

## **TRPM7 et TRPM2 – gènes candidats de susceptibilité pour SLA et PD Pacifique Occidentale?**

Meredith C. Hermosura<sup>a\*</sup> et Ralph M. Garruto<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Bekesy Laboratory of Neurobiology, Pacific Biosciences Research Center, University of Hawaii at Manoa, 1993 East-West Road, Honolulu, Hawaii 96822

<sup>b</sup>Laboratory of Biomedical Anthropology and Neurosciences, State University of New York at Binghamton, Binghamton, New York 13902-6000

\*auteur congruente Meredith C. Hermosura Ph.D., Bekesy Laboratory of Neurobiology, Pacific Biosciences Research Center, University of Hawaii at Manoa, 1993 East-West Rd., Honolulu, Phone: +1-808-956-5212, Fax: +1-808-956-6984, email: [meredith@pbrc.hawaii.edu](mailto:meredith@pbrc.hawaii.edu)

►La version finale éditée de l'éditeur de cet article est disponible à [Biochim Biophys Acta](#).

[Publisher's Disclaimer](#)

### **Extrait**

Des résultats récents qui impliquent TRPM7 et TRPM2 dans la morte neurone induite par stress oxydatif, misent ces canaux dans la lumière de jour comme objectifs thérapeutiques possibles pour des maladies neurodégénératives. Dans ce rapport, nous décrivons comment les caractéristiques fonctionnelles de TRPM7 et TRPM2 sont interconnectés avec calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), homéostasie, stress oxydatif, dysfonction mitochondriale, et mécanismes immuns, tous des suspects douteux dans la neurodégénération. Nous focalisons notre discussion sur la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) Pacifique Occidentale, et Parkinsonisme Démence (PD) parce que des études extensives qui sont fait pendant des années, suggèrent fortement que ces maladies sont des candidats idéales pour un modèle d'environnement-gène d'étiologie. L'environnement minérale unique identifié en connexion avec la SLA Pacifique Occidentale et PD -  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  basse, bien que haut dans des métaux de transition, crée une condition qui pourrait endommager le bon fonctionnement de ces deux canaux.

**Mot-clé:** TRPM7, TRPM2, SLA Pacifique Occidentale, Parkinsonisme Démence, stress oxydatif, neurodégénération,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  homéostasie, dysfonction mitochondriale, activation micro gliale

**SLA Pacifique Occidentale et PD**

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA), une maladie fatale caractérisée par la dégénération progressive des neurones moteurs, se trouve parmi les maladies les plus courantes des maladies neurodégénératives adultes on set [1]. Les processus sous-entendus pathogéniques ne sont pas connus, mais on croit qu'ils sont dus à tout un nombre de facteurs contributifs dont la prédisposition génétique, les toxines d'environnement, le calcium cellulaire aberrant et l'homéostasie métal ion, le stress oxydatif, la dysfonction mitochondriale, et les réactions inflammatoires [2,3]. Il y a plus de 50 ans, une apparence anormalement haute de la SLA a été rapportée dans 3 régions géographiquement apartes dans la Pacifique Occidentale : les îles Guam et Rota, le Kii Peninsula de Japon, et sud-ouest New Guinea [4-6]. A Guam, le degré d'apparence de la SLA en 1954 était estimé d'être 50-100 fois plus que l'apparence autours du monde [7]. Une affection reliée, mais seulement neurodégénératives, la parkinsonisme démence (PD), caractérisé par la manifestation de tous les deux parkinsonisme et démence dans le même patient, était aussi dominante dans les mêmes 3 foyers de la SLA Pacifique Occidentale [5-9]. Ces deux maladies peuvent avoir des symptômes cliniques recouvrant, qui se présentent régulièrement ensembles dans les mêmes familles et même dans le même individu, elles peuvent avoir des neurones neurofibrillaires confuses dans le cerveau et la moelle épinière, et elles peuvent être tous les deux progressives et finalement fatales [10-12]. Bien qu'il y a deux visions opposées sur le fait que la SLA et la PD sont des maladies apartes ou des variantes cliniques de la même maladie, il y a une similarité générale que les mécanismes pathogène-bases derrière cette maladie, sont similaires. Vu que le sujet de ce rapport est mécanique de nature, la SLA Pacifique Occidentale et la PD seront considérés comme une (SLA/PD), sauf là où il faut absolument les considérer indépendamment. Les foyers hyper endémiques de la SLA/PD dans la Pacifique Occidentale ont tiré une intéresse considérable parmi les chercheurs médicales et les scientifiques pour un éventail de raisons, parmi laquelle le fait que ces foyers de la SLA/PD sont idéals pour étudier la contribution relative des gènes et de l'environnement dans l'étiologie de maladie parce que chaque foyer se présente dans un environnement certain, limité parmi lequel les 3 différents groupes génétiques homogènes de gens. La SLA/PD est une maladie tragique et un problème de sante public sérieux, et mérite pour cette raison d'être recherché. En plus, les foyers SLA/PD dans ces régions sont des clusters de maladie extrêmement informatifs qui pourraient fournir des guides précieux

pour les mécanismes pathologiques derrière les formes les plus fréquentes et sporadiques de la SLA, Parkinson (PD) et Alzheimer (AD) autour du monde.

En 1956, l'Institut National de Maladies Neurologiques et Amaurose (NINDB) comme c'était appelé à ce moment, de l'Instituts Nationales de Santé (NIH), ont construit un centre de recherche à Guam pour rechercher les aspects cliniques, épidémiologiques, neuropathologiques et génétiques de la SLA/PD. La recherche intensive qui a suivi, n'offrait pas de connaissance claire de l'étiologie de la maladie, mais suggérait néanmoins qu'une collaboration complexe entre la susceptibilité génétique et l'exposition à des facteurs environnementaux septiques était concernée. Des études extensives épidémiologiques identifiaient ensuite deux triggers d'environnement candidats : (1) contenu minérale adapté de la terre et de l'eau potable lié à des métabolismes minérales anormales [13,14]; et (2) toxines de la plante cycad, une source de nourriture traditionnelle à Guam [15,16].

