (Figura 1), incluindo uma em *VAPB*, duas em *OPTN*, quatro em *SETX*, seis em *NEFH*, 13 mutações em *ALS2*, 15 em *ANG*, 26 em *FUS*, 36 em *TARDBP (TDP43)* e 156 em *SOD1 (ALS ONLINE GENETICS DATABASE, 2011)*.

**Figura 1** - Diferentes mutações catalogadas em genes potencialmente associados à EAL-F (*ALS Online Genetics Database, 2011*).

5.2 Incidência e Prevalência

Dados da literatura relatam que a incidência mundial de EAL varia de 0,3 a 3,9 casos por 100.000 habitantes a cada ano e que a prevalência varia de quatro a seis casos por 100.000 habitantes (Tabela 2) (Pereira, 2006; Werneck *et al.*, 2007). Entretanto, dados isolados mostram variações e algumas seletas

regiões no mundo apresentam uma elevada incidência de EAL, como na ilha de Guam, em Nova Guiné Ocidental, e na península de Kii no Japão (Gros-Louis *et al.*, 2006). A prevalência de EAL no Japão é de 3,8 por 100.000 habitantes, porém, a prevalência na Bacia de Miyakonojo é de 11,3 por 100.000. Além disso, nestas regiões, os pacientes com EAL-F são mais prevalentes do que os pacientes com EAL esporádicos (Arisato *et al.*, 2003).

Tabela 2 – Dados de incidência e prevalência de EAL na população mundial.

Fonte: Pereira, 2006.

Regiões	Incidência (por 100.000 habitantes)	Prevalência (por 100.000 habitantes)	Ano Publicação
Guam	3,9		2004
Líbia	3,4		2005
Austrália	2,9		2005
Irlanda	2,8	4,7	1999
Japão	2,5	11,31	2005
Finlândia	2,4		2006
EUA	2	3 - 8	2004
Canadá	2	6,7	2005
Estônia	1,9		2006
Noruega	1,9		2005
Inglaterra	1,7		2001
Itália	1,7	4,03	2005
Brasil	1,5		1998
França	1,5		2000
Grécia	1,3		2005
Polônia	0,8		2005
Chile	0,5		2005
México	0,4		2005
China	0,3		2006

Nos Estados Unidos, a epidemiologia é bem conhecida e um grande número de trabalhos científicos são realizados. Cerca de 5.000 novos casos de EAL são registrados anualmente, correspondendo aproximadamente a 13 novos casos por dia (Pereira, 2006).

No Brasil, poucos estudos foram desenvolvidos a respeito deste tema, com a incidência estimada de 1,5 caso por 100.000 habitantes, ou seja, 2.500 pacientes/ano (Werneck *et al.*, 2007). Um estudo desenvolvido no Hospital das

Clínicas da Universidade do Paraná descreve 251 pacientes com EAL, dentre os quais, somente 2,8% estavam ligados à forma familiar da doença (Werneck *et al.*, 2007). Outro estudo realizado no Hospital Universitário de Fortaleza, Brasil, com 78 pacientes diagnosticados com EAL, descreve somente dois pacientes com EAL-F (Castro-Costra *et al.*, 2000).

5.3 Mortalidade/morbidade

Em geral, 80% dos pacientes com EAL morrem dentro de 3 a 5 anos após aparecimento dos sintomas (Anequini *et al.*, 2006). Em seu estudo Tada *et al.* (2011) relatam que 50% morrem dentro de 3 anos.

A duração da EAL-F é bimodal, pois pacientes com pior prognóstico têm uma média de sobrevida de 2 anos, enquanto o restante tem um prognóstico melhor, geralmente com a sobrevida maior que 5 anos. A sobrevida não é afetada pela idade ou sexo, mas sim pelo local de início dos sintomas, ou seja, maior sobrevida é vista quando as mãos são afetadas primariamente, em comparação com o início nas pernas ou nos músculos da orofaringe (Hand e Rouleau, 2002). Nos Estados Unidos, a metade de todos os pacientes afetados vive pelo menos 3 anos ou mais após o diagnóstico. Cerca de 20% vivem 5 anos ou mais, e somente 10% dos casos sobrevivem mais de 10 anos (Pereira, 2006).

No Brasil, nenhuma tentativa para reunir uma ampla base de dados sobre os aspectos epidemiológicos da EAL foi desenvolvida (Dietrich-Neto *et al.*, 2000). Apenas três estudos tratam da mortalidade por EAL no país, sendo que um deles (Lima *et al.*, 1983), realizado no Rio de Janeiro, avaliou pacientes com EAL durante um período de 10 anos (1965-1974) e mostrou uma taxa anual de mortalidade de 0,3 a 0,9/100.000. Outro estudo (Gomes *et al.*, 1991), realizado no Rio de Janeiro, no período de 1979 a 1986, demonstrou uma taxa de mortalidade anual de 0,35 a 0,55/100.000 habitantes. Em 1998, um levantamento realizado em São Paulo (Moraes *et al.*, 1998) relatou uma mortalidade de 0,2 a 0,32/100.000 habitantes.

5.4 Distribuição por gênero e faixas etárias mais acometidas

De forma geral, os homens são mais propensos a desenvolver a EAL esporádica do que as mulheres (Gestri *et al.*, 2000). Uma proporção de 1,5: 1 a 2:1 em favor dos homens é relatada (Anequini *et al.*, 2006) em todo o mundo, embora este valor diminua com o aumento da idade de apresentação, chegando a 1:1, após a idade de 70 anos (Gros-Louis *et al.*, 2006). Em se tratando da EAL-F, diferenças em relação ao gênero não são relatadas (Gamez *et al.*, 2006). No Brasil, a distribuição da EAL é semelhante à encontrada na Europa e América do Norte, com maior prevalência em homens (razão de sexo de 3:2) (Pozza *et al.*, 2006).

Em pacientes com a mutação no gene *SOD1*, a idade de início da EAL-F é um pouco mais precoce, em torno de 45 anos, comparada a dos não portadores da mutação, nos quais o aparecimento da doença ocorre por volta dos 50 anos (Hand e Rouleau, 2002). A caracterização de várias mutações no gene *SOD1* indicou que a gravidade e o tempo de aparecimento da doença são altamente dependentes da mutação específica e do nível expressão da enzima (Lukas *et al.*, 2006; Kobayashi et al 2011).

No Brasil, um estudo realizado em Fortaleza relata a idade de início da doença entre 40 e 70 anos (Castro-Costa *et al.*, 2000).

6. Aspectos clínicos relacionados à forma familiar da EAL

6.1 Sinais e sintomas

A progressão da EAL pode variar consideravelmente entre os pacientes (Anequini *et al.*, 2006). As manifestações clínicas não são uniformes e variam de acordo com a população estudada (Werneck *et al.*, 2007). Os pacientes com mutações no gene *SOD1* têm o início dos sinais e sintomas nos membros inferiores. O curso clínico não é uniforme entre as famílias, dependendo do tipo de mutação em diferentes regiões de um mesmo éxon (Kim *et al.*, 2003).

O quadro clínico da EAL é ditado pela presença de sinais e sintomas como desnervação dos músculos afetados, perda de reflexos e fasciculações, seguido de atrofia muscular, fraqueza progressiva associada com espasticidade e hiporreflexia, caracterizando comprometimento do NMS (Brown, 2001). Na degeneração do NMI, manifestações como hipotonia, arreflexia, atrofia muscular, fraqueza progressiva e fasciculações são observadas (Majoor-Krakauer *et al.*, 2003). Quando os neurônios motores bulbares estão envolvidos, têm-se alterações na fala, mastigação e deglutição (Brown, 2001). A insuficiência respiratória, em geral associada à disfagia e à broncoaspiração com ou sem pneumonia, é a principal causa de óbito (Tada *et al.*, 2011).

A fadiga, as câimbras ou a perda de resistência frente a exercícios são as queixas mais comuns entre os pacientes. Em pelo menos 70% dos casos, a fraqueza muscular se inicia nos membros superiores pela região dos dedos, mãos, antebraço e braço, respectivamente, progredindo, para a musculatura da garganta, tronco e membros inferiores, nos quais a EAL geralmente afeta os músculos dorsiflexores antes dos flexores plantares, resultando na queda progressiva do pé (Anequini *et al.*, 2006).

Os pacientes não apresentam comprometimento sensitivo ou visual, pois os músculos que controlam movimentos dos olhos e os esfíncteres urinários não são afetados (Pasinelli *et al.*, 2006). As funções corticais superiores, como inteligência e memória estão intactas, porém, os pacientes podem apresentar labilidade emocional e depressão (Zanoteli *et al.*, 2004).

6.2 Diagnóstico e Tratamento

Os critérios necessários para o diagnóstico da EAL requerem a presença de sinais clínicos tanto de NMS e NMI com a progressão da doença, na ausência de evidência de outra doença que possa explicar esses sinais (Wijesekera & Leigh 2009). Achados clínicos e neuropatológicos, exame neurológico, exames de sangue, estudo eletrofisiológico, tomografia computadorizada, ressonância magnética e exame genético utilizando DNA extraído de sangue periférico são utilizados para complementarem o diagnóstico (Arisato *et al.*, 2003).

Atualmente, não existe cura para a EAL e o único medicamento até agora indicado para fornecer algum efeito terapêutico para o tratamento dos pacientes é o Rilutek[®], riluzol, uma droga que atua principalmente promovendo o bloqueio da liberação do glutamato (Wuolikainen *et al.*, 2011. Estudos têm descrito uma melhora na sobrevida dos pacientes tratados (Paillisse *et al.*, 2005; Gros-Louis *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2009; Takazawa *et al.*, 2010).

Os níveis de glutamato, principal neurotransmissor excitatório do sistema do neurônio motor, estão aumentados no líquido cefalorraquidiano dos pacientes com EAL. Nesses pacientes, a recaptação do glutamato no cérebro e na medula espinhal encontra-se reduzida, contribuindo para o excesso de glutamato extracelular e a excitotoxicidade promovida por este neurotransmissor. Os neurônios motores são vulneráveis à excitotoxicidade mediada pelo receptor de glutamato do tipo ácido-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole propiônico (AMPA), contribuindo para a patogênese da EAL (Majoorkrakauer *et al.*, 2003).

O riluzol é um derivado do benzotiazol, que modula a atividade glutamatérgica, suprimindo, assim, a excitotoxicidade. Em 1994, foi feito o primeiro estudo clínico com o riluzol e os resultados confirmaram o aumento da sobrevida dos pacientes tratados (Oliveira *et al.*, 2009).

O tratamento fisioterapêutico é essencial para o portador de EAL, e a abordagem permeia toda a evolução da doença. A conduta é baseada na prevenção e no quadro clínico apresentado pelo paciente. Apesar do tratamento ser específico e individualizado, é possível estabelecer diretrizes gerais para a reabilitação. São propostas duas a três sessões semanais com duração aproximada de 45 minutos, em conjunto com um programa de exercícios diários realizados pelos cuidadores. São indicados exercícios de moderada a baixa resistência, onde a prescrição é feita de acordo com o quadro apresentado pelo paciente, determinando intensidade, duração e repetições apropriadas para cada situação e buscando evitar quadros de fadiga e dor (Duran, 2006).

