

บทฟื้นฟูวิชาการ

ความก้าวหน้าเกี่ยวกับกลไกและการรักษาของ amyotrophic lateral sclerosis

นิพัชญ์ อิศรเสนา*

**Israsena N. Theoretical and therapeutic advanced in amyotrophic lateral sclerosis.
Chula Med J 1996 Jun; 40(6): 503-526**

Advances in the basic research in pathogenesis accelerated in recent years. These result in its increasing of potential strategies for specific treatment for this progressive fatal disease in the future. This article will review various evidences of autoimmunity ,excitotoxin, free radicals and neurotrophic factors in pathogenesis of ALS. The result of various clinical trials based on these theories are summerized.

Key words: *Amyotrophic lateral sclerosis, Pathogenesis, Autoimmune, Excitotoxin, Free radicals, Trophic factor, Treatment.*

Reprint request: Isarasena N, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. April 15, 1996.

Amyotrophic lateral sclerosis เป็นโรคที่เกิดจากการเสื่อมของ motor neuron โดยไม่ทราบสาเหตุ เป็นโรครุนแรงเนื่องจากผู้ป่วยมีอาการเลวลงจนเสียชีวิตในเวลารวดเร็วส่วนใหญ่ใช้ระยะประมาณ 2-3 ปี ในปัจจุบันยังไม่มีการรักษาแต่มียาซึ่งอาจชะลอการดำเนินของโรคได้บ้าง ในบทความนี้จะเป็นการสรุปทฤษฎีที่น่าจะอธิบายกลไกพยาธิสภาพของโรค ซึ่งอาจนำไปสู่แนวทางการรักษาในอนาคต

I. Autoimmune theory

ถึงแม้ว่าจะยังไม่สามารถสรุปได้ว่า Auto-immune เป็นสาเหตุของ ALS แต่ในช่วง 10 ปีนี้ หลักฐานที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของ ALS กับ immune dysfunction มีมากขึ้นเรื่อย ๆ แบ่งเป็นหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

1. อุบัติการณ์ร่วมของ ALS กับโรคที่มีความเกี่ยวข้อง กับภูมิคุ้มกันอื่น ๆ

1.1 Thyroid disease

Appel et al (1986) รายงานผู้ป่วย ALS 58 คน พบว่า 19 % มีประวัติ Thyroid disease ในอดีตหรือกำลังเป็นอยู่และ 23 % ของผู้ป่วยอีก 47 คนพบ increase titer ของ antithyroid microsomal antibodies⁽¹⁾

1.2 Lymphoma

Younger et al (1991) ได้รายงานการศึกษาผู้ป่วย ALS และ Lymphoma จำนวน 9 คน และเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ได้รับการรายงาน เดิม 25 คน⁽²⁾

สรุปว่า

- motor neuron syndrome พบได้ทั้งใน Hodgkin's และ non Hodgkin
- สามารถพบ upper motor neuron sign ได้ ต่างจากความเชื่อเดิมที่เชื่อว่า lymphoma ทำให้เกิดเฉพาะ lower motor neuron (พบ 8 จาก 9 คนใน series ของ

younger)

- ถ้าพบ motor neuron และ lymphoma จะพบอุบัติการณ์ของ paraproteinemin บ่อยขึ้น และบางครั้ง paraproteinemia อาจนำมาก่อน clinical ของ lymphoma ได้

2. Inflammatory foci in ALS spinal cord

ถึงแม้ CSF total protein และเซลล์ของผู้ป่วย ALS จะไม่แตกต่างจากคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ⁽³⁾ Engelhardt และ Appel (1990) พบว่าเมื่อย้อม immunostain spinal cord ของผู้ป่วย ALS พบว่ามีการ deposit ของ IgG ที่ lower motor neuron 13 จาก 15 รายและที่ pyramidal cell ใน motor cortex พบ 6 ใน 11 ราย⁽⁴⁾ เมื่อศึกษาโดยใช้ monoclonal antibodies ต่อ lymphocyte Ag พบว่ามี inflammatory cell infiltration ในผู้ป่วย ALS มากกว่าที่เคยคาดไว้เดิม⁽⁵⁾ เมื่อศึกษาถึง type ของ lymphocyte พบว่า T helper cell (CD₄) พบสารบริเวณที่ติดกับ corticospinal tract degeneration ส่วนที่ ventral horn พบได้บ้าง ซึ่งใกล้กับ cytotoxic/suppression cell (CD₈)⁽⁶⁾ อย่างไรก็ตามก็ไม่พบ correlation ของ lymphocyte กับการดำเนินของโรค นอกจากนี้ Kawamata et al (1992) ยังพบ CD8 cell ตามเส้นเลือดในเนื้อของไขสันหลังและสมองในผู้ป่วย ALS 13 คน อีกด้วย

3. Animal model ของ immune-mediated motor neuron destruction มี 2 model ใหญ่ ๆ คือ Experimental autoimmune motor neuron disease (EAMND) และ Experimental autoimmune gray matter disease (EAGMD)

EAMND เกิดจากการฉีด bovine spinal cord motor neuron เข้าไป ใน guineapigs เดือนละครั้งเป็นเวลา 5 เดือน ทำให้เกิด lower motor neuron syndrome ซึ่ง pathological examination จะพบการ

ตายของ motor neuron โดยไม่พบความผิดปกติของ corticospinal tract และ upper motor neuron พบ IgG deposit ที่ spinal cord motor neuron⁽⁸⁾ และ motor endplate

EAGMD มีอาการ ทั้ง upper และ lower motor neuron เกิดจากการฉีด spinal cord ventral horn homogenate เข้าใน guinea-pig กลุ่มอาการจะเกิดขึ้นเร็วกว่าและรุนแรงกว่า EAMND โดยสัตว์ทดลอง 2 ใน 3 จะเริ่มเกิดอาการภายใน 3 สัปดาห์ 25% ของสัตว์ทดลองจะมี bulbar ทางพยาธิวิทยาจะพบจุดการอักเสบและการตายของ spinal cord motor neuron รวมทั้ง Pyramidal cell ใน motor cortex⁽⁹⁾ ใน EAGMD นี้ยังคงทดลองป้องกันได้ โดยให้ cyclophosphamide ก่อนหน้าการกระตุ้นทาง immune พบว่าลดการเกิด clinical signs ของ disease และลดการตายของ spinal motor neuron⁽¹⁰⁾ ทั้งใน EAMND และ EAGMD นอกจากพบความผิดปกติที่ motor neuron แล้วยังพบความผิดปกติที่ N-M junction ด้วย โดยพบว่า frequency ของ miniature endplate potentials (Mepps) จะสูงขึ้น เชื่อว่าเกิดจากมี ACE release จาก axon terminal เพิ่มขึ้น⁽¹¹⁾

4. Cytotoxic activities ของซีรัมผู้ป่วย ALS

หลังจากปี 1973 ที่ Wolfgram และ Myer รายงานว่าซีรัมของผู้ป่วย ALS 70% จะ toxic ต่อ cultured mouse ventral horn explant⁽¹²⁾ ได้มีผู้พยายามศึกษา cytotoxic activity ของซีรัมผู้ป่วย ALS โดยใช้ cell type อื่น แต่ไม่ประสบความสำเร็จ เช่น

Horwich (1974) - organotypic cultures

Lehrich (1978) - Neuroblastoma

Touzeau (1983) - chicken ciliary ganglion cell

Doherty (1986) - cultured chick spinal neuron⁽¹³⁾

Touzeau (1986) - cultured human spinal cord neurons⁽¹⁴⁾

อย่างไรก็ดี Westall and Jablecki (1981) และ Ronnevi et al (1982) สามารถแสดงให้เห็นถึงภาวะ increase fragility ของ RBC จากผู้ป่วย ALS⁽¹⁵⁻¹⁶⁾ นอกจากนี้ Conradi และ Ronnevi ยังแสดงให้เห็นว่าพลาสมาของผู้ป่วย ALS สามารถทำให้ normal RBC เกิด hemolysis ได้⁽¹⁷⁾ และ in vivo immuno suppression ของ ALS ด้วย prednisolone หรือ Azathioprine ลด in vitro cytotoxic activity⁽¹⁸⁾ ผลการทดลองนี้คล้ายกับของ Overgaard (1991) นอกจาก Overgaard ไม่พบว่า cytotoxic activity ถูกทำลายโดย heat ที่ 56° C 30 min ในขณะที่ Conradi เชื่อว่า cytotoxic activity ถูกทำลายโดย heat และ Overgaard ยังเชื่อว่า cytotoxic activity เกิดขึ้นได้ โดยไม่จำเป็นต้องมี prolong incubation และไม่ต้องการอาศัย complement

จาก Cytotoxic activity Overgaard ตั้งข้อสังเกตว่าเราอาจใช้ diluted plasma ของผู้ป่วยมาทดสอบเพื่อ screening ALS ได้ โดยจะมี sensitivity ถึง 0.96 และ specificity ถึง 0.85⁽¹⁹⁾