## Les facteurs du milieu

### Contenu minérale changée dans le milieu

Tous les trois les plus hautes foyers d'apparences dans le Pacifique Occidentales étaient rapportés comme ayant des niveaux bas de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), lié à des niveaux hauts de métaux de transition bio disponibles comme manganèse ( $\text{Mn}^{2+}$ ), aluminium ( $\text{Al}^{3+}$ ), et fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Le sol et les rivières dans des régions d'apparences hautes dans le Kii Peninsula semblent contenir des niveaux hauts de  $\text{Mn}^{2+}$  mais de très bas niveaux de  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  [13]. A Guam, l'apparence la plus haute de la SLA/PD pour la partie sud de l'île, la même région où les niveaux  $\text{Ca}^{2+}$  dans le sol et l'eau potable de source traditionnelle était trouvé d'un nombre de 10 à 100 fois plus bas en comparaison avec d'autres régions de l'île.  $\text{Mg}^{2+}$  dans le stock d'eau est comparablement bas, environ un décuple plus bas dans le sud qu'autre part à Guam.[14]. Les niveaux  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  dans les sols et l'eau potable dans les villes d'apparence hautes à New Guina occidentale étaient même plus bas que ceux observés à Guam du sud. [5]. La similarité curieuse de la composition minérale dans ces 3 foyers SLA/PD a mené à la proposition que l'exposition *prolongée* à un tel environnement, pourrait être concernée dans la pathogénèse de la SLA/PD [13]. Cette hypothèse est soutenue par des résultats des métabolismes changés de  $\text{Ca}^{2+}$  et Vitamine D [17]; hypocalcémie et réduction d'accumulation critique [18]; et

l'accumulation de  $\text{Ca}^{2+}$ , et métaux de transition comme  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$  dans le cerveau et la moelle épinière des patients impactés par la SLA/PD à Guam et Kii peninsula [19-23]. Des modèles animaux ont été servi de minéraux changés pour alors simuler les niveau d'environnement observés de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  et  $\text{Al}^{3+}$ , et alors on a démontré l'évidence de homéostasie  $\text{Ca}^{2+}$  changé et la déposition de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  dans le cerveau et la tissu de la moelle épinière [24-26]. Ces modèles ont aussi démontré des signes de dommage neuronales parmi lesquelles la pathologie neurofibrillaires et la dégénération mitochondriale. Dans une étude récente, des rats ont été exposé à une prise basse de  $\text{Ca}^{2+}$  et/ou  $\text{Mg}^{2+}$  sur 2 générations pour alors pouvoir simuler plus précis les conditions humaines à Guam [27]. Des différentes combinaisons de contenu  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  testé, l'exposition à  $\text{Mg}^{2+}$  bas (un-cinquième des niveaux normales) plus délétair, et a causé alors une perte signifiante de neurones dopaminergiques dans la substance nigra. Nous offrirons une explication mécanique sur ces observations, plus loin dans ce rapport.

### **L-beta-N-methylamino-L-alanine (L-BMAA) est une neurotoxine plausible de la plante cycad**

Traditionnellement utilisé comme source de nourriture à Guam et pour application médicinale à Kii Peninsula et New Guinea Occidentale, cycad et son toxine, L-BMAA, est le deuxième facteur environnemental qui est présenté comme concerné dans la pathogénèse de la SLA/PD [15, 16]. C'est aussi un des sujets les plus controversés dans la recherche SLA/PD. L-BMMA est une acide amino non-protéine présent dans des graines cycad dont on a aussi démontré qu'elles contiennent des caractéristiques neurotoxiques dans les modèles de culture cellulaire. [28, 29]. Ce qui est important, c'est que les singes macaques (*Cynomolgus*) qui ont mangé des grandes doses de BMAA, ont présenté des symptômes cliniques et neuropathologiques ressemblant la SLA [15]. La dose gigantesque, néanmoins, a été considéré comme irréaliste en mots de consommation humaine parce qu'il reste seulement très peu de quantités de L-BMAA dans la fleur cycad lavée, vue que la source primaire de l'exposition humaine. [30, 31]. Des caractéristiques neurotoxiques faibles qui étaient détectées dans des études de culture cellulaire, motivaient ce vue encore plus que L-BMAA n'apporterait pas signifiamment à la pathogénèse SLA/PD. Des concentrations hautes (milli molaires) de L-BMAA étaient nécessaires pour générer les effets cytotoxiques dans des cellules cultivées neuronales [28]. Des antagonistes NMDA récepteur (NMDAR) bloquaient en grande partie ces effets qui

suggèrent que L-BMAA réagisse par NMDARs [32, 33]. En plus on a démontré que l'addition d'ions bicarbonates augmentait considérablement le pouvoir de L-BMAA par la formation de  $\beta$ -carbamate, un agoniste structurellement plus potent de NMDARs [32]. Bien que la spectroscopie magnétique nucléaire (NMR) puisse en effet démontrer que des pièces carbamate se forment quand BMAA et bicarbonate sont mixés, il faut souligner que, autant que connu, aucune étude n'avait n'importe quand rapporté sur l'isolation de carbamates du cerveau ou de la moelle épinière des patients SLA/PD.

Des études subséquentes indiquent que l'activation NMDAR ne serait pas la piste dominante le long de laquelle L-BMAA élabore ces effets neurotoxiques. L-BMAA a été rapporté comme étant préférentiellement à interagir avec les récepteurs métabotropiques [34-36], et récepteurs non-NMDA en présence de bicarbonate [37,38]. Dommage référentielle aux neurones NADPH-diaphorèse a été élaboré par des expositions plus bas de BMAA ont été trouvé comme prédominalement média par des récepteurs AMPA/kainate [28,32]. Exposition à L-BMAA (et bicarbonate) augmentait les niveaux intracellulaires  $Ca^{2+}$ ,  $[Ca^{2+}]_i$ , et suggérait alors un engagement  $Ca^{2+}$  [39]. Vu que les récepteurs AMPA/kainate sont  $Ca^{2+}$ -impénétrables, l'engagement de ces récepteurs n'était pas facile à intégrer dans l'hypothèse dominante de la toxicité L-BMAA. De l'autre côté, on a vite découvert qu'il existe un classe spéciale de récepteurs AMPA/kainate, Ca-A/K, qui sont  $Ca^{2+}$ -perméables [40,41]. D'une relevance très spéciale pour la SLA, on a aussi démontré des neurones moteurs (MNs) qui contenaient de grandes quantités de canaux CA-A/K [42].

Stimulé par un rapport que des formes liées aux protéines de L-BMAA, pourraient potentiellement servir comme réservoir neurotoxique endogène de cette toxine [43], la question de neurotoxicose L-BMAA a été revue par Rao, et al [44]. Des neurones spinales platées autours d'une couche mono astrocyte, ont été exposées à des doses contrôlées de L-BMAA, extraits cycad toxines, et les antagonistes NBQX (spécifique pour récepteurs AMPA/kainate) et Mk801 (un antagoniste NMDAR). Morte cellulaire, changements  $[Ca^{2+}]_i$ , et sortes d'oxygène réactive (ROS) production était monitoré. Des résultats ont démontré que le potentiel L-BMAA était plus toxique pour MNs que pour tous les autres neurones spinaux. L'addition de NBQX, mais pas Mk801, permettait une protection substantielle, suggérant que la toxicité L-BMAA est prédominalement médiée par les canaux Ca-A/K.