A fisioterapia oferece assistência para os pacientes durante todo o desenvolvimento da EAL e tentativas são feitas para alterar o comportamento em cada fase da doença, retardar a evolução dos sintomas e oferecer a máxima mobilidade funcional com melhorias na qualidade de vida (Pozza *et al.*, 2006).

O fisioterapeuta busca avaliar e prescrever exercícios para a manutenção da amplitude de movimento e tônus, para otimizar a função muscular ainda existente, prevenindo as complicações decorrentes do desuso e da lesão (Duran 2006). Exercícios para a prevenção de contratura muscular e orientação sobre o posicionamento, quando deitado, são eficazes. A dependência funcional exige exercícios de alongamento e terapia manual para reduzir a dor articular e muscular, espasticidade e fasciculação muscular. Estimulação elétrica e hidroterapia são usados para manter força muscular e mobilidade. Pacientes com alterações no sistema cardiorrespiratório necessitam de fisioterapia especializada, sendo de grande importância para minimizar as sequelas causadas pela EAL (Pozza *et al.*, 2006).

Devido ao quadro de rápida evolução e conseqüente perda de funcionalidade, o fisioterapeuta tem que dispor de recursos auxiliares para a reabilitação e melhora das atividades de vida diárias. A prescrição de órteses e equipamentos como: tornozeleira antiequino, talas, andadores, bengalas e muletas podem ser indicadas como estratégias para aperfeiçoar a deambulação. É indicado colar cervical macio para a fase inicial de fraqueza muscular do pescoço. Talas são indicadas para prevenção de possíveis retrações ou deformidades em membros superiores ou inferiores, assim como colchões e almofadas adequadas para prevenção de úlceras (Duran, 2006).

Monitorar as habilidades funcionais dos pacientes, determinar modos eficientes e efetivos para realizar suas atividades de vida diárias, explicar a mecânica corporal com o intuito de facilitar as trocas posturais, ensinar as técnicas de transferências para o paciente e cuidadores, avaliar o domicílio e solicitar mudanças no ambiente são tarefas do fisioterapeuta, com o intuito de proporcionar ao paciente maior liberdade de movimentos seguros (Duran, 2006).

Para o tratamento paliativo da insuficiência respiratória, utiliza-se um respirador artificial através de ventilação nasal intermitente de pressão positiva (VNI), fornecendo melhoria da hipoventilação e dessaturação e um tubo de alimentação é utilizado para prolongar vida do paciente (Arisato *et al.*, 2003).

7. Aspectos genéticos e bioquímicos relacionados à forma familiar da EAL

7.1 SOD1

Dois estudos foram fundamentais para a constatação da ligação entre o gene *SOD1* e a EAL-F. O primeiro deles (Siddique *et al.*, 1991) analisou 23 famílias com EAL-F e utilizou marcadores de DNA para regiões cromossômicas específicas, definindo uma região no braço longo do cromossomo 21 como potencialmente associada à história familiar da EAL-F. Um estudo posterior, utilizando sequenciamento de DNA, identificou 11 diferentes mutações *missense* no gene *SOD1*, localizado no cromossomo 21q22.1 (Figura 2), em indivíduos com EAL-F (Rosen *et al.*, 1993).

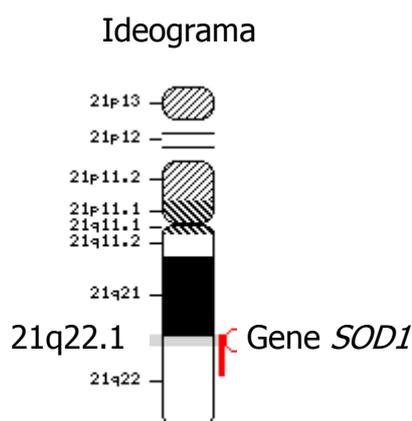


Figura 2 - Localização cromossômica do gene *SOD1*. Fonte: modificada a partir de Pubmed, 2010.

O gene *SOD1* compreende cinco éxons e codifica uma proteína com 153 aminoácidos (Pasinelli *et al.*, 2006). Mais de 155 diferentes mutações no gene *SOD1* já foram identificadas em todos os cinco éxons (ALS ONLINE GENETICS

DATABASE, 2011). Embora as mutações em todos os éxons do gene estejam associadas à EAL-F, os éxons quatro e cinco são considerados "pontos quentes" para as mutações (Nogales-Gadea *et al.*, 2004).

Os sistemas enzimáticos e não-enzimáticos de defesa celular contra o estresse oxidativo envolvem vários compostos, entre eles as enzimas superóxido dismutase (SOD1), a catalase e o sistema glutathiona S-transferase (Corrêa-Giannella *et al.*, 2008). Três superóxidos dismutases diferentes são codificadas pelo genoma humano: a Cobre-Zinco-SOD (SOD1), no espaço intracelular, a Manganês-SOD (SOD2), na mitocôndria, e a SOD extracelular (SOD3) (Hand e Rouleau, 2002).

Durante o metabolismo normal, o oxigênio é reduzido à água e, neste processo, os produtos intermediários são o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}), que conjuntamente são denominados de "espécies reativas de oxigênio" (Corrêa-Giannella *et al.*, 2008). Os radicais superóxidos são moléculas altamente reativas e instáveis, que reagem com constituintes celulares produzindo oxidação e substâncias tóxicas, alterando o funcionamento das membranas de lipídios, proteínas, DNA e a atividade celular, principalmente dos neurônios motores. A detoxificação desses radicais livres é uma função vital para todas as células, evitando os danos oxidativos e as alterações em suas funções (Hand e Rouleau, 2002).

A superóxido dismutase (SOD1) é uma enzima essencial para proteger as células dos produtos tóxicos originados do metabolismo e tem ação antioxidante eliminando os radicais livres. A SOD1 representa 0,1 a 0,2% das proteínas celulares no SNC (Cardoso *et al.*, 2002). Cada subunidade de SOD1 se liga ao zinco e a um átomo de cobre (Figura 3). A enzima SOD1 catalisa a conversão do radical livre superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2) (Pasinelli *et al.*, 2006). Ao remover esse superóxido, a SOD1 age como um regulador de equilíbrio dos radicais livres, impedindo danos às células do sistema nervoso (Cardoso *et al.*, 2002).

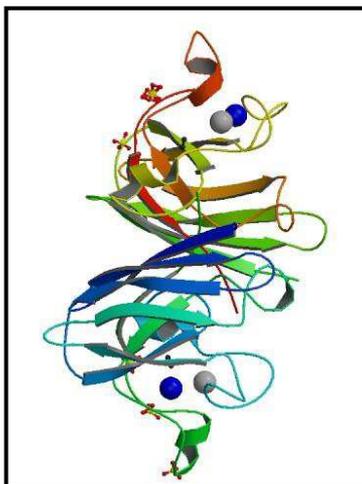


Figura 3- Estrutura da proteína SOD1. Fonte: (ALS ONLINE GENETICS DATABASE, 2011).

Acredita-se que a diminuição da atividade da SOD1 leve ao acúmulo do íon superóxido, que se liga então ao óxido nítrico (NO) para formar os radicais livres peroxidonitrila (ONOO^-) e hidroxila ($\text{OH}\cdot$), como mostra a reação química na Figura 4 (Zanoteli *et al.*, 2004). Quando a SOD1 não atua de forma adequada, os radicais livres produzem estresse oxidativo, altamente lesivo para a célula, provocando a morte do neurônio motor (Taylor *et al.*, 2007), tanto por perda da função normal da enzima SOD1, como por ganho tóxico de sua função, representando uma característica histopatológica marcante da EAL-F (Silva, 2006).

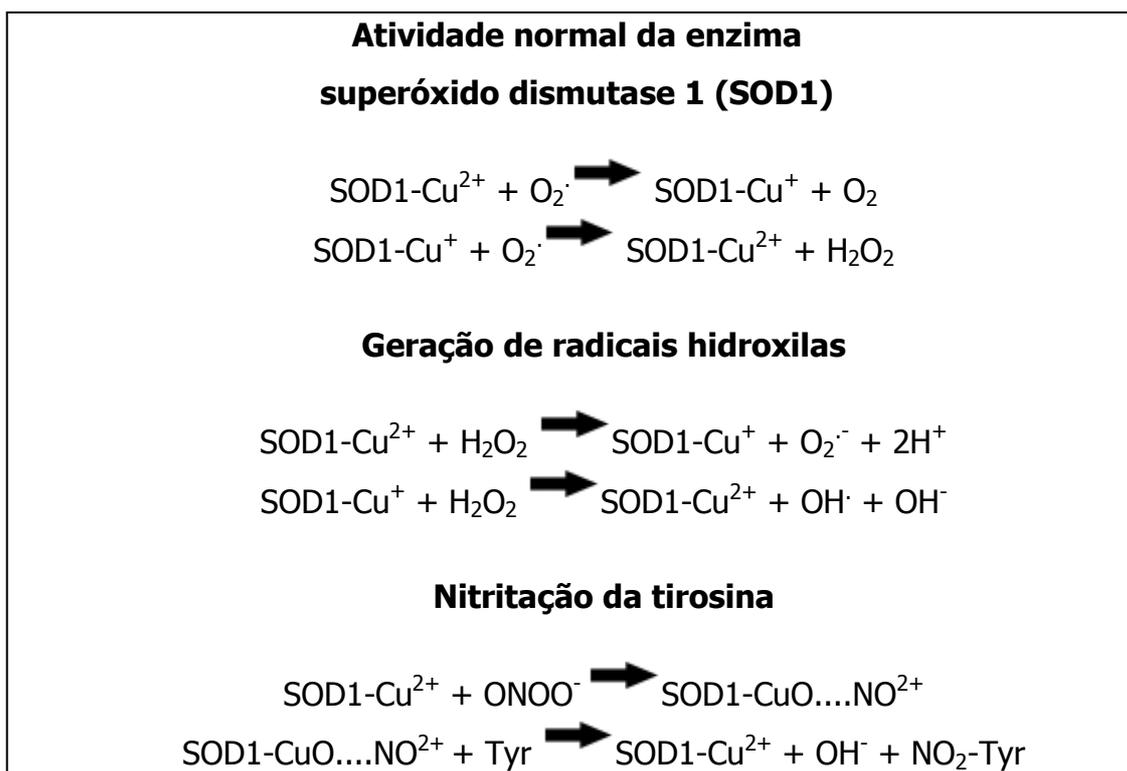


Figura 4 - Reações mediadas pelo cobre catalisadas pela enzima SOD1. SOD1 normalmente catalisa a conversão dos ânions superóxidos tóxicos ($\text{O}_2^{\cdot-}$) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Mutações no gene da *SOD1* podem reverter este processo levando a produção de radicais tóxicos hidroxilas (OH^{\cdot}), ou promover o uso de outros substratos anormais tais como o peroxidonitrito (ONOO^-), levando a uma nitritação aberrante dos resíduos de tirosina (Tyr) em proteínas celulares. Fonte: Modificado a partir de Zanoteli *et al.*, 2004.