5. Paraprotein และ Antibody

จาก Shy et al (1986) พบว่าผู้ป่วย motor neuron disease 10 จาก 206 คน (4.8 %) มี M protein (4 คน Ig M, 6 คน Ig G) ซึ่งสูงกว่า 1 จาก 100 คนในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามระดับมักไม่สูงมากนัก⁽²⁰⁾ ส่วน Younger et al (1990) พบ paraproteinemia ใน 10 % ของผู้ป่วย motor neuron syndromes ซึ่งจะเป็น 30 % ถ้ากลุ่มผู้ป่วยนี้มี protein สูงขึ้นใน CSF ด้วย⁽²¹⁾ การศึกษาระยะหลังจะพยายามหา Target ของ immunoglobulin

Antibody to ganglioside

Shy et al (1987, 1989) รายงานว่าผู้ป่วย motor neuron disease 59% มี ระดับ IgG ต่อ ganglioside GM₁, GD_{1b} สูงกว่าที่ควบคุม โดยไม่จำเป็นต้องมี plasma cell dyscrasia^(22,23) ถึงแม้ผู้ป่วยในการศึกษาของ Shy จะเป็นผู้ป่วยที่ predominate lower motor neuron ซึ่งแตกต่างจาก criteria ของ ALS แต่ในการศึกษาของ Pestronk (1988) ซึ่งแบ่งกลุ่มผู้ป่วย motor neuron เป็นกลุ่ม predominate upper(U) predominate lower (L) และกลุ่มที่มี Upper และ Lower (U+L) พบว่ากลุ่ม U+L ก็ยังมี Anti GM₁ ถึง 67% ของผู้ป่วย ในขณะที่กลุ่ม L พบ 72 % และกลุ่ม U พบเพียง 7%⁽²⁴⁾ และเมื่อศึกษาต่อไปพบว่าผู้ป่วย motor neuron 78% มี titer ของ IgM antibodies ต่อ GM₁ หรือ GD_{1a} ตั้งแต่ 1:25 ถึง 1:4000 และ anti GD_{1a} นั้น พบบ่อยกว่าในกลุ่ม predominate upper⁽²⁵⁾ อย่างไรก็ตาม titer จะต่ำกว่าผู้ป่วยที่เป็น Multifocal motor neuropathy⁽²⁶⁾ Corbo (1992) ได้ศึกษาและพบว่า anti-GM₁ antibodies นั้น bind to surface of bovine spinal motor neuron โดยไม่ bind dorsal root ganglion⁽²⁷⁾ เป็นอีกหลักฐานที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของระบบภูมิคุ้มกัน และ ALS

Antibody to calcium channel

จากที่พบว่าใน animal model ของ motor neuron disease พบ mepps สูงกว่าปกติ⁽¹¹⁾ และเมื่อนำ Ig จากผู้ป่วย ALS ฉีดในหนูปกติ พบว่าทำให้เกิดความผิดปกติแบบเดียวกัน⁽²⁸⁾ ทำให้มีการศึกษาความผิดปกติที่ N-M junction ในผู้ป่วย ALS ในปี 1992 Smith ได้ศึกษาปฏิกิริยาต่อต้านของ serum IgG ของผู้ป่วย ALS กับ complements ของ L-type voltage-gated calcium channels (VGCC) จาก Skeleton muscle ของกระต่าย พบว่า มี specific binding เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่รวมถึงผู้ป่วยที่มีโรคทาง

immune อื่นๆ และเมื่อนำระดับซีรัม reactivity มาเปรียบเทียบกับค่าการดำเนินโรคพบว่ากลุ่มที่มี rapid clinical progression มักมี strong serum reactivity⁽²⁹⁾ นอกจากนี้เมื่อใช้ cell line ที่ express N-type VGCCs ก็พบว่า ALS IgG ก็มี reactivity เมื่อศึกษาต่อไปพบว่า IgG จาก ALS นั้น bind ต่อ α_1 subunit ของ VGCC_s แตกต่างจาก Lambert-Eaton myasthenic syndrome ซึ่ง bind ทั้ง α_1 และ β subunit⁽²⁹⁾ ผลที่ตามมาของการ binding ของ IgG ทำให้เกิด Ca²⁺ entry เพิ่มจำนวน intracellular Ca²⁺ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเกิด neuronal death⁽³¹⁾ และเมื่อนำ muscle VGCCs จากผู้ป่วย ALS มาทดสอบ binding พบ increased binding affinities ต่อ Dihydropyridine (DHP) ซึ่งคล้ายกับ autoimmune motor neuropathy, paraneoplastic และแตกต่างจากการควบคุม แสดงถึง DHP binding kinetic ที่เปลี่ยนไป ซึ่งอธิบายได้จาก adaptation to underlying pathological state ซึ่งไม่ specific⁽³²⁾

ยังเป็นที่ถกเถียงว่า antibodies ต่อ VGCC เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิด ALS หรือเป็นผลที่ตามมาจาก neuronal injury และถ้าเกี่ยวข้องจะอธิบาย selective vulnerability ของ motor neuron ได้อย่างไร^(33,34)

Clinical trial

ถึงแม้จะมีหลักฐานแสดงถึงความเกี่ยวพันของระบบภูมิคุ้มกันกับ ALS มากขึ้นเรื่อยๆ แต่การทำ clinical trial โดยทำ Immunomodulation ต่าง ๆ เช่น cyclophosphamide⁽³⁵⁾, corticosteroid, azathioprine⁽³⁶⁾ Intravenous immunoglobulin⁽³⁷⁾ ไม่สามารถหยุดการ progression ของโรคได้รวมทั้งการใช้ gangliosides^(38,39) ก็เช่นกัน มีเพียงการศึกษาของ Appel (1988) ที่ให้ cyclosporine ที่ดูเหมือน slow progression ได้⁽⁴⁰⁾ แต่เมื่อศึกษาต่อมาพบว่าไม่ได้ผล แม้แต่ total lymphoid irradiation⁽⁴¹⁻⁴²⁾ ซึ่งพิสูจน์

ได้ว่ากรด immune อย่างมีประสิทธิภาพก็ไม่สามารถชะลออาการของโรคได้ ซึ่งไม่สนับสนุน Autoimmune theory อย่างไรก็ดีอาจเป็นไปได้ที่เพราะเริ่มให้การรักษาลงโรครเกิดขึ้นแล้ว จึงไม่สามารถหยุดการดำเนินของโรคได้เช่นเดียวกับใน IDDM,MS

II. Excitatory amino acid transmitters theory

หลังจากเป็นที่ทราบกันว่า glutamate และ aspartate เป็น major excitatory neurotransmitter ใน CNS ในปี 1959 ได้เริ่มมีผู้พบ toxic effect ของ glutamate โดยพบว่า systemic administration ในหนูทำให้เกิด retinal degeneration⁽⁴³⁾

ทำให้เริ่มมีผู้ศึกษาและพบหลักฐานหลายอย่างที่แสดงถึงการเกิด neuronal death หลังจากถูก overstimulation โดย glutamate เช่น Olney รายงานในปี 1969-1971 ซึ่งต่อมาได้รวบรวมข้อมูลต่าง ๆ และตั้ง term excitotoxin ขึ้น⁽⁴⁴⁻⁴⁵⁾ จากการศึกษาของ Choi เชื่อว่ากลไกที่ glutamate ทำให้เกิด neural cell ตายนั้นเกิดจาก influx ของ Calcium⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾ จากการเปิดของ ion channel หลังจาก glutamate bind กับ receptor โดยเฉพาะ NMDA subtype ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ subtype ของ ionotropic channel อื่น ๆ คือ AMPA, Kinate แล้วจะ permeable ต่อ calcium มากกว่า^(49,50) เชื่อว่าเมื่อเกิด increase intracellular calcium จะกระตุ้น enzyme ต่าง ๆ ได้แก่ Protein Kinase C,

phospholipase, nitric oxide synthase, protease และอื่น ๆ ทำให้เกิด protein break down, free radical formation⁽⁵¹⁾ และ lipid peroxidation ทำให้เซลล์ย่อยสลายตัวเอง อย่างไรก็ตามการเพิ่มของ intracellular calcium เพียงอย่างเดียวคงยังไม่สามารถอธิบายการตายของเซลล์ได้ทั้งหมดเนื่องจากพบว่าการกระตุ้นให้เกิด increased intracellular calcium โดยวิธีอื่น เช่นใช้ Metabolic inhibitor (Cyanide) หรือ depolarization โดยใช้ K⁺ ทำให้ Ca²⁺ ผ่านทาง Voltage-gate calcium channel จนระดับ intracellular ca²⁺ เท่ากับระดับที่ได้จากการกระตุ้นโดย glutamate ไม่สามารถทำให้เกิด permanent damage เท่า⁽⁵²⁾

จากทฤษฎีนี้ได้มีผู้นำมาใช้อธิบายโรคทางระบบประสาทหลายชนิด เช่นภาวะการตายของเซลล์หลัง ischemia, trauma, seizure และ Neurodegenerative disease ต่าง ๆ ทั้ง Huntington's disease, AIDS dementia complex, Parkinson's disease, Alzheimer's disease รวมทั้ง ALS