Néanmoins, NBQX n'était pas complètement protecteur. Dans des neurones moteurs exposés à 100  $\mu\text{M}$  L-BMAA, NBQX ou une combinaison de NBQX et Mk801 diminuait L-BMAA – causait la mort cellulaire avec deux tiers, alors suggérant l'engagement des autres routes. Ce qui est intéressant est une ancienne étude qui utilisait des neurones cultivés hippocampales, qui démontrait l'exposition à L-BMAA, et activait un courant linéaire non-identifié. [38]. C'est possible que ce courant est porté par TRPM2, un des canaux qui est traité dans ce rapport, parce que  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  augmenté et ROS, promouvant l'activation TRPM2.

L'étude Rao, et al. rapportait trois résultats importants: (1) neurones moteurs sont sélectivement plus fragile à la toxicité L-BMAA, (2) ces effets toxiques sont médiés par des augmentations  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  par des canaux Ca-A/K et d'autres routes, et génération ROS subséquente; et (3) L-BMAA, trouvé en concentrations en extraits cycad, influencé par des effets neurotoxiques. La démonstration que des niveaux relativement bas (dans le sens de micro molaire) de L-BMAA pourraient endommager les neurones moteurs, propose L-BMAA comme un candidat fort, valide dans l'étiologie de la SLA/PD. Néanmoins il faut accentuer que L-BMAA n'est pas trouvé dans *tous* les sortes d'autopsie SLA/PD, et qu'une autre étude exécuté par un groupe de recherche aparte, testé sur L-BMAA libre dans des patients Alzheimer du Pacifique Américain nord-ouest, mais n'a pas détecté, ni dans des patients PD à Guam ou des contrôles Chamorro. [45]. Pour ce rapport il est important que ça cause des augmentations L-BMAA  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  et une génération ROS dans des neurones moteurs, alors créant des circonstances favorables pour l'activation de TRPM2, un canal ion lié à la mort neuronale médiée par stress oxydatif. [46,47].

### La question de prédisposition génétique

Des études épidémiologiques ont impliqué des facteurs génétiques dans le développement de la SLA/PD parce que des cas se clustèrent dans des familles, des descendants et des parents de patients impactés démontraient un risque augmenté de développer ces maladies [48]. Un effort intensif a été lancé pour identifier la cause génétique de la SLA/PD, dont des analyses de pedigree et des calculs de coefficients d'endogamie dans des villes avec de hautes apparences, identification des marqueurs génétiques sélectionnés comme des antigènes HLA, des systèmes de groupe sanguin, des enzymes de cellules rouges, allo types immunoglobuline, et protéines sérum [49]. Aucun ne livrait des

résultats satisfaisants

Un registre case-control prospectif était démarré en 1958 (complété en 1963) pour déterminer si des descendants en première ligne et des mari(e)s des patients SLA/PD ont un risque augmenté sur le développement de la maladie que des parents d'un objet non-affecté (adapté pour l'âge, sexe et village). Une étude follow-up de 25 ans avait exposé un risque significativement augmenté sur le développement de la SLA et PD parmi les fils et les filles, et à un niveau plus bas, parmi les épous(es) des patients. [50]. Des petits-enfants, au contraire, ne démontraient aucun risque augmenté dans l'étude follow-up de 25 ans, probablement parce que la plupart d'entre eux tombaient sous l'âge de risque de la maladie. Des frères et des sœurs des contrôles n'avaient pas de risque augmenté et ont, en effet, un risque plus bas que la population générale de Chamorro. Une succession plus récente de 40 ans avait démontré des résultats comparables : des proches en première ligne des patients avec la SLA ou PD, ont un risque significativement plus large sur le développement de n'importe quelle maladie, que la population de Guama, bien que les proches des contrôles avaient des risques significativement plus petits.. [51]. Néanmoins, il y a une différence notable, car ce fois-ci les descendants des patients PD démontraient un risque augmenté pour le développement de tous les deux la SLA ou la PD. Bien que ces informations suggèrent une contribution génétique à l'étiologie, les règles Mendélien simples ne sont pas valables. Premièrement, les deux études follow-up, celle de 25, et celle de 40 ans, démontraient un risque augmenté pour les épous(es) des patients. En plus, l'étude de 40 ans, trouvait une augmentation en âge du départ de la maladie et une dégradation dramatique dans l'apparence des deux maladies depuis les années 1950, quand les premières études systématiques épidémiologiques ont commencé. La dégradation correspondait avec une modernisation augmentée de Guam, qui changeait le style de vivre, l'accès changé à la nourriture qui est localement recueillie et des stocks d'eau potable locale améliorés ou changés. Ces résultats, surtout la dégradation vite dans 3 siècles dans le sud de Guam, où on a trouvé les plus grandes apparences de la maladie, suggèrent fortement que les facteurs de milieu contribuent à l'étiologie [52,53]. En supportant cette conclusion, une analyse de ségrégation a été fait sur les données enregistrées qui ont été utilisées dans l'étude follow-up de 25 ans, entre laquelle tous les patients tombent de 1950-1983, rejetait une hypothèse de milieu pure, et une hypothèse Mendélien dominante ou une hypothèse Mendélien récessive, mais ne pourrait pas rejeter un hypothèse

deux-abel additive grand locus [54]. Cette étude de ségrégation propose alors un gène important en combinaison avec des facteurs de milieu qui peuvent être concernés dans le développement de la SLA/PD.

### **Une recherche pour des gènes candidats**

Dans un effort d'identifier des gènes qui sont concernés dans l'étiologie de la SLA/PD, les gènes qui étaient avant liés à la SLA/PD familiale ou AD, étaient catalogués. Aucun variant associé à la maladie ou aucune mutation a été trouvé après des analyses de séquence de Cu-Zn superoxyde dismutase, *SOD1* (SLA familiale), la protéine microtubule-associé, *TAU* (PD), apolipoprotéine E, *ApoE*  $\Sigma 4$  (départ tôt AD) et *CYP2D6*, qui encode une enzyme de détoxification (PD) [55-58].