8. Padrões de herança e penetrância relacionadas à forma familiar da EAL

As mutações do gene *SOD1* estão associadas a uma distribuição heterogênea de anormalidades genéticas em pacientes com EAL-F, em diferentes grupos étnicos. A herança é autossômica dominante com penetrância dependente da idade (Gestri *et al.*, 2000). O fenótipo clínico pode ser modificado por fatores genéticos e /ou fatores ambientais (Gors-Louis *et al.*, 2006).

A penetrância é definida como a porcentagem de indivíduos de uma população com um determinado genótipo que exibem o fenótipo associado a esse genótipo (Braunwald *et al.*, 2002).

Na penetrância completa, o gene produz o fenótipo correspondente sempre que estiver presente em condições de se expressar, onde, todos os indivíduos que herdaram o gene mutante têm a apresentação clínica. Na penetrância incompleta ou reduzida, apenas uma parcela dos indivíduos com o mesmo genótipo expressa o fenótipo correspondente. Assim, alguns portadores do gene mutante não o expressam, mas, a hereditariedade não muda, pois esses portadores podem transmitir o gene mutante da doença para a próxima geração (Braunwald *et al.*, 2002).

As mutações no gene *SOD1* relatadas até agora na EAL-F são predominantemente associadas a uma alta penetrância, embora elas também possam ser encontradas em casos aparentemente esporádicos ou recessivos (Nogales-Gadea *et al.*, 2004).

Diferentes mutações no gene *SOD1* causam fenótipos distintos em relação à penetrância, idade de início, à progressão da doença, sobrevivência e manifestações clínicas (Gros-Louis *et al.*, 2006). Em alguns casos, existe uma forte correlação entre o tipo de mutação e o fenótipo resultante. Algumas mutações estão associadas com progressão lenta, enquanto outras estão ligadas à baixa penetrância (Nogales-Gadea *et al.*, 2004).

A penetrância é uma importante característica genética em formas dominantes de EAL-F e parece estar relacionada à idade e ao tipo de mutação envolvida (Nogales-Gadea *et al.*, 2004; Kobayashi *et al.* 2011).

A penetrância reduzida em algumas famílias está ligada à idade mais avançada de início, o que significa que alguns membros morrem antes de desenvolver os sintomas, ou a doença pode não se manifestar por várias gerações, tornando difícil a sua identificação (Nogales-Gadea *et al.*, 2004).

Em famílias dos Estados Unidos e Europa, a penetrância estimada para a mutação A4V é de 91% aos 70 anos, enquanto a penetrância de L38V foi estimada em 100% (Cudkowicz *et al.*, 1997). Na Escandinávia, uma penetrância

de 94% em indivíduos com 70 anos de idade foi detectada em pacientes homocigotos com a mutação D90A (Andersen *et al.*, 1997).

A mesma mutação pode ter diferentes níveis de penetrância em relação a idade. Em seu estudo, Cudkowicz mostrou que para a mutação I113T, a penetrância era de 100% aos 60 anos (Cudkowicz *et al.*, 1997), enquanto que na família relatada por Suthers com a mesma mutação, a penetrância foi de 50% aos 60 anos (Suthers *et al.*, 1994). Outras mutações, como S105L e G37R foram observadas em uma família com alta penetrância, porém, as mutações I112M e N139H foram descritas com baixa penetrância (Hand e Rouleau, 2002; Gamez *et al.*, 2006).

9. Principais estudos mutacionais de SOD1 relacionados à forma familiar da EAL

O percentual médio de mutação de SOD1 ligado a EAL-F é de 16,6%, sendo tais resultados comparáveis aos relatados pela maioria dos estudos de populações na Europa e América do Norte. No entanto, maiores porcentagens de mutações de SOD1 são encontradas em famílias japonesas, belgas e escocesas (Gamez *et al.*, 2006). Na Alemanha, as mutações de SOD1 são responsáveis por pelo menos 12% dos casos de EAL-F (Niemann *et al.*, 2004). Na Itália, o percentual é de 14,7% (Gellera *et al.*, 2001). Nos Estados Unidos mutações de SOD1 foram identificadas em 24,3% dos indivíduos estudados com EAL-F (Cudkowicz *et al.*, 1997). Andersen *et al.* (1997) verificaram que a frequência de mutações de SOD1 na população escandinava foi de 23,5% e uma frequência semelhante foi observada em dois estudos realizados no Reino Unido, sendo 21% na série de Shaw *et al.* (1998) e 20% na série de Orrell *et al.* (1999). Frequências excepcionalmente elevadas em pacientes com mutações de SOD1 foram encontradas na Escócia (50%) e na Bélgica (64%) (Gamez *et al.*, 2006).

Todas as mutações de SOD1 são dominantes, exceto para a substituição de alanina por aspartato na posição 90 (D90A) que pode causar traços dominantes ou recessivos (Gros-Louis *et al.*, 2006). A herança recessiva da

mutação D90A tem sido relatada principalmente em famílias da Escandinávia. Em outras partes do mundo, a mutação D90A é uma causa rara de EAL-F recessiva e geralmente dá origem a EAL no estado heterozigoto. Na população do norte da Suécia e da Finlândia, este tipo mutação é responsável por 9,6% dos casos de EAL-F (Majoor-Krakauer *et al.*, 2003).

10. Resultados

Após uma pesquisa bibliográfica sobre mutações no gene *SOD1* em pacientes com a forma familiar de EAL, 71 artigos foram selecionados. Os dados foram coletados e inseridos em quatro tabelas montadas de acordo com os estudos em cada continente (América, Europa, Ásia). As Tabelas 3, 4A, 4B e 5 contemplam as mutações descritas, a localização da mutação (éxon), o país de origem dos pacientes e referência bibliográfica correspondente.

Tabela 3 – Mutações no gene *SOD1* descritas em pacientes com EAL-F no continente Asiático.

Mutação	Éxon	País	Referência
I104F	4	Japão	Ikeda <i>et al.</i> , 1995
H46R	2	Japão	Abe <i>et al.</i> , 1996
L84V	4	Japão	Abe <i>et al.</i> , 1996
I104F	4	Japão	Abe <i>et al.</i> , 1996
V148I	5	Japão	Abe <i>et al.</i> , 1996
L84V	4	Japão	Ohnishi <i>et al.</i> , 1996
C6F	1	Japão	Morita <i>et al.</i> , 1996
N86S	4	Japão	Maeda <i>et al.</i> ; 1997
S134N	4	Japão	Watanabe <i>et al.</i> , 1997
G93S	4	Japão	Kawata <i>et al.</i> , 1997
I113T	4	Japão	Kikugawa <i>et al.</i> , 1997
D90A	4	Japão	Morita <i>et al.</i> , 1998
C6G	1	Japão	Kohno <i>et al.</i> , 1999
L126S	5	Japão	Murakami <i>et al.</i> , 2001
A140G	5	Japão	Naini <i>et al.</i> , 2002
L126S	5	Japão	Takehisa <i>et al.</i> , 2001
H46R	2	Japão	Arisato <i>et al.</i> , 2003
G10V	1	Coréia	Kim <i>et al.</i> , 2003
D101H	4	Japão	Sato <i>et al.</i> , 2004
G141E	5	Japão	Sato <i>et al.</i> , 2004
D101Y	4	Japão	Tan <i>et al.</i> , 2004
H46R	2	Japão	Ohi <i>et al.</i> , 2004
L84V	4	Japão	Aoki <i>et al.</i> , 2005
I149T	5	China	Fong <i>et al.</i> , 2006
F20C	1	Coréia	Kim <i>et al.</i> , 2007
A4T	1	Japão	Tan <i>et al.</i> , 2007
D101Y	4	Japão	Tan <i>et al.</i> , 2007
G10V	1	Coréia	Kim <i>et al.</i> , 2007
L144F	5	Japão	Kawamata <i>et al.</i> , 2007
Q22R	1	Bangladeche	Corti <i>et al.</i> , 2009
G85S	4	Japão	Takazawa <i>et al.</i> , 2010
G72S	3	Japão	Kobayashi <i>et al.</i> , 2011
A4F	1	Coréia	Baek <i>et al.</i> , 2011
T137R	5	Coréia	Baek <i>et al.</i> , 2011
G138E	5	Coréia	Baek <i>et al.</i> , 2011
G85R	4	China	Tsai <i>et al.</i> , 2011

Tabela 4A - Mutações no gene *SOD1* descritas em pacientes com EAL-F no continente Europeu.

Mutação	Éxon	País	Referência
G41S	2	Itália	Rainero <i>et al.</i> , 1994
L38V	2	Bélgica	Robberecht, <i>et al.</i> , 1994
L144S	5	Espanha	Sapp <i>et al.</i> , 1995
A145T	5	Espanha	Sapp <i>et al.</i> , 1995
G93R	4	Escócia	Jones <i>et al.</i> , 1995
E100G	4	Escócia	Jones <i>et al.</i> , 1995
I113T	4	Escócia	Jones <i>et al.</i> , 1995
* Q8L	1	Áustria	Bereznai <i>et al.</i> , 1997
A4V	1	Suécia	Andersen <i>et al.</i> , 1997
V14G	1	Suécia	Andersen <i>et al.</i> , 1997
D76Y	3	Dinamarca	Andersen <i>et al.</i> , 1997
D90A	4	Finlândia/Suécia	Andersen <i>et al.</i> , 1997
G127T	5	Dinamarca	Andersen <i>et al.</i> , 1997
G72S	3	Escócia	Orrell <i>et al.</i> , 1997 ^a
H48Q	2	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
G93R	4	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
G93V	4	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
D101G	4	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
D101N	4	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
G108V	4	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
I113T	4	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
D125H	5	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
I149T	5	Reino Unido	Orrell <i>et al.</i> , 1997b
L126Z	5	Holanda	Zu <i>et al.</i> , 1997
L84F	4	Reino Unido	Shaw <i>et al.</i> , 1998
L38V	2	Bélgica	Aguirre <i>et al.</i> , 1999
D90A	4	Bélgica	Aguirre <i>et al.</i> , 1999
G93C	4	Bélgica	Aguirre <i>et al.</i> , 1999
A95V	4	Irlanda	Alexander <i>et al.</i> , 2000
D90A	4	Alemanha	Winter <i>et al.</i> , 2000
D101N	4	Bielorrússia	Cervenakova, <i>et al.</i> , 2000
A4V	1	Itália	Gellera <i>et al.</i> , 2001
G12R	1	Itália	Gellera <i>et al.</i> , 2001
F45C	2	Itália	Gellera <i>et al.</i> , 2001
L84F	4	Itália	Gellera <i>et al.</i> , 2001
L144F	5	Romênia	Mase <i>et al.</i> , 2001
D76V	3	Espanha	Segovia-Silvestre <i>et al.</i> , 2002
G37R	2	Espanha	García-Redondo <i>et al.</i> , 2002
N65S	2	Espanha	García-Redondo <i>et al.</i> , 2002
I112M	4	Espanha	García-Redondo <i>et al.</i> , 2002
R115G	4	Alemanha	Niemann <i>et al.</i> , 2004
H46R	2	Áustria	Niemann <i>et al.</i> , 2004
L144F	5	Suíça	Niemann <i>et al.</i> , 2004
E100K	4	Suíça	Niemann <i>et al.</i> , 2004
N139H	5	Espanha	Nogales-Gadea <i>et al.</i> , 2004

*Deleção

Tabela 4B - Mutações no gene *SOD1* descritas em pacientes com EAL-F no continente Europeu.