หลักฐานแสดงความเกี่ยวข้องของ glutamate toxicity และ ALS ที่ยังเป็นที่ยกเถียงก็คือระดับของ glutamate ในซีรัม, CSF และเนื้อเยื่อต่าง ๆ

1. ใน serum ผลสรุปไว้ในตารางที่ 1
2. ใน CSF ผลสรุปไว้ในตารางที่ 2
3. ในเนื้อเยื่อของ spinal cord และ บริเวณอื่นๆ

ของ CNS

ตารางที่ 1. Plasma amino acid ในผู้ป่วย ALS

Author	Case	Control	Result	Comment
Patten (1978) ⁽⁵⁴⁾	12	12	↑ total aromatic a.a. ↑ total basic a.a. ↑ tyrosine ↑ ornithine	1. BCAA ใน plasma correlate กับ duration ของ ALS 2. activity ของ ALS correlate กับซีรั่ม aspartate เมื่อ loading monosodium glutamate
Plaitakis and Caroscio (1987) ⁽⁵⁵⁾	22	81	↑ fasting plasma glutamate > 100 % เมื่อเทียบกับ control	ในกลุ่ม ALS plasma glutamate จะสูงขึ้น มากกว่า control
Perry (1990) ⁽⁵⁶⁾	28	48	↑ glutamate, glutamine ↑ cystine, methylhistidine ↓ threonine, GABA ↓ phenylalanine, ↓ methionine, histidine	Perry เชื่อว่า ↑ Plasma glutamate เกิดจากอายุเพิ่มขึ้น
Cama (1993) ⁽⁵⁷⁾	22	44	↑ Alanine ↑ Isoleucine ↑ leucine ↑ methionine ↑ tyrosine	ไม่พบ Plasma glutamate

ตารางที่ 2. CFS amino ในผู้ป่วย ALS

Author	Case	Control	Result	Comment
Patten (1978) ⁽⁵⁴⁾	12	12	↑ total aromatic a.a. ↑ total essential a.a. ↑ tyrosine ↑ leucine	severity ใน ALS แปลผลผันกับ glutamate, aspartate ของ CSF
Meier and Schoft (1988) ⁽⁵⁸⁾	5	17	no significant	
Perry (1990) ⁽⁵⁶⁾	28	48	↑ glutamine ↑ alanine ↑ valine ↑ isoleucine ↑ leucine ↑ tryptophan ↑ etharolamine ↑ lysine ↑ arginine	ไม่พบ glutamate ใน CSF
Rothstein (1990) ⁽⁵⁹⁾	18	28	↑ aspartate (100%) ↑ glutamate (190%) ↑ threonine ↑ serine	เมื่อเปรียบเทียบกับของ Perry(1990) 1. ผู้ป่วยของ Rothstein มีอาการ 1/2 ของ Perry 2. ผู้ป่วยของ Perry รวม ผู้ป่วยที่มีแต่ LMN 3. level ใน control ต่างกัน 5 เท่าแสดงถึง ผลจาก method 60
Rothstein (1991) ⁽⁶¹⁾	15	8	↑ glutamate (230%) ↑ aspartate (154%)	เปลี่ยนวิธี โดยใช้ Automate HPLC
Cama (1993) ⁽⁵⁷⁾	16	19	ไม่ต่างกับ control	ถ้า subtype Spinal onset - serine glutamine, alanine

Patten (1982) พบ ammonia, ornithine ใน spinal tissue ผู้ป่วย ALS ซึ่งจะ invert กับ duration ของ disease⁽⁶²⁾ Perry (1987) พบว่า glutamate level ใน CNS area ลดลง⁽⁶³⁾ และ Platakis (1988) รายงานว่า glutamate ใน spinal cord ลดลง⁽⁶⁴⁾

กล่าวโดยรวมแล้วระดับ glutamate ใน specimen ต่างๆ ในแต่ละการศึกษาได้ผลที่แตกต่างกัน ทำให้ยังไม่สามารถสรุปได้ สาเหตุของความแตกต่างน่าจะเนื่องมาจาก Criteria include, วิธีเก็บ specimen, วิธีในการวิเคราะห์และเครื่องมือที่ใช้ของแต่ละการศึกษา ต่างกัน^(60,65-67) สำหรับเหตุผลในการเกิด glutamate toxicity นั้นมีผู้ตั้งทฤษฎีไว้หลายอย่าง⁽⁵³⁾ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ทฤษฎีการเกิด neurotoxic โดย glutamate

-
- I. เกิด enhanced glutamate effect ต่อ target cell (Strong excitotoxic hypothesis, glutamate receptor abuse)
1. primary glutamate overactivity model eg synthesis,
 - catabolism, neurotoxin activate glutamate receptor
 2. secondary glutamate overactivity
 - inhibitory neuronal input on glutamate cells (“neuronal disinhibition” model)
 - excitation input from higher centers (“neuronal excitation” model)
 - loss of target cell activity glutamate cell overactivity (“enhanced neuronal feedback” model)
- II. เกิด excitotoxic โดยที่ผลของ glutamate ต่อ cell เก่าปกติ (Weak excitotoxin hypothesis)
1. impaired functional antagonism at synaptic level eg Mg^{2+} depletion, disturbance of glycine (“Unopposed glutamate neurotransmission” model)
 2. Altered receptor function eg receptor opening Ca^{2+} channel after normal glutamate stimulation (“Altered receptor” model)
 3. Normal glutamate input on target neuron with impaired viability (“Weakened target cell” model)
 4. Impaired glutamate removal from synaptic cleft. impaired re-uptake or breakdown (“Impaired glutamate inactivation” model)
-

กลไกที่มีหลักฐานในผู้ป่วย ALS นอกจาก abnormal glutamate metabolism ที่ได้กล่าวไปแล้ว ได้แก่ abnormal glutamate transport⁽⁶⁵⁾ ที่ทำหน้าที่ remove glutamate ออกจาก synaptic cleft ทำให้ glutamate คั่ง และมีผลต่อ receptor เพิ่มขึ้น โดยพบว่า มี decrease in Max velocity for high affinity glutamate up take ที่ spinal cord, motor cortex, somatosensory cortex อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งรวมผู้ป่วย neurodegenerative อื่นๆ ด้วย⁽⁶⁹⁾ นอกจากนี้เมื่อศึกษาถึง subclass ของ glutamate transporter ซึ่งได้แก่ GLT1, EAAC1 และ GLAST พบว่ามี Variable loss of GLT1 ที่ใน astroglia 20-40 % loss of EAAC1 ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ที่ cortical pyramidal neuron ส่วน GLAST ไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ใน spinal cord glutamate transport sites ก็ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับ progressive muscular atrophy และ control อื่นๆ^(70,71) อย่างไรก็ตามการศึกษา gene ที่ คุม transporter ไม่มีความแตกต่างใน ALS และคนปกติ⁽⁷²⁾ มีผู้ศึกษาส่วนหนึ่งเชื่อว่า abnormal transport อาจเกิดตามหลังความผิดปกติของ Energy metabolism⁽⁷³⁾ หรือ neural injury และในแง่ของการศึกษาที่ glutamate receptor พบว่า gene ที่ คุม Glutamate R5 subunit ของ NMDA receptor นั้น อยู่ที่ chromosome 21 g 21.1-22.1 ซึ่งอยู่ใกล้กับ SOD gene ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับ familial

ALS⁽⁷⁴⁾ ดังที่จะกล่าวในหัวข้อถัดไป ถึงแม้จะสามารถพิสูจน์ว่า GluR₅ ไม่มีความเกี่ยวข้องกับ Familial ALS แต่อาจพบ gene ของ Glu R family อื่น ๆ ที่เป็น candidate gene ของ ALS AMPA receptor นั้น ก็เป็นที่ศึกษากันในผู้ป่วย motor neuron disease เนื่องจากพบว่า neuroleptism นั้นเกิดจาก expose to BOAA ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น AMPA agonist⁽⁷⁵⁾ แล้ว ยังพบ increase binding to AMPA และ kainate receptor ใน spinal cord ผู้ป่วยอีกด้วย⁽⁷⁶⁾ นอกจากนี้มีผู้พบมีความผิดปกติใน ALS คือ Axonal ion channel dysfunction,⁽⁷⁷⁾ glutamate dehydrogenase activity⁽⁷⁸⁾ ฯลฯ

Clinical trial

จากทฤษฎีของ Excitatory amino acid ทำให้เกิดแนวทางการรักษาโรคโดยใช้ยาที่มีฤทธิ์ต้าน glutamate ทั้งที่มีอยู่เดิม และพัฒนายาใหม่ ที่มี mechanism counter glutamate ในจุดต่าง ๆ กัน เพื่อรักษาโรค neurodegenerative disease ต่าง ๆ รวมทั้ง ALS

ตารางที่ 4 แสดงถึงกลไกและยาที่ใช้เพื่อต้าน glutamate ต่างๆ ซึ่งมีบ้างที่มี Clinical trial แล้วใน ALS และบางตัวที่อาจมีการศึกษาต่อไปในอนาคต^(50,51)