C'est probable que nous devrions chercher des gènes susceptibles qui ne causent pas immédiatement la maladie, mais contribuent à la prédisposition quand ils fonctionnent dans un environnement favorable. C'est important, que la cause génétique des maladies complexes comme la SLA/PD, soit probablement polygénique de nature, c'est-à-dire, des petites variantes fonctionnelles de différents gènes pourraient ensemble contribuer à la pathologie. Pour identifier des gènes de susceptibilité candidats pour la SLA/PD, nous avons décidé qu'il faut utiliser une approche effective pour les facteurs de milieu trouvés dans tous les 3 les foyers hyper endémiques Pacifique Occidentale comme un tool screening. *Quelle fonction de production gène sera probablement endommagée par  $Mg^{2+}$  bas,  $Ca^{2+}$  bas et des métaux de transition hauts?* Proéminent parmi les différents candidats fonctionnels sont les gènes canaux ion. Pour plus intensifier, nous avons imposé deux limitations supplémentaires : les canaux candidats doivent être exprimés dans le système nerveux central (CNS) et doivent être endommagés par le stress oxydatif. Le stress oxydatif dans le pris qu'une cellule eukaryotique paie pour pouvoir utiliser l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) comme une source d'énergie. Phosphorylation oxydative, le processus de convertir de l'énergie à  $O_2$  vers une forme qui peut être utilisée par la cellule, produit haute-énergie-par-produits, ROS, qui est normalement gérée par le système de protection cellulaire antioxydant. Le stress oxydatif résulte quand la balance bouge fortement dans l'avantage de la production ROS comme ça se présente dans des circonstances de courses métaboliques hautes, de protection cellulaire diminuée et présence de toxines de milieu comme des métaux de transition. Alors une imbalance mène à dommage moléculaire, mourir de

fonctions cellulaires, et finalement la morte de cellules. Stress oxydatif augmenté se présente à cause de vieillissement, le facteur de risque universel pour toutes les maladies neurodégénératives. Dans les foyer de la SLA/PD hyper endémique dans la Pacifique Occidentale, la composition minérale unique de l'environnement, crée une circonstance de stress oxydatif augmenté parce que les niveaux  $Mg^{2+}$  bas peuvent causer de peroxydation lipide [59] bien que les métaux de transition agissent comme des catalystes redox qui causent une production ROS augmentée [60].

Nous avons trouvé 2 gènes candidats qui suffissent à nos critères – canaux ion qui préviennent le cerveau d'être endommagé par le stress oxydatif : *TRPM7* et *TRPM2*. Tous les deux font partie du melastatin potentiel récepteur transient (TRPM) famille des canaux. *TRPM7* se trouve dans le chromosome 15q21, dans un locus qui est lié à une forme de la SLA autosomique récessive familiale [61]. *TRPM2* se trouve dans le chromosome riche-en-maladies 21 (21q22.3), près du locus SOD1 (21q22.1-22.2) qui est associé avec la SLA familiale [62].

## TRPM7

TRPM7 est une protéine membrane plasma omniprésente qui mène virtuellement tous les ions divalents – du  $Ca^{2+}$  physiologique extensif et  $Mg^{2+}$ , vers métaux de trace potentiels comme  $Mn^{2+}$  et  $Zn^{2+}$  en non-essentiels, même métaux de transition toxiques comme  $Cd^{2+}$  [63, 64]. On a présenté que TRPM7 joue un rôle central dans la régulation des niveaux cellulaires homéostatiques de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  et métaux de trace [63-65]. TRPM7 est requis pour la susceptibilité de vie cellulaire comme démontré par le phénotype résultant mortel quand le canal est arrêté dans les lymphocytes DT40B [63]. Des études ont impliqué l'engagement TRPM7 dans de différentes fonctions cellulaires parmi lesquelles la croissance de cellules, la prolifération, le développement embryonnaire, la mort neuronale anoxique, la réponse pathologique au dommage de mur vasculaire, contractilité actomyosin, et libération de neurotransmetteur dans neurones volontaires [65-72]. Peut-être d'une certaine relevance sur ce sujet de ce rapport, c'est le rapport récent que TRPM7 implique dans l'Alzheimer familiale [73].

TRPM7 est une protéine à double fonction, une des seules 3 canaux connus qui contiennent tous les deux un canal et un domaine enzymatique, les autres deux, étant TRPM6 et TRPM2. TRPM7 et TRPM6 démontrent une homologie de séquence d'environ 50% et contiennent tous les deux un terminal-C sérine/thréonine alpha ( $\alpha$ )-

kinase [74].  $\alpha$ -kinases sont caractérisés par leurs capacité unique pour les substrats fosforliates dans des hélices  $\alpha$ , en face de kinases protéine conventionnelles qui phosphoraient leurs substrats dans des loops,  $\beta$ -turns et structures irrégulières [75, 76]. Des études biochimiques ont démontré de l'activité kinase dans tous les deux le TRPM6 et TRPM7 [65, 77, 78]. La relation entre un canal et un component kinase qui coexiste dans la même molécule, est valablement le sujet d'une intéresse étendue. Initialement on a pensé que l'activité kinase TRPM7 règle la fonction canal [77] mais des études supplémentaires ont démontré qu'activité phosphotranférane n'est pas requis pour l'activité canal [78, 79]. TRPM7 était récemment concerné dans la régulation d'adhésion cellulaire et formation podosome en modulant la contractilité actomyosin par phosphorylation d'une chaine lourde de myosine IIA [72]. Annexin 1, une protéine  $\text{Ca}^{2+}$ -régulé phospholipide binding était aussi identifié comme un substrat pour la kinase TRPM7 [80]. Phosphorylation d'annexin 1 et la chaine lourde myosine IIA par kinase TRPM7 kinase exige  $\text{Ca}^{2+}$  influx par le domain canal, et indique une association intriquât entre le canal et les fonctions kinase [72, 80]. On suggère alors que des perméase ions la fonction kinase régulâtes faible, et le recrutement subséquent ou activation de downstream signaling components [72]. C'est une hypothèse attirante qui mérite certainement plus de recherche.