Mutação	Éxon	País	Referência
G37R	2	Espanha	Gamez <i>et al.</i> , 2006
D76V	3	Espanha	Gamez <i>et al.</i> , 2006
S105L	4	Espanha	Gamez <i>et al.</i> , 2006
I112M	4	Espanha	Gamez <i>et al.</i> , 2006
N139H	5	Espanha	Gamez <i>et al.</i> , 2006
S134N	4	Itália	Marucci <i>et al.</i> , 2007
G93D	4	Itália	Luigette <i>et al.</i> , 2009
E21G	1	Espanha	Syriani <i>et al.</i> , 2009
G41S	2	Itália	Battistini <i>et al.</i> , 2010 ^a
G10R	1	Itália	Ricci <i>et al.</i> , 2010
Q22L	1	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
L38V	2	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
H46R	2	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
H48R	2	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
L84F	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
N86D	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
D90A	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
G93A	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
E100K	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
I104F	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
I113T	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
R115G	4	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
L144F	5	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
V148G	5	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
I149T	5	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
I151T	5	Alemanha	Rabe <i>et al.</i> , 2010
G85R	4	Alemanha	Münch; Bertolotti, 2010
G93A	4	Alemanha	Münch; Bertolotti, 2010
D125H	5	Alemanha	Münch; Bertolotti, 2010
C146R	5	Alemanha	Münch; Bertolotti, 2010
D11Y	3	Itália	Georgouloupoulou <i>et al.</i> , 2010
L106V	5	Itália	Battistini <i>et al.</i> , 2010b
L67P	3	Itália	Del Grande <i>et al.</i> , 2011
T137A	5	Itália	Visani <i>et al.</i> , 2011
I113F	4	Espanha	Hermann <i>et al.</i> , 2011
D101G	4	Itália	Zetterstrom <i>et al.</i> , 2011
D109Y	4	Itália	Zetterstrom <i>et al.</i> , 2011
I113F	4	Itália	Zetterstrom <i>et al.</i> , 2011
I112M	4	Itália/Espanha	Gamez <i>et al.</i> , 2011
G93D	4	Itália	Penco <i>et al.</i> , 2011

Tabela 5 - Mutações no gene *SOD1* descritas em pacientes com EAL-F no continente Americano.

Mutação	Éxon	País	Referência
A4V	1	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
G37R	2	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
L38V	2	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
G93A	4	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
G93C	4	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
E100G	4	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
L106V	4	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
I113T	4	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
N139K	5	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
L144F	5	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
I149T	5	Canadá	Pramatarova <i>et al.</i> , 1995
G93V	4	EUA	Hosler BA <i>et al.</i> , 1996
N124V	5	EUA	Hosler BA <i>et al.</i> , 1996
A4V	1	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
G37R	2	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
L38V	2	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
G41D	2	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
G41S	2	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
H43R	2	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
G93C	4	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
G93D	4	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
E100G	4	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
G106V	5	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
I112T	4	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
I113T	4	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
E133I	4	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
L144S	5	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
A145T	5	EUA	Cudkowicz <i>et al.</i> , 1997
E21G	1	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
L38R	2	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
E49K	2	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
L67R	3	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
L84F	4	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
D90A	4	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
I113T	4	Canadá	Boukaftane <i>et al.</i> , 1998
A4V	1	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
L8V	1	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
Q22L	1	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
F20C	1	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
H48R	2	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
S59I	3	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
T54R	2	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
V87A	4	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
T88A	4	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
A89T	4	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
V97M	4	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
S105L	4	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
V118L	4	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
D124G	5	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
G141X	5	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
G147R	5	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003
I151S	5	EUA	Andersen <i>et al.</i> , 2003

Em nosso estudo, artigos de 23 países foram selecionados, sendo que o Japão apresentou o maior número de estudos (23 estudos), seguido por Itália (12 estudos) e Espanha (seis estudos) (Figura 5). Em 1997, observou-se o maior número de publicações, dez no total, porém, em 2011, nove publicações foram revisadas (Figura 6). Quanto ao tipo de mutação estudada, foram encontradas 103 diferentes mutações, sendo que as mais citadas incluem A4V, I113T, I144F, D90A, L38V (Figura 7). O tipo de mutação mais encontrado foi a substituição de bases e somente uma deleção foi citada nos estudos revisados. O éxon quatro foi o que teve a maior quantidade de mutações descritas (44

mutações), seguido pelo éxon cinco (29 mutações) e o éxon três foi o que apresentou o menor número de mutações (somente sete mutações) (Figura 8).

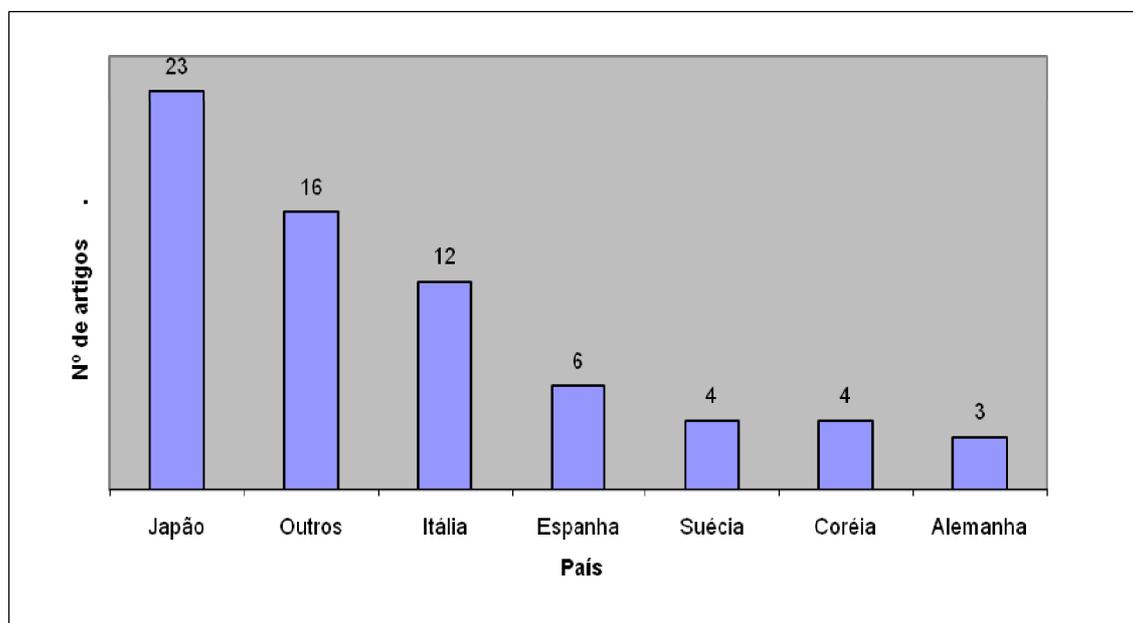


Figura 5 - Países com o maior número de estudos sobre mutações no gene *SOD1* relacionados à EAL-F.

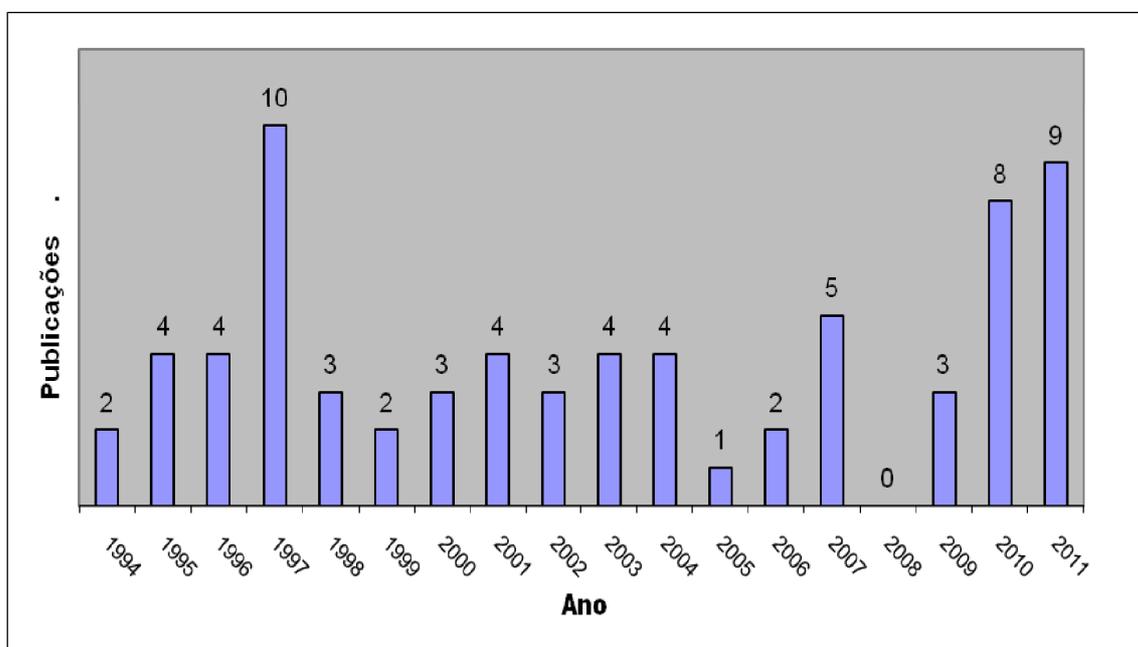


Figura 6 - Número de publicações sobre mutações no gene *SOD1* relacionadas a EAL-F, no período de 1994 a 2011 .

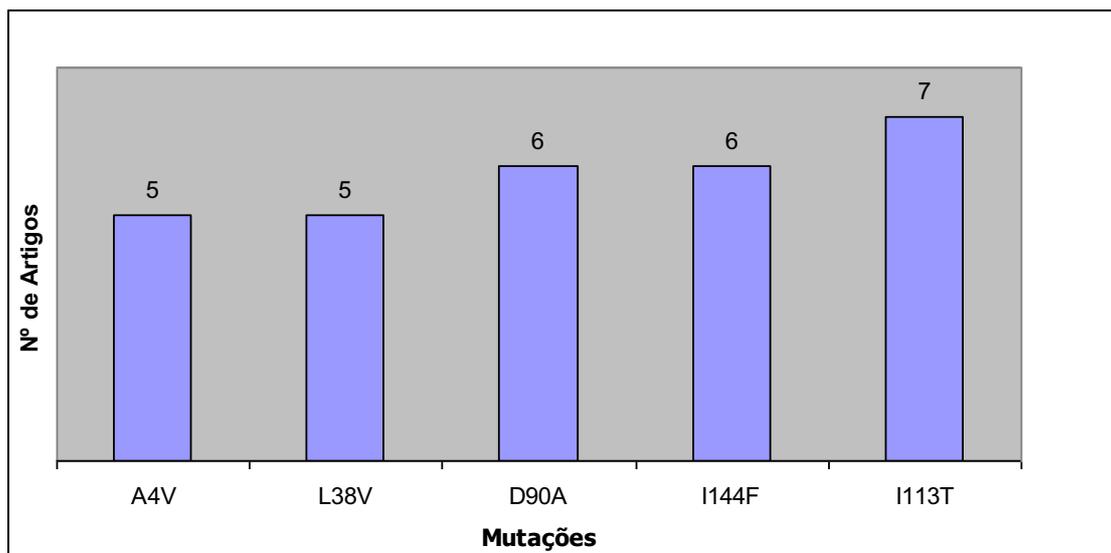


Figura 7 - Mutações no gene *SOD1* mais comumente descritas em pacientes com EAL-F.