ตารางที่ 4. ตำแหน่งที่ใช้ในการต้านฤทธิ์ glutamate ของยาต่าง ๆ

Upstream from glutamate receptor

- decrease glutamate release
 - Adenosine derivative, catecholamine
 - Na channel blockers (Phenytoin)
 - Riluzole, Lamotigine, Lofarizine
 - VGCCs antagonist-nimodipine
- increase glutamate destruction
 - BCAA

Glutamate receptor antagonist

- NMDA
 - glutamate binding site - CGS19755
 - glycine binding site - Felbamate
 - polyamine site - Ifenprodil, eliprodil
 - receptor associated ion channel - Mg, Ketamine, Dextromethorphan, Memantine, Remacemide, CNS 1102 MK 801, TCP, PCP
 - Redox modulatory site - Nitroglycerin, Nitroprusside
- AMPA
 - Transmitter site - CNQX, DNQX, NBQX
 - Modulatory protein - GYKI 52466

ยาที่มี Clinical trial ในผู้ป่วย ALS แล้ว มีดังนี้

1. Riluzole

เป็นยาซึ่งล่าสุด FDA approved ให้ใช้เป็น ยารักษา ALS โดยดูเหมือน slow progression ของผู้ป่วย ALS ที่เป็นกลุ่ม bulbar onset จากรายงานของ ALS/Riluzole study group พบว่าสามารถเพิ่ม 1 yr survival rate ในกลุ่ม bulbar onset 73% (11 จาก 15 คน) เมื่อเทียบกับกลุ่ม Placebo 35% (6 จาก 17 คน) ส่วนในกลุ่ม limb onset 1 year survival rate = 74% เทียบกับ placebo 64% และ functional score ต่างๆ พบว่ามี deterioration ช้ากว่าโดยทั่วไป แต่ที่มี statistically significant มีเพียง muscle strength⁽⁷⁹⁾

อย่างไรก็ดี มีผู้ตั้งข้อสงสัยเหตุหลายอย่างเกี่ยวกับการศึกษานี้เช่น การศึกษานี้ผู้ป่วยที่มี bulbar onset

ที่ได้รับ Riluzole มีอายุน้อยกว่า, มีอาการนานกว่า, functional โดยทั่วไปดีกว่ากลุ่มที่ได้ placebo ทำให้ ความเสี่ยงต่ำกว่า ดังนั้นค่าสถิติที่แสดงว่ากลุ่ม bulbar onset respond ดีนั้น อาจเป็นเพราะ prognosis ของกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มนี้ดีอยู่แล้ว⁽⁸⁰⁾ ได้มีผู้ทดลองสร้าง ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่มี bulbar onset ของตัวเอง ให้มีความใกล้เคียงกับกลุ่มคนไข้ ALS ที่มี bulbar onset ที่ได้ Riluzole จาก ALS/Riluzole การศึกษานี้พบว่า อัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกันทั้งที่ไม่ได้รับยา Riluzole⁽⁸¹⁾ นอกจากนี้ยังมีผู้ตั้งข้อสงสัยเกิดอีกหลายคน ถึงข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นในการประเมินผลของการศึกษานี้ ประกอบกับในข้อมูลของกลุ่ม

การศึกษา ALS/Riluzole เอง ก็แสดงว่า mortality rate ในระยะหลังของผู้ป่วย ALS ในการ ศึกษา(น้อยกว่า 1 ปี) ก็ใกล้เคียงกับ control

ประสิทธิภาพของ Riluzole ถึงยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด⁽⁸²⁾

2. Branched-chain amino acid

จากการศึกษาของ Patten (1982) ที่พบว่าซีรั่ม BCAA แปรผกผัน กับ duration ของโรค⁽⁸²⁾ ซึ่งได้มีผู้พยายามอธิบายว่าน่าจะเกิดจาก BCAA กระตุ้น glutamate dehydrogenase ลด glutamate ที่ synaptic cleft ทำให้มี trial เริ่มจาก Pilot trial ของ Plaitakis (1988) ซึ่งคล้ายจะมีผล favorable outcome⁽⁸³⁾ แต่การศึกษาต่อ ๆ มาได้ผลปกติ ทั้งในแง่ outcome และการเปลี่ยนแปลงของ plasma gantarc⁽⁸⁴⁾ โดยเฉพาะกลุ่มการศึกษา Italian ต้อง terminate ก่อนศึกษาจบ เพราะพบ increase mortality ในผู้ป่วยที่ได้ BCAA⁽⁸⁵⁾ อย่างไรก็ตามก็ยังมีการศึกษาที่กว้างใหญ่ ที่ยังไม่ตีพิมพ์อยู่ ที่ทำโดยกลุ่ม Scientific Pan-European collaboration in Amyotrophic Lateral sclerosis ซึ่งต้องติดตามผลต่อไป⁽⁸⁶⁾

3. Dextromethorphan

การศึกษาที่ใช้ low dose dextromethorphan ไม่มี significant difference⁽⁸⁷⁾ อย่างไรก็ตามก็มีการศึกษาที่ใช้ large dose กำลังดำเนินการอยู่^(88,89)

4. Lamotrigine

ใน trial โดย Eisen 1993 ไม่พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับ control⁽⁹⁰⁾

III. Free radical theory

จากที่ทราบว่าเป็น Free radical ซึ่งคือ any species capable of independent existence that contains one a more unpaired electrons บางชนิด สามารถทำให้เกิด tissue destruction ได้โดย ทำให้เกิด oxidative damage ต่อ lipid, protein และ nucleic acid ได้มีผู้นำมาอธิบาย neuronal death ที่เกิดจากภาวะต่าง ๆ ใน neurodegenerative disease⁽⁹¹⁻⁹³⁾ ซึ่งรวมทั้ง ALS⁽⁹⁵⁾ โดยสมมุติฐานว่าภาวะ oxidative stress นั้นอาจมีผล

มาจาก

- increase free radical production เช่นเป็นผลตามมาของ glutamate overactivity, exposure to heavy metal or neurotoxin ต่างๆ
- impair antioxidant activity จากการขาดหรือทำงานผิดปกติของ free radical scavenging enzyme (ซึ่งได้แก่ superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, catalase) ascorbic acid, vitamin E, glutathione หรือความผิดปกติของ mitochondria

หลักฐานแสดงถึงความสัมพันธ์ ของ Oxidative stress และ ALS คือ

1. มีการพบ mutation ใน Cu/Zn SOD gene บน chromosome 21 ใน 10-20 % ของ autosomal dominant⁽⁹⁶⁾ familial ALS ซึ่งนับเป็น 10 % ของ ALS ทั้งหมด และใน transgenic mouse ที่มี mutant Human SOD ก็มีอาการคล้าย motor neuron disease.⁽⁹⁹⁾

2. จากการศึกษา SOD activity ใน lymphoblastoid cell พบว่า ผู้ป่วย FALS ที่มี SOD mutation มี activity ต่ำกว่า FALS ที่ไม่มี mutation sporadic ALS, และ normal⁽⁹⁷⁾

3. Total SOD activity ใน brain และ spinal cord ผู้ป่วย sporadic ALS ไม่แตกต่างจาก control แต่เมื่อศึกษาโดย immunohistochemical strain โดย anti Cu/Zn SOD, และ Mn SOD พบว่า ใน ALS neuronal cell straining น้อยกว่า control⁽⁹⁸⁾

4. พบว่าใน sporadic ALS มี SOD mRNA level increase 42 % ใน α motor neuron เทียบกับ control⁽¹⁰⁰⁾

5. จากการศึกษา serial glutathione peroxidase (GPX) ในซีรั่มของผู้ป่วย MND พบว่ามีการลดลงของ GPX activity ซึ่งอาจเป็นผลตามมาของการเพิ่ม free radical activity⁽¹⁰¹⁾

6. การศึกษาใน anterior horn cell พบว่า total SOD activity ผู้ป่วย ALS น้อยกว่า control โดย Cu/Zn SOD ใน ผู้ป่วย ALS จะต่ำกว่า แต่ Mn SOD จะสูงขึ้นแทน ทำให้ % Mn SOD ต่อ total SOD สูงขึ้นในผู้ป่วย ALS⁽⁹⁴⁾

อย่างไรก็ดีความสัมพันธ์ของ SOD กับ ALS ยังไม่เป็นที่สรุป อาจเป็นได้ว่า SOD ที่ผิดปกติเป็นเพียงตัวช่วยให้ความผิดปกติที่ถูกกระตุ้นจากสาเหตุอื่น แสดงออกได้ง่ายขึ้น ปัจจุบันการศึกษาพยายามหาความผิดปกติของ free radical scavenger enzyme อื่น ๆ อยู่

Clinical trial

การรักษาที่สืบเนื่องจากทฤษฎีของ free radical มีหลายอย่าง⁽¹⁰²⁾ ทั้ง Augmenting antioxidant enzymes (SOD, catalase Glutathione peroxidase) Preventive antioxidant - Deferoxamine, Probuco, Salicylate Manital, Lararoid (21-aminosteroids), Allopurinol ฯลฯ ที่มี trial ใน ALS ได้แก่

1. Seligiline ซึ่งเป็น selective MAOB inhibitor ที่มี antioxidative stress effect ใน double bind cross-over-trial โดย ALS research foundation พบ possible benefit