### **TRPM7 regulation**

Des canaux TRPM7 sont constitutivement ouvert, mais sont intracellulairement retenus par  $\text{Mg}^{2+}$  libre [63, 81], un fait qui est reflète dans un des noms selon les courants endogènes TRPM7, *MIC* pour *Mg<sup>2+</sup>-courants retenus* [82]. L'autre terminologie, MagNuM (*M*agnesium *N*ucleotides *M*etal) prend le block en compte par nucléotides  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ - (particulièrement  $\text{MgATP}$ ) et perméation métal [81]. TRPM7 réagisse aussi sur des changements en pH [83, 84], une caractéristique qui pourrait être relevant pendant certains condition pathologiques comme quand l'acidose se présente pendant l'ischémie. Sauf le  $\text{Mg}^{2+}$  libre intracellulaire,  $\text{MgATP}$  et pH, des autres modulateurs d'activité canal étaient suggéré dans de différents systèmes expérimentaux : phospholipase C-coupled récepteurs agent par phosphatidylinositol 4,5- bisphosphat ( $\text{PIP}_2$ ), adénosine cyclique 3,5-monophosphaat (cAMP), cations polyvalents, et phosphorylation par TRPM6 [78, 85-89].

### **$\text{Mg}^{2+}$ et $\text{Ca}^{2+}$ sont des bloqueurs perméants**

Sauf dissolution TRPM7 de la côté cytoplasmique,  $Mg^{2+}$  joue aussi un rôle crucial dans la régulation de perméation ion externe par ces canaux. Cet effet de  $Mg^{2+}$  est d'une relevance physiologique déterminante parce que  $Mg^{2+}$  externe attaque la perméation d'autres ions. Ce canal est cation non-sélectif, et néanmoins, la cours I/V TRPM7 sous conditions physiologiques ioniques est caractérisée par rectification extérieure déterminante, avec des courants intérieurs très petits à des potentiels positifs. La raison de ça c'est que les bloques divalents externe – divalent présent dans le médium extracellulaire ( $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  physiologique) produisent un bloque dépendant de voltage qui est progressivement éloigné par la dépolarisation. Des bloques divalents sont aussi sauvés à de très bas voltages négatives. Kerschbaum et al. [89] ont exécuté une étude détaillé sur les bloques divalents externes (et polyvalents) et présentaient un modèle pour perméation ion par canaux MIC/TRPM7. Le modèle pronostiquait des effets observés expérimentalement avec succès de  $Mg^{2+}$  sur la perméation de cations monovalents. Il présentait la présence de deux sites de binding bas-affinité et un seule site haute-affinité dans les régions dirigeant du canal. Selon ce modèle, quand présent dans des concentrations bas  $\mu M$ , mal placer  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$   $Na^+$  de site binding haute-affinité, alors bloquant le courant monovalent.  $Mg^{2+}$  se lie plus fort à ce site que  $Ca^{2+}$  ( $K_{1/2}$  à  $-40$  mV est  $1 \mu M$  pour  $Mg^{2+}$  vs.  $4 \mu M$  pour  $Ca^{2+}$ ) ce qui indique que c'est un bloquer fort. Perméation de  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  se présent quand c'est présent dans des concentrations assez hauts, possible par un mécanisme 'knock off' dont le site binding haute-affinité est concerné, et 'punch-through' de l'ion blocking à l'intérieur.

S'il y a un site binding, ou plus, c'est important de tenir en mémoire que  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , et  $Na^+$  interagissent possiblement dans la compétition faible pour les sites liant, vont s'influencer. Pendant que  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  renforcent un blocage fort de perméation  $Na^+$  le bloque n'est pas total parce que un tel degré de perméation  $Na^+$  est observé [67, 82]. Les affinités déterminées expérimentalement démontrent que  $Mg^{2+}$  est un fort bloquer, ce qui suggère que ça serait plus difficile pour un ion  $Ca^{2+}$  de déplacer un ion  $Mg^{2+}$  lié que vice versa. On peut alors le regarder comme la concentration extracellulaire  $Mg^{2+}$  est diminué, la possibilité de  $Ca^{2+}$  (et  $Na^+$ ) pour entre le canal, augmenteront correspondamment. En plus, l'éloignement de  $Mg^{2+}$  de la solution externe toute ensemble (comme fait dans quelques expériences, surtout des testes d'excitotoxicité), l'influx augmenté de  $Ca^{2+}$  par TRPM7 reçoivent la préférence. Nous observions en effet un influx augmenté de  $Ca^{2+}$  par murine

TRPM7 surexprimé vue que la concentration externe de  $Mg^{2+}$  est diminuée (M. Hermosura, et al., information non-publié). Suivant ce ligne de raisonnement, l'éloignement de tous les deux  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  de la solution externe, éloigner des bloques divalents, alors permettant monovalent ( $Na^+$ ) influx. C'est expérimentalement démontré [67, 81, 89].

## TRPM7 et morte neuronale

TRPM7 a été récemment concerné dans la morte neurone anoxique en médiant  $I_{OGD}$ , un courant cation activé pendant une déprivation d'oxygène prolongé-glucose, OGD [68]. Dans ce modèle d'hypoxie en utilisant les neurones corticales de souris, on a présenté que ROS produit pendant stress oxydatif, activait les canaux TRPM7, alors permettant l'influx non-régulé de  $Ca^{2+}$  et incitant un cercle vicieux parce que la production haute intracellulaire  $Ca^{2+}$ , causait la production d'encore plus de ROS, et alors augmentait l'activation  $I_{OGD}/TRPM7$ . Expression downregulating TRPM7 par des petits interférents RNA (siRNA) spécifique pour TRPM7 protégeaient les cellules d'oxygène et glucose déprivation stress induit. Néanmoins, ce même downregulated TRPM7-spécifique siRNA aussi les canaux TRPM2. Ce résultat était explique comme étant suggestif à l'expression de protéine interdépendante entre ces deux canaux et/ou qu'ils forment des hétéromères dans les neurones corticales est par des hétéromères TRPM2/TRPM7. L'existence de ce dernier doit encore être déterminée et selon notre connaissance, l'interaction entre TRPM2 et TRPM7 n'est pas encore démontré sur un niveau protéine.

Le fait que les stresseurs oxydatifs et nitratifs sont clairement déterminés [90, 91] et sera discuté en détail plus tard.

Malheureusement nous n'avons pas trouvé d'activation médiée  $H_2O_2$ - de TRPM7 dans des cellules HEK-293 dans nos expériences cellules-complètes patch clamp, dans la présence de concentration physiologiques de  $Ca^{2+}$  et  $Mg^{2+}$ . Nous fournissons une explication alternative pour les résultats observés dans cette étude OGD.