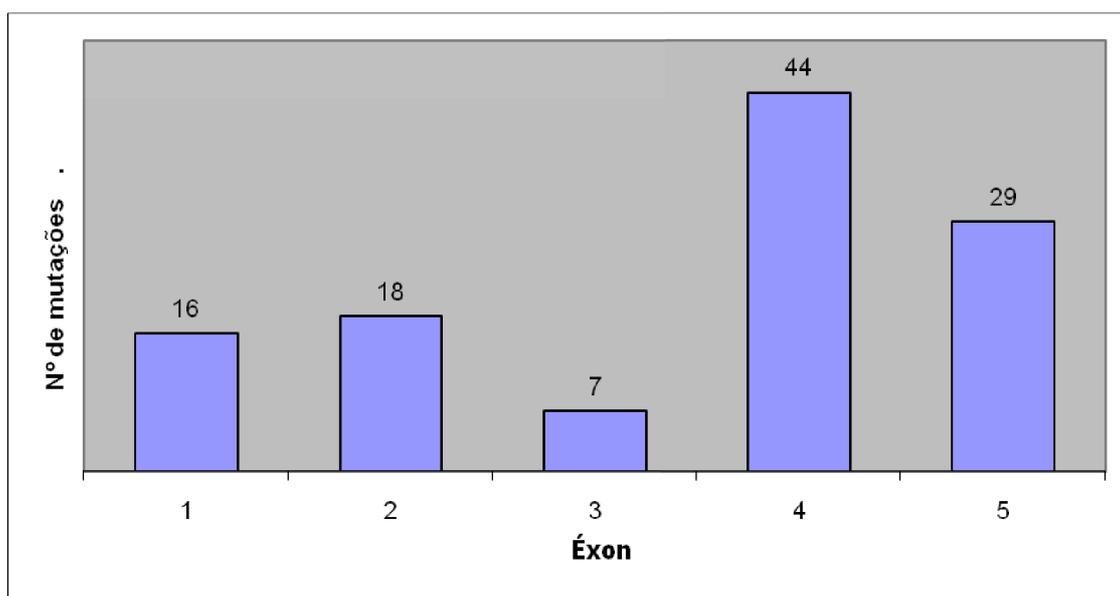


Figura 8 - Éxons do gene *SOD1* mais comumente mutados em pacientes com EAL-F

11. Discussão

Os estudos relatam que 5 a 10% dos pacientes com EAL têm história familiar, e desses, 12 a 23% apresentam alterações genéticas ligadas ao cromossomo 21q22.1, com mutação no gene *Cu/Zn superóxido dismutase* (Wuolikainen *et al.*, 2011). Esta revisão bibliográfica mostrou regiões geográficas com percentual baixo de pacientes com mutações no gene *SOD1* ligada a EAL-F, como na Alemanha, onde as mutações são responsáveis por pelo menos 12% dos casos de EAL-F (Niemann *et al.*, 2004). Na Itália, o percentual é de 14,7% (Gellera *et al.*, 2001). Em contraposição, as maiores porcentagens de mutações no gene *SOD1* foram encontradas em famílias belgas (64%), escocesas (50%) e japonesas (40%). Razões para as diferenças geográficas na frequência de mutações no gene *SOD1* em todo o mundo não são totalmente conhecidas. É provável que tais diferenças estejam relacionadas à predisposição genética e ao tamanho da amostra analisada, além de outros fatores ambientais ainda não descritos (Gamez *et al.*, 2006).

Uma grande parte dos estudos são unânimes ao relatarem que a maioria dos casos de EAL são esporádicos, exceto na Bacia de Miyakonojo no Japão, onde, os pacientes com EAL-F são predominantes em relação aos casos com EAL esporádico (Hand e Rouleau, 2002 ; Arisato *et al.*, 2003 ; Gros-Louis *et al.*, 2006).

O site *ALS ONLINE GENETICS DATABASE (2011)* é a referência mais atualizada em relação ao número de mutações no gene *SOD1* descritas na EAL-F, com 156 mutações catalogadas em todos os cinco éxons, entretanto, em nosso estudo foram encontradas 103 mutações.

Para alguns autores, a maioria das mutações de *SOD1* mantém a atividade enzimática, indicando que a EAL é causada pelo ganho da função tóxica da enzima mutante (Hand e Rouleau, 2002; Sato *et al.*, 2004; Lukas *et al.*, 2006; Broom *et al.*, 2009; Zinman *et al.*, 2009; Zetterström *et al.*, 2011). Discordando em parte dessa hipótese, outros estudos relatam que há perda da função normal da enzima *SOD1*, mas que também existe ganho tóxico de função (Zanoteli *et al.*, 2004; Pasinelli *et al.*, 2006; Silva, 2006; Taylor *et al.*, 2007). As

divergências entre os autores criaram controvérsia quanto à perda ou não da atividade enzimática da SOD1, porém, existe concordância em relação ao ganho de toxicidade da proteína SOD1.

A incidência mundial da EAL tem uma variação de 0,3 a 3,9 casos por 100.000 indivíduos (Werneck *et al.*, 2007). A alta incidência é observada na faixa etária de 55 a 75 anos (Anequini *et al.*, 2006). A China apresenta uma menor incidência, com 0,3 casos por 100.000 habitantes, já a ilha de Guam, na Nova Guiné Ocidental, e na península de Kii no Japão, existe uma incidência registrada de 3,9 casos por 100.000 habitantes (Pereira, 2006). A maior prevalência foi encontrada na Bacia de Miyakonojo no Japão com 11,4 casos por 100.000 indivíduos, bem acima da média do país, que é de 3,8 casos para 1000.000 habitantes (Hand e Rouleau, 2002).

A idade de manifestação da doença é altamente dependente da mutação específica e do nível de expressão da enzima (Lukas *et al.*, 2006; Kobayashi *et al.* 2011). Em pacientes com a mutação L106V, a doença se inicia por volta dos 35 anos, enquanto nos pacientes com a mutação I113T, a idade início é de 59 anos. As mutações G37R e L38V prevêem um início mais precoce da doença, antes dos 35 anos (Hand e Rouleau, 2002).

Os dados apresentados neste estudo mostraram que 80% dos pacientes com EAL morrem dentro de 3 a 5 anos após aparecimento dos sintomas (Anequini *et al.*, 2006). Em seu estudo, Tada *et al.* (2011) relatam que 50% morrem dentro de 3 anos, porém, a duração da doença parece ser característica de cada mutação.

Pacientes acometidos com a mutação A4V tem uma sobrevida curta de apenas 1,5 anos (Hand e Rouleau, 2002), enquanto que em indivíduos com a mutação L84V, a esperança de vida é inferior a 1,5 anos; já a mutação H46R tem uma expectativa média de vida de 18 anos após o início da doença (Aoki *et al.*, 2005).

Apesar do tipo da mutação ser considerada um importante fator prognóstico para pacientes com EAL-F, resultados conflitantes são descritos na literatura (Belleruche *et al.* 1995; Cudkowicz *et al.*, 1997). Um estudo familiar descreveu a mutação I113T em dois pacientes com EAL-F, porém com diferente

tempo na morbidade, vez que um membro afetado da família morreu depois de uma progressão curta, enquanto o outro membro sobreviveu por mais de 20 anos (Belleruche *et al.*, 1995). Cudkowicz *et al.* (1997) investigaram mutações de SOD1 em 290 famílias com EAL-F, verificando mutações em 68 delas. A mutação mais comum em SOD1, A4V, esteve presente em 50% das famílias, em que os pacientes apresentaram menor sobrevida, enquanto as mutações G37R, G41D e G93C determinaram maior sobrevida. Regal *et al.* (2006) relataram as características clínicas de 20 pacientes com EAL-F pertencentes a quatro famílias com a mutação G93C e os pacientes analisados tiveram sobrevida significativamente maior que aqueles que apresentaram outras mutações.

Em relação à penetrância relacionada ao sexo, há uma divergência entre autores, pois, em algumas famílias com EAL-F estudadas, as mulheres apresentam baixa penetrância (Orrell, 1999; Nogales-Gadea *et al.*, 2004). Em oposição, estudos descrevem que nos pacientes com EAL-F não existe diferença na forma de penetrância em relação ao sexo (Hand e Rouleau, 2002; Pasinelli *et al.*, 2006; Gros-Louis *et al.*, 2006; Gamez *et al.*, 2006).

Um estudo relata que a baixa penetrância em algumas famílias está ligada a uma idade mais avançada de início da doença, o que significa que alguns membros morrem antes de desenvolver os sintomas, ou a doença pode não se manifestar por várias gerações (Nogales-Gadea *et al.*, 2004).

A mesma mutação pode ter diferentes níveis de penetrância em relação à idade. Em seu estudo, Cudkowicz mostrou que para a mutação I113T, a penetrância era de 100% aos 60 anos (Cudkowicz *et al.*, 1997), enquanto que na família relatada por Suthers com a mesma mutação, a penetrância foi de 50% aos 60 anos (Suthers *et al.*, 1994). Porém, dois estudos mostraram que a alta ou baixa penetrância depende do tipo de mutação, assim mutações como S105L e G37R tem alta penetrância e mutações I112M e N139H apresentam baixa penetrância (Hand *et al.*, 2002; Gamez *et al.*, 2006).

Ficou claro em nossa pesquisa que as mutações do gene *SOD1* têm mostrado uma distribuição heterogênea em diferentes grupos étnicos. A mutação H46R é a mais encontrada na Bacia de Miyakonojo no Japão, com

aproximadamente 40% dos pacientes afetados pela EAL-F (Arisato *et al.*, 2003). Algumas mutações estão presentes em alta frequência em algumas populações, mas não ocorrem em outras. A mais comum das mutações EAL-F é a A4V, correspondendo a 50% de todas as mutações na América do Norte. Entretanto tal mutação nunca foi relatada em pacientes de países europeus, com exceção de uma família sueca (Gellera *et al.*, 2001). Em um estudo recente na Alemanha, foi verificado que a mutação R115G é a mais frequente e exibe um fenótipo específico agressivo (Rabe *et al.*, 2010), mas não tem sido relatada em outras populações (Niemann *et al.*, 2004). A mutação L84F é rara, sendo relatada apenas em uma família de Reino Unido e em uma família canadense (Gallera *et al.*, 2001).