2. N-acetylcysteine จากการศึกษาของ De Jong 1988 พบว่า subcutaneous injection โดย 5% N-acetylcysteine หรือ 5.85% N-acetylmethionine ไป 6 เดือน มี modest clinical improvement ต่อมา Elisabeth 1995 ไม่พบว่า acetylcysteine สามารถเพิ่ม survival ที่ 12 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม เมื่อ subgroups analysis พบว่ากลุ่มที่มี limb onset ได้ผลดีกว่า กลุ่มที่มี bulbar onset

IV. Neurotrophic factor

Neurotrophic factor คือ molecules ที่จำเป็นสำหรับ survival และ development ของ neurons ทั้งใน embryonic stages และ adulthood.⁽¹⁰⁵⁾ Neurotrophic factor ตัวแรกที่ถูกพบ คือ Nerve growth factor (NGF) ซึ่งตั้งแต่ 40 ปีก่อนพบว่าช่วยใน survival ของ sympathetic และ sensory neuron ของ PNS และเวลาต่อมา พบว่ามีผลต่อ Cholinergic neuron ที่ basal forebrain ของ CNS ด้วย⁽¹⁰⁶⁻¹⁰⁷⁾ นอกจากนี้เมื่อ NGF ถูกทำลายโดย Antibody ทำให้ neuronal death เพิ่มขึ้น จากคุณสมบัติดังกล่าวของ NGF ทำให้เริ่มมีผู้สนใจกันทำ Neurotrophic factor อื่น ๆ ซึ่งมีผลต่อ cell type ชนิดแตกต่างกัน ตัวอย่างของ neurotrophic factor⁽¹⁰⁸⁻¹¹¹⁾ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5. ตัวอย่างของ neurotrophic factors

Neurotrophins

- Nerve growth factor(NGF)
- Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)
- Neurotrophin 3 (NT-3)
- Neurotrophin 4/5 (NT-4/5)
- Neurotrophin 6 (NT-6)

Ciliary neurotrophic factor (CNTF)

Insulin and Insulinlike growth factor IGF-I, IGF-II

Fibroblast growth factor - acidic (aFGF),basic (bFGF)

Epidermal Growth factor

- Epidermal Growth factor (EGF)
- Transforming growth factor α (TGF- α)
- Schwannon-derivated growth factor (SDGF)

Leukemia inhibitory factor (LIF)

Tumor growth factor β family (TGF β)

- Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)

Platelet-derived growth factor (PDGF)

จากคุณสมบัติที่ช่วยในการดำรงอยู่ของ neuron ทำให้มีผู้เชื่อว่าการขาด Neurotrophic factor เป็นสาเหตุของ neurodegenerative disease ต่าง ๆ แต่ นอกจาก familial dysautonomia ที่พบว่าเกี่ยวข้องกับ NGF deficiency แล้ว ไม่พบภาวะการขาด neurotrophic factor ในโรค neurodegenerative อื่นรวมทั้ง ALS⁽¹¹²⁾

อย่างไรก็ดีได้มีผู้พยายามนำ neurotrophic factor มาใช้ในโรค neurodegenerative ต่าง ๆ^(112,113) สำหรับใน ALS นั้น neurotrophic factor ที่นำมาทดลองคือกลุ่มที่ promote survival ของ motor neuron ซึ่งได้แก่ CNTF, BDNF, NT 4-5, IGF-1, FGF2, FGF-5, GDNF ซึ่งจะได้กล่าวที่ละตัวถัดไป

1. Neurotrophin group

ถึงแม้ในระยะหลังจะพบว่า NGF มีคุณสมบัติต่อเซลล์ในหลายระบบของร่างกาย⁽¹¹⁴⁾ ก็ไม่พบว่า NGF มีผลต่อ motor neuron อย่างไรก็ตาม neurotrophic ตัวอื่นใน family neurotrophin ซึ่งมี structure ใกล้เคียงกันมากกว่า 50 % แต่จับคนละ subtype ของ tyrosine protein kinase (trK) receptor นั้นสามารถกระตุ้นการเจริญของ motor neuron ได้ ทำให้เป็นตัวเลือกใน clinical trial ของผู้ป่วย ALS

1.1 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

พบในปี 1982 มีผลต่อเนื้อเยื่อหลายชนิด มี level ของ BDNF messenger RNA สูงที่สุดใน hippocampus, cortex และ cerebellum มี trk B เป็น

signaling receptor⁽¹¹⁵⁾ จากในสัตว์ทดลองพบว่าช่วยลดภาวะ axotomy induced cell death ของ motor neuron ในหนู^(116,117) ลดการตายของ motor neuron ในช่วง developing ของ avian⁽¹¹⁸⁾ ในสัตว์ทดลองที่ทำให้เกิด MND การให้ BDNF ลด progress ของ motor dysfunction ได้⁽¹¹⁹⁾ ส่วนในคนนั้น preliminary phase I-II แสดงผลการรักษาที่ดี⁽¹²⁰⁾

1.2 NT-4/5 และ NT 3

พบว่า promote survival ของ cultured embryonic rat motor neuron และเมื่อศึกษาที่ motor neuron ก็ express trk B และ trk C ซึ่งมี high affinity ต่อ neurotrophin กลุ่มนี้ทำให้เป็นกลุ่มที่อาจมี clinical trial ในอนาคต

2. Ciliary neurotrophic factor (CNTF)

สกัดได้จาก chick ocular tissue และจาก rabbit sciatic nerve พบว่า support survival ของ ciliary neuron ใน culture⁽¹²¹⁾ คุณสมบัติสำคัญคือไม่มี signal sequence แสดงว่าการ release CNTF อาจ cell injury และ receptor ของ CNTF พบว่าคล้าย receptor ของ IL-6^(108,115)

หลักฐานที่ทำให้เชื่อว่า CNTF อาจใช้รักษา motor neuron disease⁽¹²¹⁾ ได้คือ

1. CNTF support survival of cultured motor neuron
2. recombinant CNTF promote survival of motor neuron ใน chick embryo ระหว่าง period of naturally occurring cell death⁽¹²²⁾
3. CNTF prevent cell death of facial motor neuron after axotomy⁽¹²³⁾
4. CNTF induces motor neuron terminal sprouting in normal adult mice
5. Disruption of CNTF gene ทำให้เกิด progressive motoneuropathy in rats⁽¹²⁴⁾
6. CNTF ป้องกันการตายของ facial motor

neuron ใน pmn/pmn mouse model of progressive motor neuropathy⁽¹²⁵⁾

7. การศึกษา histological effect ของ CNTF ต่อ Wobber mouse motor neuron disease พบว่า slow neuronal degeneration, enhanced axonal regeneration ที่ proximal และ distal motor axon และลด muscle atrophy ใน ALS⁽¹²⁶⁾

8. พบ CNTF receptor ใน expression ใน spinal cord และ motor cortex ของ ผู้ป่วย ALS⁽¹²⁷⁾ Linical trial โดยใช้ CNTF ตั้งแต่ phase I-II ก็เริ่มพบ adverse effect⁽¹²⁸⁾ คือ herpes simplex labialis แต่ก็มี report ว่าพบเท่ากับ incidence ของ herpes simplex labialis ใน placebo groups เมื่อทำ phase III พบว่า adverse effect มากจนยอมรับไม่ได้⁽¹²⁰⁾ อาการคล้ายกับ cytokine syndrome คือ fever, chill, weight loss เชื่อว่าอาจเพราะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ IL₆

3. Insulin like growth factor

Insulin like growth factor หรือ somatomedin คือ peptide ที่มี structure และ function ใกล้เคียงกับ insulin IGFs จะ circulate โดย bound กับ binding protein(IGFBP₃) เพิ่ม biological Half-life of IGFs พบ receptor ของ IGFs ทั่วไปทั้ง CNS และ PNS⁽¹²⁹⁾ ในสัตว์ทดลอง IGF-1 ช่วย survival ของ motor neuron ใน wobber mouse motor neuron disease⁽¹³⁰⁾ และ ในผู้ป่วย ALS ก็พบ expression ของ IGF-1 receptor ใน spinal cord⁽¹²⁹⁾ การทดลองใช้ rh IGF-I ในคนพบว่ามี minimal adverse effect และจาก large trial ใน ALS ที่ North American และ Europe ได้ผลดี

ใน trial ของ North American ผู้ป่วย sporadic ALS 266 คน ได้รับ rh IGF-1 0.05-0.10 mg/kg /d subcutaneous injection หรือ placebo for 9 month พบว่า change total score of ALS rating scale และ secondary efficacy เช่น sickness impact profile

และ Clinical global impression (CGI) ดีขึ้น ผลมี dose related และเมื่อ random เปรียบเทียบระยะเวลา ก่อนตายก็พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลของ European trial ก็ได้ผลในทางเดียวกัน⁽¹²⁰⁾

4. Glial cell line-Derived Neurotrophic factor

ยังไม่มี clinical trial แต่เนื่องจากมี biological activity ที่ potent กว่า neurotrophic factor อื่น ๆ จึงเป็นสารที่มีการวางแผนที่จะทำ trial ใน ALS⁽¹²⁰⁾