Comme nous avons déjà pouvoir déterminer, ces expériences ont été fait en absence de  $Mg^{2+}$  externe. Comme nous avons discuté dans la section précédente, cette condition a la préférence à l'entrée  $Ca^{2+}$  par les canaux constitutifs ouverts TRPM7. Le degré d'influx  $Ca^{2+}$  influx sera déterminé par le nombre de canaux TRPM7 disponible pour perméation qui est à son tour dépendant des niveaux existants de  $Mg^{2+}$  intracellulaire et MgATP. L'induction expérimentale de OGD causait une diminution signifiante de

MgATP intracellulaire [92] alors diminuant le bloque intracellulaire TRPM7. Vu que plus de canaux TRPM7 sont disponible pour perméation, le  $Ca^{2+}$ ,  $[Ca^{2+}]_i$ , intracellulaire augmenteront. Une des trouvées de cette augmentation  $[Ca^{2+}]_i$  sera la production augmenté de ROS dans la mitochondrie. L'augmentation combinée  $[Ca^{2+}]_i$  et le stress oxydatif, est favorable pour l'activation TRPM2. Dans ce scénario, l'activation de TRPM2 causait l'influx massif de  $Ca^{2+}$  et  $Na^{2+}$  suivant la morte cellulaire. Cette explication n'est pas en conflit avec l'effet protecteur observé après l'inhibition siRNA de TRPM parce que l'augmentation têt  $[Ca^{2+}]_i$  est nécessaire pour induire la production ROS/RNS, ne se présenterait pas quand le nombre de canaux disponibles TRMP7 est gravement épuisé. Alors comme les auteurs concluent, TRPM7 est un joueur critique et important dans la morte neuronale médiée OGD. Ca serait d'importance de savoir si les route de morte neuronale  $I_{OGD}$  médient en présence de niveaux (bas) physiologiques et / ou pathologiques de  $Mg^{2+}$ . C'est têt dans la caractérisation fonctionnelle de canaux TRPM, surtout dans le contexte de cellules complexes comme les neurones limité par ce que nous savons, et dans le cas de TRPM7 et TRPM2 il y a beaucoup à apprendre. Nous devons savoir si ces deux canaux forment des hétéromère, quels variantes de séparation se présentent dans des cellules neuronales, et sous quelles circonstances elles se présentent, la signature electrophysiologique des hétéromères, et les joueurs concernés dans la modulation et l'activation des canaux homomériques et hétéromériques.  $I_{OGD}$  pourrait être médiée par tous les deux le TRPM7 et TRPM2. Seulement le temps et des études supplémentaires nous raconterons plus.

Néanmoins, vu que c'est un rapport sur un gène de susceptibilité candidat, pour une forme de maladie neurone moteurs neurodégénératives, c'est le résultat que TRPM7 est concerné dans la morte neuronale, qui est relevant. Important, c'est que l'étude récemment publié décrit la localisation de TRPM7 dans des terminales synaptiques de neurones moteurs et alors démontrant la concernation TRPM7 pendant le release neurotransmetteur dans des synapses neuromusculaires [71] ajoute une explication pour la considération de *TRPM7* comme un bon candidat pour le gène susceptibilité pour le Pacifique Occidentale SLA/PD.

## TRPM7 en SLA/PD Guam

### Le variant T1482I TRPM7 en SLA/PD de Guam

Dans un effort d'identifier un variant génétique qui indique la susceptibilité pour SLA/PD, nous avons ajouté du DNA génomique à des échantillons SLA/PD et des objets lié-à-l'age [93].

Nous avons trouvé un variant hétérozygote de *TRPM7* dans un subset des cas SLA/PD qui encodent une protéine canal avec une fausse mutation, Thr<sup>1482</sup> est remplacé par Ile<sup>1482</sup>. Raillement des séquences TRPM7 de différentes sortes a démontré que Thr<sup>1482</sup> est révolutionnairement conservé des poissons zébra à des gens, sauf en souris qui ont serine (Ser) dans cette position. Thr et Ser ne sont pas dissimilaire, vu qu'ils peuvent tous les deux être phosphorylé. La conservation évolutionnaire de Thr/Ser dans cette position suggère que la phosphorylation de ce résidu est important et la signifiante potentielle de la substitution Thr-à-Ile diminue parce que isoleucine ne peut pas être phosphorylé. TRPM7 est une Ser/Thr  $\alpha$ -kinase, elle phosphoryle Ser et Thr résidus dans  $\alpha$ -hélices. Nous avons comparé des niveaux phosphothréonine entre wild-type (WT) et T1482I TRPM7 et ont trouvé que Thr<sup>1482</sup> est en effet auto phosphorylé. Le remplacement Thr-à-Ile n'avait pas d'impact sur l'activité TRPM7 kinase mais augmentait la sensibilité du canal aux bloques intracellulaires Mg<sup>2+</sup>. Vu qu'une des fonctions primaires de TRPM7 est l'import cellulaire de Mg<sup>2+</sup> et Ca<sup>2+</sup>, des cellules avec T1482I deviendront possiblement encore plus défauts dans ces ions. Ce défaut sera plus prononcé dans un environnement qui est fortement épuisé de Mg<sup>2+</sup> et Ca<sup>2+</sup> pour commencer, comme trouvé dans des foyers hyperendémiques SLA/PD dans le Pacifique Occidentale. C'est pour ça que notre hypothèse, que le variant *T1482I* indique une prédisposition génétique à SLA/PD. Dans un environnement avec des niveaux normales de Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup>, il n'y a pas de défauts forts, mais une exposition prolongée à un environnement favorable (dans ce cas, une avec des niveaux très bas de Mg<sup>2+</sup> et Ca<sup>2+</sup>) démasque les effets éloignant de la mutation. L'imbalance résultante dans l'homéostasie Mg<sup>2+</sup> et Ca<sup>2+</sup> pourrait attaquer beaucoup de processus cellulaires, parmi lesquelles ceux qui réagissent au stress oxydatif et qui activent l'activation de routes pro inflammatoires. Malheureusement tester cette hypothèse n'est pas si simple. *TRPM7* knock-out dans des souris en embryonnairement mortel (A. Ryazanov, communication personnelle). En générale, il y a la complication supplémentaire que Thr<sup>1482</sup> est remplacé par Ser dans le souris. Nous regardons aussi des autres possibilités comme l'utilisation d'une poule DT20 lymphocyte ligne cellulaire avec l'endogène TRPM7 knocked-out et remplacé avec TRPM7 T1482I induisible (en coopération avec Drs. C. Schmitz et A. Perraud, National Jewish Medical et Research Center), bien que nous reconnaissons complètement qu'il s'agit d'un modèle surexpression. Vu le nouveau rôle décrit de TRPM7 dans le release neurotransmetteur dans la liaison neuromusculaire, ça serait aussi

d'importance de rechercher si la transmission synaptique est attaquée en présence de T1482I, surtout vu que la disruption et la perte de synapse neuromusculaire, qui est rapporté comme un des événements pathologiquement les plus tôt dans la SLA et longtemps avant la présence des symptômes [94, 95].