Até o momento, não encontramos no Brasil nenhum estudo sobre mutações da SOD1 relacionadas a EAL-F. Durante nossa pesquisa, o site *ALS ONLINE GENETICS DATABASE* apresentou os dados mais importantes como genes responsáveis pela EAL-F, mutações da SOD1, populações estudadas, tipo de mutação e localização das mutações. Em uma comparação com nosso estudo, houve total concordância em relação ao país com maior número de estudos, sendo o Japão o mais estudado, o éxon quatro e cinco como os mais afetados, e a substituição de nucleotídeos como o tipo de mutação mais prevalente.

12. Conclusões

1) Com base na revisão bibliográfica realizada, concluímos que a etiopatogenia da EAL não é clara, sendo esta considerada uma doença multifatorial. A esclerose amiotrófica lateral ligada à forma familiar é causada pela mutação no gene *SOD1* em 12 a 23% dos pacientes, porém, o mecanismo pelo qual essa mutação provoca a degeneração dos neurônios motores permanece incerto.

2) Segundo o site *ALS ONLINE GENETICS DATABASE* foram catalogadas 259 mutações em diferentes genes descritos em associação com a EAL-F, sendo 156 mutações descritas no gene SOD1. Em nosso estudo, somente 103

diferentes mutações ligadas a EAL-F foram identificadas nos artigos publicados e grande parte dos genes causadores da EAL continuam desconhecidos.

3) A mutação I113T foi a mais encontrada nos artigos pesquisados. Das alterações no gene *SOD1* até agora identificadas, a maioria é representada por substituições de base. Em nossa pesquisa, somente uma deleção foi encontrada.

4) Dentre as regiões geográficas estudadas, a maior parte dos estudos foi realizada em populações japonesas. Dos 71 artigos pesquisados sobre mutações no gene *SOD1* em pacientes com a forma familiar de EAL, 23 relatam mutações de *SOD1* em famílias japonesas.

5) Após a análise de vários artigos, é importante ressaltar que tanto a idade de início, quanto as características clínicas e a expectativa de vida dos pacientes acometidos por EAL-F ligados à mutação no gene *SOD1*, dependem da mutação específica e do nível de expressão da enzima. Os pacientes não apresentam comprometimento sensitivo, visual ou cognitivo, mas muitos podem apresentar labilidade emocional e depressão.

6) As análises de *SOD1* na EAL-F são difíceis de serem conduzidas porque as mutações estão distribuídas em todo o gene. Apesar dos éxons 4 e 5 serem considerados "pontos quentes" de mutações, o gene todo deve ser sequenciado, o que acarreta um trabalho árduo e dispendioso.

7) Após a realização desta pesquisa, constatou-se que no Brasil existem poucos estudos sobre a EAL, e nenhum descreve mutações no gene *SOD1* ligada a EAL-F, apesar da prevalência desta patologia seguir a média mundial. Por este motivo, conclui-se que os profissionais estão atuando com pouco conhecimento genético sobre a patologia. Sendo assim, esperamos que nosso trabalho possa orientar estudos regionais que visam à identificação de pacientes com EAL-F e a realização de pesquisas sobre as mutações no gene *SOD1* nestas famílias, ampliando o conhecimento científico e incentivando novas pesquisas no Brasil.

13. Referências

1. Abe K, Aoki M, Ikeda M, Watanabe M, Hirai S, Itoyama Y. Clinical characteristics of familial amyotrophic lateral sclerosis with Cu/Zn superoxide dismutase gene mutations. 1996 Mar;136(1-2):108-16.
2. Aguirre T, Matthijs G, Robberecht W, Tilkin P, Cassiman JJ. Mutational analysis of the Cu/Zn superoxide dismutase gene in 23 familial and 69 sporadic cases of amyotrophic lateral sclerosis in Belgium. *Eur J Hum Genet.* 1999 Jul;7(5):599-602.
3. Alexander MD, Traynor BJ, Coor B, et al. SOD1 Mutation analysis in the Irish ALS population—A preliminary report. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000;1(Suppl. 3):99 [Abstract].
4. ALS Online Genetics Database. http://alsod.iop.kcl.ac.uk/Als/mutations/mutationsFoundGeneOnly.aspx?gene_id=SOD1#C1. Acessado em 14 de junho de 2011.
5. Andersen PM, Nilsson P, Keranen ML, Forsgren L, Hagglund J, Karlsborg M, Ronnevi OL, Gredal O, Marklund L. Phenotypic heterogeneity in motor neuron disease patients with CuZn-superoxide dismutase mutations in Scandinavia. *Brain.* 1997 Oct;120 (Pt 10):1723-37.
6. Andersen PM, Sims KB, Xin WW, Kiely R, O'Neill G, Ravits J, Pioro E, Harati Y, Brower RD, Levine JS, Heinicke HU, Seltzer W, Boss M, Brown RH Jr. Sixteen novel mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene in amyotrophic lateral sclerosis: a decade of discoveries, defects and disputes. 2003 Jun;4(2):62-73.
7. Anequini IP, Pallesi JB, Fernandes E, Fávero FM, Fontes SV, Quadros AAJ, Silva HCA, Oliveira ASB. Evaluation of the activities of ABRELA: offered orientations, achieved expectations? *Revista Neurociência.* V. 14. nº4 , out/dez, 2006.
8. Aoki M, Kato S , Nagai M, Itoyama Y. Development of a rat model of amyotrophic lateral sclerosis expressing a human SOD1 transgene. *Neuropathology* 2005; 25, 365–370.

9. Arisato T, Okubo R, Arata H, Abe K, Fukada K, Sakoda S, Shimizu A, Qin XH, Izumo S, Osame M, Nakagawa M. Clinical and pathological studies of familial amyotrophic lateral sclerosis (FALS) with SOD1 H46R mutation in large Japanese families. *Acta Neuropathol.* 2003 Dec;106(6):561-8. Epub 2003 Sep 27.
10. Baek W, Koh SH, Park JS, Kim YS, Kim HY, Kwon MJ, Ki CS, Kim SH. A novel codon4 mutation (A4F) in the SOD1 gene in familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2011a Jul 15;306(1-2):157-9. Epub 2011 Apr 14.
11. Battistini S, Ricci C, Lotti EM, Benigni M, Gagliardi S, Zucco R, Bondavalli M, Marcello N, Ceroni M, Cereda C. Severe familial ALS with a novel exon 4 mutation (L106F) in the SOD1 gene. *J Neurol Sci.* 2010b Jun 15;293(12):112-5. Epub 2010 Apr 10.
12. Battistini S, Ricci C, Giannini F, Calzavara S, Greco G, Del Corona A, Mancuso M, Battistini N, Siciliano G, Carrera P. G41S SOD1 mutation: A common ancestor for six ALS Italian families with an aggressive phenotype. 2010a;11(1-2):210-5.
13. Belleruche J, Orrell R, King A. Familial amyotrophic lateral sclerosis/motor neurone disease (FALS): a review of current developments. *J Med Genet* 1995;32:841-847.
14. Bereznaï B, Winkler A, Borasio GD, Gasser T. A novel SOD1 mutation in an Austrian family with amyotrophic lateral sclerosis. 1997 Mar;7(2):113-6.
15. Boukaftane Y, Khoris J, Moulard B, Salachas F, Meininger V, Malafosse A, Camu W, Rouleau GA. Identification of six novel SOD1 gene mutations in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Can J Neurol Sci.* 1998 Aug;25(3):192-6.
16. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL: *Princípios de Genética Humana.* Harrison Medicina Interna, volume I, décima quinta edição, editora MacGrawHill, Rio de Janeiro, 2002, 65:395-417.

17. Brown RH, Amyotrophic lateral sclerosis: lessons from mouse and human genetics. *Clinical Neuroscience Research* 1 (2001) 84-90.
18. Cardoso RMF, Thayer MM, DiDonato M, Lo TP, Bruns CK, Getzoff ED, Tainer JA. Insights into Lou Gehrig's Disease from the Structure and Instability of the A4V Mutant of Human Cu,Zn Superoxide Dismutase. *J.Mol. Biol.* (2002) 324, 247–256.
19. Castro AA. Revisão Sistemática e Meta-análise. D:\My Documents\ald_aulas\1_MBE\MBE_3_Principais Desenhos\Revisão Sistemática\atg_meta_analises_3.doc. 2001.
20. Castro-Costa CM, Oriá RB, Vale OC, Arruda JAM, Horta W, D'Almeida JAC, Santos TJT, Ramos RSN, Gifone MAC. Motor neuron diseases in the university hospital of Fortaleza (Northeastern Brazil). *Arq Neuropsiquiatr* 2000;58(4):986-989.
21. Cervenakova L, Protas II, Hirano A, Votjakov VI, Nedzved MK, Kolomiets ND, Taller I, Park KY, Sambuughin N, Gajdusek DC, Brown P, Goldfarb LG. Progressive muscular atrophy variant of familial amyotrophic lateral sclerosis (PMA/ALS). *J Neurol Sci.* 2000 Aug 15;177(2):124-30.
22. Corrêa-Giannella ML, Vieira SM 2007. A predisposição genética para o desenvolvimento da microangiopatia no DM1. *Arq Bras Endocrinol Metab* vol.52 no.2 São Paulo Mar. 2008.
23. Corti S, Donadoni C, Ronchi D, Bordoni A, Fortunato F, Santoro D, Del Bo R, Lucchini V, Crugnola V, Papadimitriou D, Salani S, Moggio M, Bresolin N, Comi G. Amyotrophic lateral sclerosis linked to a novel SOD1 mutation with muscle mitochondrial dysfunction. *Journal of the Neurological Sciences* 276 (2009) 170–174.
24. Cudkovicz M. E., McKenna-Yasek D., Sapp P. E., Chin W., Geller B., Hayden D. L., Schoenfeld D. A., Hosler B. A., Horvitz H. R., Brown R. H. Epidemiology of mutations in superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol* 1997;41,210-221.
25. Del Grande A, Luigetti M, Conte A, Mancuso I, Lattante S, Marangi G, Stipa G, Zollino M, Sabatelli M. A novel L67P SOD1 mutation in an Italian

- ALS patient. *Amyotroph Lateral Scler.* 2011 Mar;12(2):150-2. Epub 2011 Jan 19.
26. Dietrich-Neto F, Callegaro D, Dias-Tosta E, Silva HA, Ferraz ME, Lima JMB, Oliveira ASB. Amyotrophic Lateral Sclerosis in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2000;58(3-A): 607-615.
27. Duran MA. Fisioterapia Motora na Esclerose amiotrófica lateral. *Revista Neurociências V14 N2 (supl-versão eletrônica) –abr/jun, 2006.*
28. Fong GC, Kwok KH, Song YQ, Cheng TS, Ho PW, Chu AC, Kung MH, Chan KH, Mak W, Cheung RT, Ramsden DB, Ho SL. Clinical phenotypes of a large Chinese multigenerational kindred with autosomal dominant familial ALS due to Ile149Thr SOD1 gene mutation. *Amyotroph Lateral Scler.* 2006 Sep;7(3):142-9.
29. Gamez J, Caponnetto C, Ferrera L, Syriani E, Marini V, Morales M, Bordo D, Pirro C, Garre C, Origone P. I112M SOD1 mutation causes ALS with rapid progression and reduced penetrance in four Mediterranean families. *Amyotroph Lateral Scler.* 2011 Jan;12(1):70-5.
30. Gamez J, Corbera-Bellalta M, Nogales G, Ragner N, Arumi EG, Badia-Canto M, Liado-Carbo E, Ivarez-Sabi JA. Mutational analysis of the Cu/Zn superoxide dismutase gene in a Catalan ALS population: Should all sporadic ALS cases also be screened for SOD1? *Journal of the Neurological Sciences* 247 (2006) 21-28.
31. García-Redondo A, Bustos F, Juan Y Seva B, Del Hoyo P, Jiménez S, Campos Y, Martín MA, Rubio JC, Cañadillas F, Arenas J, Esteban J. Molecular analysis of the superoxide dismutase 1 gene in Spanish patients with sporadic or familial amyotrophic lateral sclerosis. 2002 Aug;26(2):274-8.
32. Gellera, Castellottia B, Riggioa MC, Silanib A, Morandic L, Testac D, Casalid C, Taronia F, Donatoa SD, Zeviania M, Mariottia C. Superoxide dismutase gene mutations in Italian patients with familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis: identification of three novel missense mutations. *Neuromuscul Disord.* 2001 May;11(4):404-10.