V. Other theories

นอกจากที่กล่าวไปแล้ว ยังมีอีกหลายทฤษฎี เช่น

- Retrovirus, slow virus
- Metabolic abnormality
- Heavy metal exposure
- Exogenous toxin

ซึ่งรายละเอียดจะไม่ของกล่าวถึงในรายงานนี้

สรุป

ALS ปัจจุบันพบทฤษฎีหลายอย่างที่อาจเป็นสาเหตุของ ALS แต่ยังไม่มียทฤษฎีใดที่มีหลักฐานสนับสนุนเพียงพอที่จะยอมรับว่าเป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดใน ALS ทฤษฎีของ Autoimmune แม้มีหลักฐานสนับสนุนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ว่ามีความสัมพันธ์กับ ALS แต่การรักษาโดยเปลี่ยนแปลงภาวะทางภูมิคุ้มกันยังไม่พบว่ามียผลต่อการดำเนินโรค ทฤษฎี excitatory amino acid มีหลักฐานสนับสนุน และมียาที่สืบเนื่องจากทฤษฎีนี้ที่อาจได้ผลในผู้ป่วย ทำให้อาจมีการทดลองยาอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ในผู้ป่วย ALS อีกในอนาคต Free radical theory อาจอธิบายผู้ป่วย familial ALS ได้ ส่วนหนึ่งแต่ไม่ทั้งหมด และ neurotrophic factor ที่ถึงแม้ไม่พบความสัมพันธ์กับกลไกการเกิดโรค แต่พบว่าอาจใช้เปลี่ยนแปลงการดำเนินโรคได้ โดยรวมแล้ว อาจเป็นไปได้ว่าสาเหตุของ ALS เป็น multifactorial และการรักษาอาจจำเป็นต้องใช้ยาหลาย ๆ กลุ่มร่วมกัน ALS ยังมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาต่อไป

อ้างอิง

1. Appel SH; Stockton-Appel V, Stewart SS, Kerman RH. Amyotrophic lateral sclerosis : Associated clinical disorders and immunologic evaluations. Arch Neurol 1986 Mar;43(3):234-8
2. Younger DS, Rowland LP, Lator N, Hays AP, Lange DJ, Sherman W, Inghirami G, Pesce MA, Knowles DM, Powers J, Miller JR, Fetell MR, Lovelace RE. Lymphoma, motor neuron diseases, and amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol 1991 Jan;29(1):78-86
3. Norris FH, Burns W, Kwei SU, Mukai E, Norris H. Spinal fluid cells and protein in amyotrophic lateral sclerosis. Arch Neurol 1993 May ;50 (5):489-91
4. Engelhardt JI, Appel SH. IgG reactivity in the spinal cord and motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis. Arch Neurol 1990 Nov;47(11):1210-6
5. Appel SH, Smith RG, Engelhardt JI, Stefani F. Evidence for autoimmunity in amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Sci 1994 Jul;124 (Suppl):14-9
6. Engelhardt JI, Jajti J, Appel SH. Lymphocytic infiltration in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. Arch Neurol 1993 Jan 50 (1):30-6
7. Kawamata T, Akiyama H, Yamada T, Mc Geer PL. Immunologic reaction in amyotrophic lateral sclerosis brain and spinal cord. Am J Pathol 1992 Mar; 140(3):691-707

8. Engelhardt JI, Appel SH, Killian JM. Experimental autoimmune motor neuron disease. *Ann Neurol* 1990 Sep;26(3): 368-76
9. Engelhardt JI, Appel SH, Killian JM. Motor neuron destruction in guinea pigs immunized with bovine spinal cord ventral horn homogenate : experimental autoimmune gray matter disease. *J Neuroimmunol* 1990 Apr;27 (1):21-31
10. Tajti J, Appel SH, Stefani E. Cyclophosphamide alters the chemical and pathological expression of experimental autoimmune gray matter disease. *J Neuroimmunol* 1991 Mar;34(2-3): 143-51
11. Garcia J, Engelhardt JI, Appel SH. et al. Increased MEPP frequency as an early sign of experimental immunemediated motor neuron disease. *Ann Neurol* 1990 Sep;28(3):329-34
12. Wolfgram F, Myers L. Amyotrophic lateral sclerosis: Effect of serum an anterior horn cells in culture. *Science* 1973 Feb 9; 179(4073):579-80
13. Doherty P, Dickson JG, Flanigan TP, Kennedy PGE, Walsh FS. Effects of amyotrophic lateral sclerosis serum on cultured chick spinal neurons. *Neurology* 1986 Oct;36(10):1330-4
14. Touzeau G, Kato AC. ALS serum has no effect on three enzymatic activities in cultured human spinal cord neurons. *Neurology* 1986 Apr;36(10):573-6
15. Westall JW, Jablecki F. Increased red cell fragility may account for elevated plasma lead levels in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1981;31(part2): 90
16. Ronnevi LO, Conradi S, Nise G. Further studies on the erythrocyte uptake of lead in vitro in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients and controls- abnormal erythrocyte fragility in ALS. *J Neurol Sci* 1982 Nov - Dec;57(1):143-56
17. Conradi S, Ronnevi LO. Cytotoxic activity in plasma of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients against normal erythrocytes: quantitative determinations. *J Neurol Sci* 1985 May;68(2-3):135-45
18. Conradi S, Ronnevi LO. Effect of immunosuppression on cytotoxic activity in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neuropharmacol* 1987 Jun;10(3): 280-6
19. Overgaard K, Werdelin L, Sorensen H, Moyensen P, Boysen G. Cytotoxic activity in plasma from patients with amyotrophic lateral sclerosis *Neurology* 1991 Jun;41(6):925-7
20. Shy ME, Rowland LP, Smith T, et al. Motor neuron disease and plasma cell dyscrasia. *Neurology* 1986 Nov; 36(11): 1429-36
21. Younger DS, Rowland JP, Lator N, Sherman WH, Pesci M, Trojaborg W, Miller JR, Lovelace RE, Itayes AP, Kim IS. Motor neuron disease and amyotrophic lateral sclerosis: relation of

- high CSF protein content to paraproteinemia and clinical syndromes. *Neurology* 1990 Apr;40(4):595-9
22. Shy ME, Rowland LP, Smith T, Trojaborg W, Lator N, Sheman W, Pesce MA, Lovelace RE, Osserman EF. Motor Neuron disease and plasma cell dyscrasia. *Neurology* 1986 Nov;36(11):1429-36
23. Shy ME, Evans VA, Lubin FD, et al. Antibodies to GM₁ and GD_{1b} antibodies in patients with motor neuron disease without plasma cell dyscrasia. *Ann Neurol* 1989 May;25(5):511-3
24. Pestronk A, Adams RN, Clawson L, Cornblath D, Kuncel RW, Griffin D, Drachman DB, Serum antibodies to GM₁ ganglioside in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1988 Sep;38(9):1457-61
25. Pestronk A, Adams RN, Cornblath D, Kuncel RW, Drachman DB, Clawson L, Patterns of serum IgM antibodies to GM₁ and GD_{1a} gangliosides in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1989 Jan;25(1):98-102
26. Pestronk A. Invited review. Motor neuropathies, motor neuron disorders, and antiglycolipid antibodies. *Muscle Nerve* 1991 Oct; 14(10):927-36
27. Corbo M, Quattrini A, Lugaresi A, Santoro M, Lator N, Hays AP, Pattern of reactivity of human Anti-GM₁ antibodies with spinal cord and motor neurons. *Ann Neurol* 1992 Oct ;32(4):487-93
28. Uchite UD, Scornik F, Protti DA, Fumberg CG, Alvarez V, Appel SH. Longterm neuromuscular dysfunction produced by passive transfer of amyotrophic lateral sclerosis immunoglobulin. *Neurology* 1992 Nov;42(11):2175-90
29. Smith RG, Hamilton S, Hofmann F, Schneider T, Nastainczyk W, Birnbaumer L, Stefani E, Appel SH. Serum antibodies to L-Type calcium channels in patients with Amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med* 1992 Dec 10; 327(24):1721-8
30. Kimura F, Smith RG, Delbono O, Nyormoi O, Schneider T, Nastainczyk W, Hofmann F, Stefan E, Appel SH. Amyotrophic lateral sclerosis patient antibodies label Ca²⁺ channel α 1 subunit. *Ann Neurol* 1994 Feb;35(2):164-71
31. Mosier DR, Baldelli P, Delbono O, Smith RG, Alexianer ME, Appel SH, Stefani E, Amyotrophic lateral sclerosis immunoglobulins increase Ca²⁺ currents in a motoneuron cell line. *Ann Neurol* 1995 Jan; 37(1):102-9
32. Smith RG, Kimara F, Harati Y, Mckinley K, Stefani E, Appel SH. Altered muscle calcium channel binding kinetics in autoimmune motor neuron disease. *Muscle & Nerve* 1995 Jun;18(6):620-7
33. Rowland LP. Amyotrophic lateral sclerosis and autoimmunity (Editorial) *N Engl J Med* 1992 Dec;327(24):1752-3
34. Greenberg DA, Calcium channels and