### **Défaut $Mg^{2+}$ augmente stress oxydatif**

La démonstration que des circonstances bas de  $Mg^{2+}$  causent une perte significative de neurones nigrales dopaminergiques des rats, soutient la notion que des changements neuropathologiques pourrait suivre simplement comme résultat d'une exposition prolongé au  $Mg^{2+}$  bas [27]. Quel est le mécanisme possible derrière ceci ?  $Mg^{2+}$  bas cause peroxydation lipide et activation de NF- $\kappa$ B en cellules musculaires canine primaire cérébrale vasculaire [59]. Peroxydation lipide perturbe l'intégrité de membrane en endommageant les phospholipides, etc., et augmente le stress oxydatif par la production des dérivés réactifs comme hydro peroxydes lipides et aldéhyde réactif [60]. La peroxydation des lipides membranes mitochondriales peut changer la balance ionique dans les mitochondries, ce qui cause des enflures mitochondriales et une production augmenté de ROS [96]. Activation NF- $\kappa$ B induit par circonstances  $Mg^{2+}$  bas peut initier des réactions pro inflammatoires comme l'induction de COX2 et iNOS dans des microglies, alors les gardant dans un état persistant actif qui est nuisible pour les neurones entourant. Une autre façon comment les niveaux bas extracellulaires  $Mg^{2+}$  pourraient négativement influencer la cellule par  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{+}$ , et influx métal augmenté par TRPM7, comme un résultat du fait qu'il y a moins de  $Mg^{2+}$  pour imposer les bloques externes. Nous avons en effet vu  $Mn^{2+}$  influx augmenté par TRPM7 quand le  $Mg^{2+}$  extracellulaire est diminué (M. Hermosura et S. Thompson, information non-publié). Métaux sont catalystes redox, et contribueront alors à l'augmentation en stress oxydatif cellulaire. Ce défaut  $Mg^{2+}$  cause des altérations possibles dans des fluxes ions, et on a aussi présenté le stress oxydatif augmenté par des études d'expression génétique dans des rats sevrés exposé à des régimes de défaut  $Mg^{2+}$  [97].

Alors, l'effet générale de  $Mg^{2+}$  bas c'est de créer des circonstances de stress oxydatif haut qui est favorable pour l'activation de TRPM2, canaux non sélectifs cation, qui sont lié à l'activation des routes de morte cellulaires [46, 47, 90, 98, 99].

## **Stress oxydatif en SLA/PD Pacifique Occidentale**

Des facteurs émanant de la composition minérale unique de

l'environnement des foyers SLA/PD dans le Pacifique Occidentale, concourent avec la production d'un état haut de stress oxydatif. Le stress oxydatif est plus en plus reconnu comme un joueur clé dans l'initiation et l'amplification du processus maladie dans beaucoup de maladies parmi lesquelles les maladies neurodégénératives [100] et soutient l'intérêt croissant dans notre gène candidat, *TRPM2*.

### **TRPM2 est un canal ion qui est activé par le stress oxydatif et nitratif**

Les canaux TRPM2 sont des canaux non-sélectifs qui se présentent en grands nombres dans le cerveau et les cellules immunes, surtout celles d'origine monocytique [101, 102]. Dans un rapport récent, RTPCR était utilisé pour démontrer une distribution éloignée de TRMP2 mRNA dans le CNS [103]. Des études in situ hybridisation ont démontré l'expression TRPM2 comme la plus haute dans l'hippocampe, cortex cérébrale, thalamus et cerveau central [104]. D'un niveau cellulaire, on a trouvé TRPM2 dans des cellules neuronales et micro gliales [46, 104, 105]. Comme mentionné avant, TRPM2 est une des seules *chanzymes* connus, canaux qui sont intrinsèquement couplé à un domain enzyme. En TRPM2, l'enzyme est dans la région C-terminal et est dédié à NUDT9\_H pour refléter son homologie au hydrolyse ADP-ribose [106]. Bien que des niveaux bas d'activités enzymatiques NUDT9\_H étaient démontrés, l'information expérimentaux indique le fait que l'activité enzyme n'est pas une exigence pour dosage canal [107]. Au lieu de ça, ces études indiquent que NUDT9\_H fournisse un site binding pour adénine 5'-diphosphoribose (ADPR), l'activateur physiologique de TRPM2 [108]. Sauf ADPR, des concentrations milimolaires de  $\beta$ -NAD étaient observés pour activer ces canaux [90, 101]. A cause des doses hautes, non-physiologies nécessaires, la suggestion si  $\beta$ -NAD TRPM2 peut doser directement, est questionné. Au lieu de ça on a suggéré que l'activation TRPM7 par  $\beta$ -NAD se présente comme résultat du  $\beta$ -NAD breakdown en ADPR [109].

Activation ADPR de TRPM2 est modulé par  $\text{Ca}^{2+}$  intramoléculaire [110, 111].  $\text{Ca}^{2+}$ , tout seul, ne peut pas doser TRPM2 [111]. Néanmoins,  $\text{Ca}^{2+}$  est nécessaire pour les niveaux basales de ADPR pour doser le canal. En granulocytes, ADPR basale a été déterminé comme  $\sim 5 \mu\text{M}$ , et restait autours de ce niveau, même après stimulation agoniste. Activation TRPM2  $\text{Ca}^{2+}$  enhanced TRPM2 par ADPR. A une concentration ADPR donnée, des niveaux plus hauts  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  tentent des courants TRPM2 plus grands, avec un  $\text{EC}_{50}$  rapporté de 340 nM [110]. On a alors présenté qu'APPR et

$\text{Ca}^{2+}$  agissent en concert, comme un deuxième système messenger, pour adoucir les effets de agoniste binding. L'effet renforçant d'activation TRPM2 pourrait être relevant en relation avec la morte neuronale médiée par stress oxydatif, comme décrit ci-dessous.