33. Georgouloupoulou E, Gellera C, Bragato C, Sola P, Chiari A, Bernabei C, Mandrioli J. A novel SOD1 mutation in a young amyotrophic lateral sclerosis patient with a very slowly progressive clinical course. *Muscle Nerve*. 2010 Oct;42(4):596-7.
34. Gestri D, Cecchib C, Teddec A, Latorracaa S, Orlacchiod A, Grassia E, Massaroa AM, Ligurib G, Hyslopd PHSG, Sorbia S. Lack of SOD1 gene mutations and activity alterations in two Italian families with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience Letters* 289 (2000) 157-160.
35. Gomes MM. Envelhecimento e o aumento das doenças amiotróficas : epidemiologia das doenças (crônicas) das células do corno anterior da medula. *Arq Bras Med*, 1991;65:589-594.
36. Gros-Louis F, Gaspar C, Rouleau G. Genetics of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Nov-Dec;1762(11-12):956-72. Epub 2006 Feb 10.
37. Hand CK, Rouleau GA. Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis *Muscle Nerve*. 2002 Feb;25(2):135-59. Review.
38. Heiman-Patterson TD, Deitcha JS, Blankenhornb EP, Erwina KL, Perreaulta MJ, Alexandera BK, Byersa N, Tomana I, Alexandera GM. Background and gender effects on survival in the TgN (SOD1-G93A) 1Gur mouse model of ALS. *Journal of the Neurological Sciences* 236 (2005) 1-7.
39. Hermann A, Reuner U, Ziethe G, Bräuer A, Gölnitz U, Rolfs A, Ricci C. Vocal cord paralysis and rapid progressive motor neuron disease by the I113F mutation in SOD1 gene. *Amyotroph Lateral Scler*. 2011 Mar 17. [Epub ahead of print]
40. Hosler BA, Nicholson GA, Sapp PC, Chin W, Orrell RW, de Bellerocche JS, Esteban J, Hayward LJ, Mckenna-Yasek D, Yeung L, Cherryson AK, Dench JE, Wilton SD, Laing NG, Horvitz HR, Brown RH Jr. Three novel mutations and two variants in the gene for Cu/Zn superoxide dismutase in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neuromuscul Disord*. 1996 Oct;6(5):361-6.

41. Ikeda M, Abe K, Aoki M, Sahara M, Watanabe M, Shoji M, St George-Hyslop PH, Hirai S, Itoyama Y. Variable clinical symptoms in familial amyotrophic lateral sclerosis with a novel point mutation in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. *Neurology*. 1995 Nov;45(11):2038-42.
42. Jones CT, Swingler RJ, Simpson SA, Brock DJH. Superoxide dismutase mutations in an unselected cohort of Scottish amyotrophic lateral sclerosis patients. *Med Genet* 1995;32:290-292.
43. Kawamata C, Morita M, Shibata N, Nakano I. Familial amyotrophic lateral sclerosis (FALS) with a novel SOD1 gene mutation: a clinicopathological study. Department of Neurology, Jichi Medical University 2007 May;47(5):211-6.
44. Kawata A, Kato S, Hayashi H, Hiraia S. Prominent sensory and autonomic disturbances in familial amyotrophic lateral sclerosis with a Gly93Ser mutation in the SOD1 gene. *Journal of Neurological Sciences* 153 (1997) 82-85.
45. Kikugawa K, Nakano R, Inuzuka T, Kokubo Y, Narita Y, Kuzuhara S, Yoshida S, Tsuji S. A missense mutation in the SOD1 gene in patient with amyotrophic lateral sclerosis from the Kii Peninsula and its vicinity, Japan. *Neurogenetics*. 1997 Sep;1(2):113-5.
46. Kim HY, Ki CS, Koh SH, Park KH, Sunwoo IN, Kim SH. Clinical characteristics of familial amyotrophic lateral sclerosis with a Phe20Cys mutation in the SOD1 gene in a Korean family. *Amyotroph Lateral Scler*. 2007 Apr;8(2):73-8.
47. Kim NH, Kim HJ, Kim M, Lee KW. A novel SOD1 gene mutation in a Korean family with amyotrophic lateral sclerosis *J Neurol Sci*. 2003 Jan 15;206(1):65-9.
48. Kim W, Kim JS, Lee KS, Gwoun YJ, Kim JM, Lee KH. Anticipation and Phenotypic Heterogeneity in Korean Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis with Superoxide Dismutase 1 Gene Mutation. *J Clin Neurol*. 2007 Mar;3(1):38-44. Epub 2007 Mar 20.
49. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Kubodera T, Shibata N, Arai T, Miura H, Ishikawa C, Kondo H, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H. FALS with

- Gly72Ser mutation in SOD1 gene: report of a family including the first autopsy case. *J Neurol Sci.* 2011 Jan 15;300(1-2):9-13. Epub 2010 Nov 16.
50. Kohno S, Takahashi Y, Miyajima H, Serizawa M, Mizoguchi K. A novel mutation (Cys6Gly) in the Cu/Zn superoxide dismutase gene associated with rapidly progressive familial amyotrophic lateral sclerosis. 1999 Dec 3;276(2):135-7.
51. Lima JMB, Mesquita N, Duro LAA, Furtado AB. Epidemiological aspects of amyotrophic lateral sclerosis in Rio de Janeiro city. *Rev Bras Neurol*, 1983;19:75-78.
52. Luigetti M, Madia F, Conte A, Marangi G, Zollino M, Del Grande A, Dileone M, Tonali PA, Sabatelli M. SOD1 G93D mutation presenting as paucisymptomatic amyotrophic lateral sclerosis.. *Amyotroph Lateral Scler.* 2009 Oct-Dec;10(5-6):479-82.
53. Lukas TJ, Luo WW, Mao H, Cole N, Siddique T. Informatics-assisted protein profiling in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Cell Proteomics.* 2006 Jul;5(7):1233-44. Epub 2006 Mar 29.
54. Maeda T, Kurahashi K, Matsunaga M, Inoue K, Inoue M. On intra-familial clinical diversities of a familial amyotrophic lateral sclerosis with a point mutation of Cu/Zn superoxide dismutase (Asn 86-Ser). 1997 Sep;49(9):847.
55. Majoor-Krakauer D, Willems PJ, Hofman A. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Genet* 2003; 63: 83-101.
56. Marucci G, Morandi L, Bartolomei I, Salvi F, Pession A, Righi A, Lauria G, Foschini MP. Amyotrophic lateral sclerosis with mutation of the Cu/Zn superoxide dismutase gene (SOD1) in a patient with Down syndrome. *Neuromuscul Disord.* Oct;17(9-10):673-6. Epub 2007 Jul 10.
57. Mase G, Ros S, Gemma A, Bonfigli L, Carraro N, Cazzato G, Rolfo M, Zanconati F, Sepcic J, Jurjevic A, Pirulli D, Boniotto M, Zezlina S, Crovella S, Amoroso A. ALS with variable phenotypes in a six-generation family caused by leu144phe mutation in the SOD1 gene. *Journal of the Neurological Sciences.* 2001;191:11-18.

58. Miller RG, Mitchell JD, Lyon M, Moore DH. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 Jan 24;(1):CD001447.
59. Moraes L, Goldbaum M, Silva HCA, Callegaro D. Incidence rate of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in Sao Paulo city, Brazil, 1991-1997. *Arq Neuropsiquiatr*, 1998;56(Supl 1):343.
60. Morita M, Abe K, Takahashi M, Onodera Y, Okumura H, Niino M, Tashiro K, Nakano I, Itoyama Y. A novel mutation Asp90Val in the SOD1 gene associated with Japanese familial ALS. *European Journal of neurology* 1998, 5;389-392.
61. Morita M, Aoki M, Abe K, Hasegawa T, Sakuma R, Onodera Y, Ichikawa, Nishizawa, Itoyama Y. A novel two-base mutation in the Cu/Zn superoxide dismutase gene associated with familial amyotrophic lateral sclerosis in Japan. *Neurosci Lett.* 1996 Feb 23;205(2):79-82.
62. Münch C, Bertolotti A. Exposure of hydrophobic surfaces initiates aggregation of diverse ALS-causing superoxide dismutase-1 mutants. *J Mol Biol.* 2010 Jun 11;399(3):512-25. Epub 2010 Apr 24.
63. Murakami T, Warita H, Hayashi T, Sato K, Manabe Y, Mizuno S, Yamane K, Abe K. A novel SOD1 gene mutation in familial ALS with low penetrance in females. *Journal of the Neurological Sciences* 189 2001. 45-47.
64. Naini A, Musumeci O, Hayes L, Pallotti F, Del Bene M, Mitsumoto H. Identification of a novel mutation in Cu/Zn superoxide dismutase gene associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. 2002 Jun 15;198(1-2):17-9.
65. Niemann S, Joos H, Meyer T, Vielhaber S, Reuner U, Gleichmann M, Dengler R, Müller U. Familial ALS in Germany: origin of the R115G SOD1 mutation by a founder effect. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004 Aug;75(8):1186-8.
66. Nogales-Gadea N, Arumib GE, Andreub AL, Cerveraa C, Gameza J. A novel exon 5 mutation (N139H) in the SOD1 gene in a Spanish family