- neuromuscular disease (Editorial) *Ann Neurol* 1994 Feb;35(2):131-2
35. Brown RH, Hauser SL, Harrington H, Weiner HL. Failure of immunosuppression with a 10 - to 14 day course of high-dose intravenous cyclophosphamide to alter the progression of amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 1986 Apr; 43(4): 383
 36. Werdelin L, Boysen G, Jensen TS, et al. Immunosuppressive treatment of patient with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1990 Aug;82(2):132-4
 37. Dalakas MC, Stein DP, Otcro C, Sckul E, Cupler EJ, McCrosky S. Effect of high-dose intravenous, immunoglobulin on amyotrophic lateral sclerosis and multifocal motor neuropathy. *Arch Neurol* 1994 Sep;51(8):861-4
 38. Bradley WG, Hedlund W, Cooper C, Desousa GT, Gabbai A, Mora JS, Munsat TL, Scheife R. A double-blind controlled trial of bovine brain gangliosides in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1984 Aug; 34(8):1079-82
 39. Harrington H, Hallett M, Tyler HR. Ganglioside therapy for amyotrophic lateral sclerosis. A double-blind controlled trial. *Neurology* 1984 Aug;34(8): 1083-5
 40. Appel SH, Stewart SS, Appel V, et al. A double-blind study of the effectiveness of cyclosporine in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 1988 Apr;45(4): 381-6
 41. Drachman DB, Chaudhry V, Cornblath D, Kuncel RW, Pestronk A, Clawson L, Mellits ED, Quaskey S, Quinn T, Calkin A, Order S. Trial of immunosuppression in amyotrophic lateral sclerosis using total lymphoid irradiation. *Ann Neurol* 1994 Feb;35(2):142-50
 42. Haverkamp LJ, Smith RG, Appel S. Trial of immunosuppression in amyotrophic lateral sclerosis using total lymphoid irradiation. *Ann Neurol* 1994 Aug; 36(2):253-4
 43. Lucas DR, Newhouse JP. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *Arch Ophthalmol* 1957 Aug;58(2):193-201
 44. Olney JW, Sharpe LG. Brain lesion in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate. *Science* 1969 Oct;166(3904):386-8
 45. Olney JW. Glutamate-induced neuronal necrosis in infant mouse hypothalamus: an electron microscopic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1971 Jan; 30(1):75-90
 46. Choi DW. Cerebral hypoxia: some new approaches and unanswered question, *J Neurosci* 1990 Aug;10(8):2493-501
 47. Choi DW. Methods for antagonizing glutamate neurotoxicity. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1990;2(2):106-47
 48. Patten BM. Excitatory amino acid transmitters. In : Williams AC. *Motor Neuron*

- Disease. Chapman & Itall, London.
p 477-96
49. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med* 1994 ; 330(9):613-22
50. Greenamyre JT, Porter RHP. Anatomy and physiology of glutamate in the CNS *Neurology* 1994 Nov;44 (Suppl 8):S7-S13
51. Dagan LL, Choi DW. Excitotoxicity Free Radicals and cell membrane changes *Ann Neurol* 1994;35 (Suppl):S17-S21
52. Dubinsky JM, Rothman SM. Intracellular calcium concentrations during "chemical hypoxia" and excitotoxic neuronal injury. *J Neurosci* 1991 Aug;11 (8):2545-51
53. Horowski R, Wachtel H, Turski L, Loschmann PA. Glutamate excitotoxicity as a possible pathogenetic mechanism in chronic neurodegeneration. In: Calne DB. *Neurodegenerative Disease*, 1st edition. WB Saunders Company, Pennsylvania 1994:163-75
54. Patten BM, Harati V, Acosta L, et al. Free amino acid levels in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1978 Apr;(4):305-9
55. Plaifakis A, Caroscio JT. Abnormal glutamate metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1987 Nov; 22:(5):575-9
56. Perry TL, Krieger C, Hansen S, Eisen A. Amyotrophic lateral sclerosis: amino acid levels in plasma and cerebrospinal fluid. *Ann Neurol* 1990 Jul;28(1):12-7
57. Camu W, Billiard M, Baldy-Moulinier M. Fasting plasma and CSF amino acid levels in amyotrophic lateral sclerosis: a subtype analysis. *Acta Neurol Scand* 1993 Jul;88(1):51-5
58. Meier DH, Schott KJ. Free amino acid pattern of cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1988 Jan;77(1):50-3
59. Rothstein JD, Tsai G, Kuncl RW, Clawson L, Cornblath DR, Drachman DB, Pestronk A, Stauch BL, Coyle JT. Abnormal excitatory amino acid metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1990 Jul;28(1):18-25
60. Young AB. What's the excitement about excitatory amino acids in amyotrophic lateral Sclerosis. *Ann Neurol* 1990 Jul; 28(1):9-11
61. Rothstein JD, Kuncl R, Chaudhry V, Clawson L, Cornblath DR, Coyle JT, Prachman DB. Excitatory amino acids in amyotrophic lateral sclerosis. An Update. *Ann Neurol* 1991 Aug;224-5
62. Patten BM, Kurlander HM, Evans B. Free amino acid concentrations in spinal tissue from patients dying of motor neuron disease. *Acta neurol scandinav* 1982 Nov;66(5):594-9
63. Perry TL, Hansen S, Jones K. Brain glutamate deficiency in amyotrophic lateral sclerosis, *Neurology* 1987 Dec;

- 37(12):1845-8
64. 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 Sep ;24(3): 446-9
65. Spink DC, Martin DL. Excitatory amino acids in amyotrophic lateral sclerosis (letter). *Ann Neurol* 1991 Jan;29(1):110
66. Ferrarese C, Pecora N, Friyo M, Appolloni I, Frattola L. Assesment of reliability and biological significance of glutamate levels in cerebrospinal fluid. *Ann Neurol* 1993 Mar; 33(3):316-9
67. Iwasaki Y, Ikeda K, Shiojma T, Kobayashi T, Kinoshita M. Different plasma glutamate levels in subtype of amyotrophic lateral sclerosis(letter). *Acta Neurol Scand* 1994 May;89(5):404-5
68. Edwards RH. Neural degeneration and the transport of neurotransmitters. *Ann Neurol* 1993 Nov;34(5):638-45
69. Rothstein JD, Martin LJ, Kunal RW. Decreased glutamate transport by the brain and spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis *N Eng J Med* 1992 May 25;326(22):1464-8
70. Rothstein JD, Van Kammen M, Levey AJ, Martin LJ, Kunal RW. Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neuro* 1995 Jul;38(1):73-84
71. Eisen A. Amyotrophic lateral sclerosis is a multifactorial disease *Muscle & Nerve* 1995 Jul;18(7):741-752
72. Mayer T, Lenk U, Kuther G, Weindl A, Speer A, Ludolph AC. Studies of the coding region of the neuronal glutamate transporter gene in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1995 Jun;37(6): 817-9
73. Beal MF, Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses. *Ann Neurol* 1992 Feb ;31(2):119-30
74. Eubaus KS JH, Puranam RS, Kleeker NW, et al. The gene encoding the glutamate receptor subunit Glu R5 is located on human chromosome 21 g 21.1-22.7 in the vicinity of the gene for amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 Jun 1;90 (1):178-82
75. Nakamara R, Kamakura K, Kwak S. Late onset selective damage in the rat spinal cord induced by continuous intrathecal admimistration of AMPA. *Brain Res* 1994 Aug 22;654(2):279-285
76. Shaw PJ, Chinnerry RM, Ince PG : Non NMDA receptors in motor neuron disease (MND) a quantitative autoradiographic study in spinal cord and motor cortex usiny ³(H) CNQX and ³(H) kainate. *Brain Rer* 1994 Aug 29;655 (1-2):186-94
77. Bostrock H, Sharief MK, Reid G, Marray NMF. Axonal ion channel dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 1995