- associated with incomplete penetrance. *J Neurol Sci.* 2004 Apr 15;219(1-2):1-6.
67. Ohi T, Nabeshima K, Katoc S, Yazawaa S, Takechid S. Familial amyotrophic lateral sclerosis with His46Arg mutation in Cu/Zn superoxide dismutase presenting characteristic clinical features and Lewy body-like hyaline inclusions. *J Neurol Sci.* 2004 Oct 15;225(1-2):19-25.
68. Ohnishi A, Miyazaki S, Murai Y, Ueno S, Sakai H. Familial amyotrophic lateral sclerosis showing variable clinical courses with (Leu84-->Val) mutation of Cu/Zn superoxide dismutase. 1996 Mar;36(3):485-7.
69. Oliveira ASB, Pereira RDB. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS): three letters that change the people's life. For ever. *Arq. Neuro Psiquiatr.* vol.67 no.3a São Paulo Sept. 2009.
70. Orrell RW, Habgood JJ, Gardiner I, et al. Clinical and functional investigation of 10 missense mutations and a novel frameshift insertion mutation of the gene for copper-zinc superoxide dismutase in UK families with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 1997b;48:746- 751.
71. Orrell RW, Habgood JJ, Malaspina A, et al. Clinical characteristics of SOD1-gene mutations in UK families with ALS. *J Neurol Sci* 1999;169:56-60.
72. Orrell RW, Marklund SL, Bellerochea JS. Familial ALS is associated with mutations in all exons of SOD1: a novel mutation in exon 3 (Gly72Ser). *J Neurol Sci.* 1997a Dec 9;153(1):46-9.
73. Paillisse C, Lacomblez L, Dib M, Bensimon G, Garcia-Acosta S, Meininger V. Prognostic factors for survival in amyotrophic lateral sclerosis patients treated with riluzole. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.* 2005 Mar;6(1):37-44.
74. Palmisano R, Golfi P, Heimann P, Shaw C, Troakes C, Schmitt-John T, Bartsch JW. Endosomal accumulation of APP in wobbler motor neurons reflects impaired vesicle trafficking: Implications for human motor neuron disease. *BMC Neuroscience* 2011, 12:24.
75. Pasinelli P, Brown RH. Molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis: insights from genetics. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:710–23

76. Penco S, Lunetta C, Mosca L, Maestri E, Avemaria F, Tarlarini C, Patrosso MC, Marocchi A, Corbo M. Phenotypic heterogeneity in a SOD1 G93D Italian ALS family: an example of human model to study a complex disease. *J Mol Neurosci*. 2011 May;44(1):25-30.
77. Pereira RDB. Epidemiology: ALS in World. *Revista Neurociências*–abr/jun, 2006.
78. Pozza AM, Delamura MK, Rmairez C, Valério NI, Marino LHC, Lamari NM. Physiotherapeutic conduct in amyotrophic lateral sclerosis. *Sao Paulo Med J*. 2006;124(6):350-4.
79. Pramatarova, Figlewicz DA, Krizus A, Han FY, Picot C, Nicole A, Dib M, Meininger V, Brown H, Rouleau GA. Identification of New Mutations in the Cu/Zn Superoxide Dismutase Gene of Patients with Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Am J Hum Genet*. 1995 Mar;56(3):592-6.
80. Rabe M, Felbecker A, Waibel S, Steinbach P, Winter P, Müller U, Ludolph AC. The epidemiology of CuZn-SOD mutations in Germany: a study of 217 families. *Neurol* (2010) 257:1298–1302.
81. Rainero I, Pinessi L, Tsuda T, Vignocchi MG, Vaula G, Calvi L, Cerrato P, Rossi B, Bergamini L, McLachlan DR. SOD1 missense mutation in an Italian family with ALS. 1994 Feb;44(2):347-9.
82. Régal L, Vanopdenbosch L, Tilkin P, Van den Bosch L, Thijs V, Sciot R, Robberecht W. The G93C Mutation in Superoxide Dismutase 1: clinicopathologic phenotype and prognosis. *Arch Neurol*. 2006;63:262-267.
83. Ricci C, Benigni M, Battistini S, Greco G, Torzini A, Giannini F. A novel exon 1 mutation (G10R) in the SOD1 gene in a patient with familial ALS. *Amyotroph Lateral Scler*. 2010 Oct;11(5):481-5.
84. Robberecht W, Sapp P, Viaene FK, Rosen D, Yasek DM, Haines J, Horvitz R, Theys P, Brown R. - Cu/Zn Superoxide Dismutase Activity in Familial and Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurochem*. 1994 Jan;62(1):384-7.

85. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993;362:59–62.
86. Sampaio RF, Mancini MC. Estudos de Revisão Sistemática: Um Guia para Síntese Criteriosa da Evidência Científica. *Rev. bras. fisioter.*, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83-89, jan./fev. 2007
87. Sapp PC, Rosen DR, Hosler BA, Esteban J, McKenna-Yasek D. Identification of three novel mutations in the gene for Cu/Zn superoxide dismutase in patients with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neuromuscul Disord.* 1995 Sep;5(5):353-7.
88. Sato T, Yamamoto Y, Nakanishi T, Fukada K, Sugaia F, Zhou Z, Okuno T, Nagano S, Hirata S, Shimizu A, Sakoda S. Identification of two novel mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene with familial amyotrophic lateral sclerosis: mass spectrometric and genomic analyses. *J Neurol Sci.* 2004 Mar 15;218(1-2):79-83.
89. Segovia-Silvestre T, Andreu AL, Vives-Bauza C, Garcia-Arumi E, Cervera C, Gamez J. A novel exon 3 mutation (D76V) in the SOD1 gene associated with slowly progressive ALS. 2002 Jun;3(2):69-74.
90. Shaw CE, Enayat ZE, Chioza BA, et al. Mutations in all 8 exons of SOD-1 may cause ALS. *Ann Neurol* 1998;43:390-394.
91. Siddique T, Figlewicz DA, Pericak-Vance MA, Haines JL, Rouleau G, Jeffers AJ, Sapp P, Hung WY, Bebout J, McKenna-Yasek D. Linkage of a gene causing familial amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 21 and evidence of genetic-locus heterogeneity. *N. Engl. J. Med.* 324 (1991) 1381–1384.
92. Silva HCA. Etiopatogenia da ELA: causa única ou várias causas?. *Revista Neurociências V14 N2 (supl-versão eletrônica) –abr/jun, 2006.*
93. Suthers G, Laing N, Wilton S, Dorosz S, Waddy H. "Sporadic" motorneuron disease due to familial SOD1 mutation with low penetrance. *Lancet* 1994;344:1773 –4.

94. Syriani E, Morales M, Gamez J. FUS/TLS gene mutations are the second most frequent cause of familial ALS in the Spanish population. *Amyotroph Lateral Scler.* 2011 Mar;12(2):118-23.
95. Syriani E, Morales M, Gamez J. The p.E22G mutation in the Cu/Zn superoxide-dismutase gene predicts a long survival time Clinical and genetic characterization of a seven-generation ALS1 Spanish pedigree. *J Neurol Sci.* 2009 Oct 15;285(1-2):46-53. Epub 2009 Jun 13.
96. Tada S, Okuno T, Yasui T, Nakatsuji Y, Sugimoto T, Kikutani H, Sakoda S. Deleterious effects of lymphocytes at the early stage of neurodegeneration in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroinflammation* 2011, 8:19.
97. Takazawa T, Ikeda K, Hirayama T, Kawabe K, Nakamura Y, Ito H, Kano O, Yoshii Y, Tanaka F, Sobue G, Iwasaki Y. Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis with a Novel G85S Mutation of Superoxide Dismutase 1 Gene: Clinical Features of Lower Motor Neuron Disease. *Intern Med.* 2010;49(2):183-6. Epub 2010 Jan 15.
98. Takehisa Y, Ujike H, Ishizu H, Terada S, Haraguchi T, Tanaka Y, Nishinaka T, Nobukuni K, Ihara Y, Namba R, Yasuda T, Nishibori M, Hayabara T, Kuroda S. Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis With a Novel Leu126Ser Mutation in the Copper/Zinc Superoxide Dismutase Gene Showing Mild Clinical Features and Lewy Body–Like Hyaline Inclusions. *Arch Neurol.* 2001;58:736-740.
99. Tan CF, Eguchi H, Tagawa A, Onodera O, Nishizawa M, Kakita A, Takahashi H, Iwasaki T, Tsujino A. TDP-43 immunoreactivity in neuronal inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis with or without SOD1 genemutation. *Acta Neuropathol* (2007) 113:535–542.
100. Tan CF, Piao YS, Hayashi S, Obata H, Umeda Y, Sato M, Fukushima T, Nakano R, Tsuji S, Takahashi H. Familial amyotrophic lateral sclerosis with bulbar onset and a novel Asp101Tyr Cu/Zn superoxide dismutase gene mutation. *Oct;108(4):332-6.* Epub 2004 Jul 3.
101. Taylor DM, Gibbs BF, Kabashi E, Minotti S, Durham HD, Agar JN. Tryptophan 32 potentiates aggregation and cytotoxicity of a

- copper/zinc superoxide dismutase mutant associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Biol Chem.* 2007 Jun 1;282(22):16329-35.
102. Tsai CP, Soong BW, Lin KP, Tu PH, Lin JL, Lee YC. FUS, TARDBP, and SOD1 mutations in a Taiwanese cohort with familial ALS. *Neurobiol Aging.* 2011 Mar;32(3):553.e13-21.
103. Visani M, de Biase D, Bartolomei I, Plasmati R, Morandi L, Cenacchi G, Salvi F, Pession A. A novel T137A SOD1 mutation in an Italian family with two subjects affected by amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2011 May 16.
104. Watanabe M, Aoki M, Abe K, Shoji M, Iizuka T, Ikeda Y, Hirai S, Kurokawa K, Kato T, Sasaki H, Itoyama Y. A novel missense point mutation (S134N) of the Cu/Zn superoxide dismutase gene in a patient with familial motor neuron disease. *Hum Mutat.* 1997;9(1):69-71.
105. Werneck LC, Bezerra R, Neto OS, Rosana T. A clinical epidemiological study of 251 cases of amyotrophic lateral sclerosis in the south of Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2007;65(2-A):189-195 Herminia Scola.
106. Winter SM, Claus A, Oberwittler C, Völkel H, Wenzler S, Ludolph AC. Recessively inherited amyotrophic lateral sclerosis: a German family with the D90A CuZn-SOD mutation. *J Neurol.* 2000 Oct;247(10):783-6.
107. Wuolikainen A, T Moritz T, Marklund SL, Antti H, Andersen PM. Disease-Related Changes in the Cerebrospinal Fluid Metabolome in Amyotrophic Lateral Sclerosis Detected by GC/TOFMS. *PLoS ONE* 2011 6(4): e17947.
108. Zanoteli E, Peres ANA, Oliveira ASB, Gabbai AA. Biologia molecular nas doenças do neurônio motor, *Rev. Neurociência.* Vol.12. n 1, 2004.
109. Zetterström P, Andersen PM, Brännström T, Marklund SL. Misfolded superoxide dismutase-1 in CSF from amyotrophic lateral sclerosis patients. *J Neurochem.* 2011 Apr;117(1):91-9. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07177.x. Epub 2011 Feb 9.
110. Zinman L, Liu HN, Sato C, Wakutani Y, Marvelle AF, Moreno D, Morrison KE, Mohlke KJ, Bilbao J, Robertson J, Rogaeva E. A mechanism for low penetrance in an ALS family with a novel SOD1 deletion. *Neurology®* 2009;72:1153–1159.

111. Zu JS, Deng HX, Lo TP, Mitsumoto H, Ahmed MS, Hung WY, Cai ZJ, Tainer JA, Siddique T. Éxon 5 encoded domain is not required for the toxic function of mutant SOD1 but essential for the dismutase activity: identification and characterization of two new SOD1 mutations associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurogenetics*. 1997 May;1(1):65-71.