- Feb ; 118(Pt-1):217-25
78. Malessa S, Leigh PN, Bertel O, Sluga E, Itornykiewicz O. Amyotrophic lateral sclerosis; glutamate dehydrogenase and transmitter amino acid in the spinal cord. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991 Nov;54(11):984-8
79. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V and the ALS/Riluzole study group A controlled trial of Riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med* 1994 Mar 3 ;330(9): 585-91
80. MacRae K. Riluzole in amyotrophic lateral sclerosis (letter) *N Engl J Med* 1994 Jul 28 ;331(4):272-3
81. Murphy JR. Riluzole in amyotrophic lateral sclerosis (letter) *N Engl J Med* 1994 July 28;331(4):273
82. Rowland LP. Riluzole for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis-Too soon To TELL? (Editorial) *N Engl J Med* 1994 Mar 3 ; 330 (9):636-7
83. Plaitakis A, Smith J, Mandeli J, Yahr MD. Pilot trial of branched-chain amino acids in amyotrophic lateral sclerosis, *The Lancet* 1988:1015-8
84. Greda IO, Moller SE. Effect of branched-chain amino acids on glutamate metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurolo Sci* 1995 Mar;129 (1):40-3
85. The Italian ALS study Group. Branched-chain amino acids and amyotrophic lateral sclerosis : A treatment failure ? *Neurology* 1993 Dec ;43(12):2466-70
86. ORRELL RW, Lane RJM, Guiolff RJ. Recent developments in the drug treatment of motor neurone disease. Nothing works yet. Many potential treatments remain uninvestigated. *BMJ* 1994 Jul 16; 309 : 140-1
87. Appelbaum JS, Salazar-Gruesso EF, Richard JG, et al. Dextromethorphan in the treatment of ALS: a pilot study. *Neurology* 1991; 41(Suppl): 393
88. Hollander D, Pradas J, Kaplan R, et al. Long-term high-dose dextromethorphan in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1992 ;32:201
89. Hollander D, Pradas J, Kaplan R, Mcleod HL, Evaes WE, Mumsat T. High-dose dextromethorphan in amyotrophic lateral sclerosis : phase I safety and pharmacokinetics studies. *Ann Neurol* 1994 Dec; 36(6):920-4
90. Eisen A, Stewart H, Schulzer M, et al. Anti-glutamate therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a trial using lamotrigine. *Can J Neurol Sci* 1993;Nov 20(4):297-301
91. Jenner P. Oxidative damage in neurodegenerative disease. *Lancet* 1994 Sep 17; 334(8925):796-8
92. Al-Chalab IA, Powel JF, Leigh PN. Neurofilaments, free radicals, excitotoxins, and amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & Nerve* 1995 May ;18(5):540-5
93. Cohen G, Werner P. Free radical, oxidative stress, and neurodegenerative disease, 1st edition W.B. Saunders Company

- Pensylvania 1993;139-162
94. Fitzmaurice PS, Shaw IC, Mitchell JD. Alteration of superoxide dismutase activity in anterior horn in motor neuron disease patient. *J Neurolo Sci* 1995 May; 129(Suppl):96-8
 95. Bergeron C. Oxidative Stress: Its role in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurolo Sci* 1995;(129 Sup): 81-4
 96. Deng HX, Hentati A, Tainer JA, Iqbal Z, et al. Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu/Zn superoxide dismutase. *Science* 1993 Aug 20;261: 1047-51
 97. Garotolo O, Figlewicz DA, Thomas SM, Butler R, LeBuis L, Roaleau G, Meininger V, Leigh PN. Superoxide dismutase activity in lymphoblastoid cells from motor neuron disease/amyotrophic lateral sclerosis (MND/ALS) patient. *J Neurolo Sci* 1995 May;129(Suppl):90-2
 98. Uchino M, Ando Y, Tanaka Y, Nakamura T, Uyama E, Mita S, Murakami T, Ando M. Decrease in Cu/Zn and Mn-superoxide dismutase activities in brain and spinal cord of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Science* 1994 Dec 1; 127(1): 61-7
 99. Gurney ME, Pu H, Chia AY, et al. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu/Zn superoxide dismutase mutation. *Science* 1994 Jun 17;264(5166): 1172-5
 100. Bergeron C, Muntasser S, Somerville MJ, Weyer L, Percy ME. Copper/zinc superoxide dismutase mRNA levels are increased in sporadic amyotrophic lateral sclerosis motor neurons. *Brain Res* 1994 Oct 3;659(1-2):272-6
 101. Mitchell JD, Gatt JA, Phillips TM, Honyton E, Rostron G, Wignall C. Cu/Zn superoxide dismutase free radicals, and motor neuron disease. *Lancet* 1993 Oct 23; 342(8878):1051-2
 102. Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. (Review). *Drugs* 1995 Mar;49(3):345-61
 103. Mitsumoto. New Therapeutic approaches: rationale and results. In : Leigh PN, Swash M, (eds). *Motor neuron disease: Biology and Management*. Springer-Verlag, London 1995: 419-32
 104. Louwese ES, Weverling GJ, Bossuyt PM, Meyjes FER, DeJong JMB. Randomized, double-blind, controlled trial of acetylcysteine in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 1995 Jun; 52(6): 559-64
 105. Tuszynski MH, Gage FH. Neurotrophic factors and disease of the nervous system. *Ann Neurol* 1994;35(Suppl): S9-S12
 106. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987 Sep 4; 237(4819):1154-62
 107. Tuszynski MH, U HS, Gage FH. Recombinant human nerve growth factor infusions, prevent cholinergic neuronal degeneration in the adult primate brain.

- Ann Neurol 1991 Nov;30 (5):625-36
108. Holtzman DM, Mobley WL. Neurotrophic factors and neurologic disease. *West J Med* 1994 Sep ;161(3):246-54
109. Hefti F. Growth factors and neurodegeneration. In: Calne DB, Neurodegenerative disease. W.B. Saunders Company, Pennsylvania 1993: 177-94
110. Nishi R, Eckenstein FP. Trophic factors. In : William AC. Motor neuron disease. Chapman & Hall, London 1994: 553-66
111. Martin JE. Neurotrophic factors and Neurodegeneration. In: Leigh PN, Swash M. Motor neuron Disease: Biology and Management Springer-verlay, London 1995:241-58
112. Drago J, Kilpatrick TJ, Koblar SA, Talman PS. Growth factors: potential therapeutic application in neurology. *J Neuro Neurosurg Psychiatry* 1994 Dec;57(12): 1445-50
113. Barinaga M. Neurotrophic factor enter the clinic. *Science* 1994 May 6; 264 (5160): 772-74
114. Levi-Montalcini R, Toso RD, Valle FD, Skaper SD, Leon A. Update of the NGF saga. *J Neurol Sci* 1995 May: 130(1): 119-27
115. Ip NY, Yancopoulos GD. Neurotrophic factors and their receptors. *Ann Neurol* 1994;35(Suppl):S13-S16
116. Yan Q, Eilliot J, Snider WD. Brain-derived neurotrophic factor rescues spinal motor neurons from axotomy- induced cell death. *Nature* 1992 Dec 24-31; 360(6406): 753-5
117. Sendtner M, Holtmam R, Kolbeck R, Thoenen H. Barde Y-A. Brain-derived neurotrophic factor prevents the death of motoneurons in newborn rats after nerve section. *Nature* 1992 Dec 24-31;360(6406): 757-9
118. Oppenheim RW, Qin-Wei Y. Prevetete D, Yare Q. Brain-derived neurotrophic factor rescues developing avian motor-neurons from cell death. *Nature* 1992 Dec 24-31;360(6406):755-7
119. Ikeda K, Klinkos ZB, Greene T, Cedarbaum JM, Wong V. Lindsay RM, Misumoto H. Effects of brain-derived neurotrophic factor on motor dysfunction in Wobbler mouse motor neuron disease. *Ann Neurol* 1995 Apr;37(4):505-11
120. Fest off BW. Amyotrophic lateral sclerosis: current and future treatment strategics drugs 1996 Jan; 51(1):28-44
121. Stockli KA, Lottspeich F, Sendtner M, et al. Molecular cloning expression and regional distribution of rat ciliary neurotrophic factor. *Nature* 1989 Dec 21- 28; 342(6252):920-3
122. Oppenheim RW, Prevetete D, Qin-Wei Y, et al. Control of embyonic motor neuron survival in vivo by ciliary neurotrophic factor. *Science* 1991 Mar 29;251 (5001): 1616-8
123. Sedtner MB, Kreutzberg GW, Thoenen H. Ciliary neurotrophic factor prevents the

- degeneration of motor neurons after axotomy. *Nature* 1990 May 31;345(6274): 440-1
124. Matsu Y, Wolf E, Holtman B, et al. Disruption of the CNTF gene results in motor neuron degeneration. *Nature* 1993 Sep 2; 365(6441):27-32
125. Sendtner M, Schmalbruch H, Stockli KA, et al. Ciliary neurotrophic factor prevent degeneration of motor neurons in mouse mutant progressive motor neuropathy. *Nature* 1992 Aug 6; 358(6386): 502-4
126. Keda K, Wong V, Holmlund T, Greene T, Cedarbaum JM, Lindsay RM, Mitsumoto H. Histometric effects of ciliary neurotrophic factor in Wobbler mouse motor neuron disease. *Ann Neurol* 1995 Jan; 37(1): 47-54
127. Duberly RM, Johnson IP, Anand P, Swash M, Martin J, Leigh PN, Zeman S. Ciliary neurotrophic factor receptor expression in spinal cord and motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1995 May; 129(Suppl): 109-113
128. Group AC, T.SAPI-IS. Brooks BR, Sanjak M. et al. Recombinant human ciliary neurotrophic factor (rhCNTF) in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patient phase I-II safety, tolerability and pharmacokinetic studies. *Neurology* 1993; 43(Suppl): A416
129. Festoff BW, Yang SX, Vaught J, Byan C, Ma JY. The insulin-like growth factor signaling system and ALS neurotrophic factor treatment strategies. *J Neurolo Sci* 1995 May; 129 (Suppl): 114-121
130. Hantai D, Akaaboune M, Lagord C, Murawsk YM, Honenou LJ, Festoff BW, Vaught JL, Rieger F, Blondet B. Beneficial effects of insulin-like growth factor-I on Wobbler mouse motor neuron disease. *J Neurol Sci* 1995 May;129 (Suppl):122-6