## TRPM2 dans la morte cellulaire médiée par stress oxydatif

Preuve accumulant suggère que TRPM2 joue un rôle centrale dans la morte cellulaire médiée par stress oxydatif [46, 98, 99, 112]. Morte de neurones cérébrale, corticales médiée- $\text{H}_2\text{O}_2$  était significativement diminué à cause d'inhibition siRNA de TRPM2 [46]. Similaire était la toxicité induit- $\text{H}_2\text{O}_2$ -dans des neurones striatales affaiblies par transfection avec une forme courte dominante négative de TRPM2 (TRPM2-S) et aussi par une inhibition siRNA spécifique TRPM2 [113, 114]. Dans les deux cas, la morte suivait par une augmentation de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire comme un résultat d'influx massif  $\text{Ca}^{2+}$  par canaux TRPM2. Comment les stressors oxydatifs et nitratifs activent ce canal, reste controversiel, vue que de différentes études supportent des différents routes candidates. Néanmoins, des possibilités existantes peuvent être largement classifiées comme directes et indirectes. Dans l'ancien,  $\text{H}_2\text{O}_2$  dose le canal directement [91, 104]. Dans la route indirecte, l'activation TRPM2 ADPR-dosé, avec le stress oxydatif qui augmente simplement la production de ce métabolite. Des preuves expérimentaux soutiennent au moins 2 mécanismes différents par lesquelles ADPR intracellulaire est produit au stress oxydatif : une médiée par poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) et l'autre par production de ADPR dans le mitochondrie par un  $\beta$ -NAD breakdown [115,116]. Finalement, c'est aussi possible qu'une augmentation de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  induite par stress oxydatif simplement l'activation médiée ADPR de TRPM2 améliore sans aucune production ajoutée de ADPR [111]. Comme c'est souvent le cas, des circonstances in situ existantes parmi lesquelles les facteurs métaboliques spécifique type cellule quels routes sont recrutées, et c'est probable que plus d'une est opérationnelle dans une situation donnée. Par exemple, activité enzymatique PARP et  $\beta$ -NAD breakdown pourrait se passer simultanément. Au même temps, l'augmentation améliorée de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  induit par stress oxydatif, l'activation médiée ADPR de canaux TRPM2. Si ces routes pourraient contribuer à la création d'une situation où il y a un influx  $\text{Ca}^{2+}$  longtemps.

### TRPM2 est perméable pour $\text{Na}^+$ et d'autres cations

Nous devons quand même retenir, que TRPM2 est cation non-

sélectif, et que d'autres ions (incité par leurs propre poussée électrochimique), laissent passer le canal par  $\text{Ca}^{2+}$ . Décisif est  $\text{Na}^+$ . L'impact d'influx massif  $\text{Na}^+$  par TRPM2 n'est pas prudemment estimé, mais on peut s'attendre à suivre la dépolarisation membrane, exercera un effet signifiant surtout dans des cellules comme des neurones et des cellules pancréatiques  $\beta$ . De grands changements soudain dans les niveaux cytoplasmiques  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Na}^+$  pourraient être gravement détrimment après une activation TRPM2 pour une bonne fonction mitochondriale. Une de ces fonctions – buffering d'augmentations pathophysiologique  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ; comme celles évoquées par le stress oxydatif, pourrait être particulièrement susceptible parce que c'est partiellement dépendant d'un échangeur  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  dans les membranes mitochondriales intérieurs [117]. Interruption dans la fonction échangeur pourrait attaquer l'homéostasie ionique dans les mitochondrie, alors causant l'enflure mitochondriale, et d'autres effets opposés, parmi la diminution du demi-vie du RNA mitochondriement encodé. [96, 118]. Enflure mitochondriale est une caractéristique préclinique tôt dans des maladies neurodégénératives, parmi lesquelles la SLA [119]. Ce qui soutient fortement ce thèse, c'est la démonstration récente qui démontrait le mitochondrie cerveau et moelle épinière dans deux modèles souris (SOD1) deux SMA familiales avec une capacité  $\text{Ca}^{2+}$  buffering diminué. Important, c'est que cette diminution se présentait très tôt dans le cours de la maladie, avant le départ des symptômes [120].

Canaux TRPM2 sont cation non-sélectif et pourraient alors conduire des métaux transition, au-dessus de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ . En effet, perméation  $\text{Mn}^{2+}$  était démontré pendant des expériences fura-2 quench [90]. Nous avons récemment fini des études dans lesquelles nous utilisons le pigment zinc-spécifique, FluoZin-3, pour démontrer l'influx  $\text{Zn}^{2+}$  par TRPM2 (R. Go, C. Shetler, S. Thompson et M. Hermosura, information non-publié). Le résultat que la perméation TRPM2 pourrait admettre de  $\text{Mn}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$  est surtout signifiant quand c'est regardé dans le contexte de rôle possible de TRPM2 ans la neurodégénératives parce que l'accumulation anormale de ces métaux est associée avec neuropathologie [121]. Un rapport séminal sur la SLA/PD rapportait que le contenu  $\text{Mn}^{2+}$  dans la moelle épinière est 10 à 210 fois plus large dans des patients SLA que dans des objets de teste. [13]. L'accumulation anormale cellulaire de  $\text{Zn}^{2+}$  est lié au dommage neuronale acute par ischémie et épilepsie, aussi bien qu'avec des changements pathologiques dans des maladies neurodégénératives [122]. Une réévaluation récente d'accumulation

métal dans la SLA/PD rapportait des niveaux  $Zn^{2+}$  significativement augmentés dans les échantillons de cerveau PD [123]. Homéostasie métal changée est aussi décrite dans la SLA sporadique et familiale [124, 125]. La régulation juste de l'homéostasie métal se fie à une balance délicate entre influx, séquestration par système buffer cellulaire, et transport dehors de la cellule. Métaux transition sont redox-actifs, capables de stimuler la formation radicalaire libre et alors augmentant le stress oxydatif cellulaire. C'est pour ça que les métaux transition qui entrent par TRPM2 (et d'autres routes d'influx) créent des circonstances favorables pour plus d'activation TRPM2, plus basculant la balance en faveur de l'influx ionique qui est dominé par les ions physiologiques abondants  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$ . L'augmentation en dommages indirecte en niveaux cytoplasmiques  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$  pourrait mener mitochondrie vers la génération de plus de ROS, alors créant un cercle vicieux qui pourrait maîtriser la machinerie protectrice des cellules.

### Dysfonction Mitochondriale en SLA

Nous avons observé qu'à cause de son activation, TRPM2 peut attaquer le bon fonctionnement des mitochondries. La dysfonction mitochondriale était rapportée comme un facteur potentiellement porteur dans la SLA sporadique et familiale [118-120, 126-129]. Malheureusement, ce sujet n'a pas été examiné plus tôt en connexion avec la SLA/PD Pacifique Occidentale, sauf pour une mention d'un défaut possible du complexe I [130] et des rapports des mitochondries dégénérées dans des études ultra-structurelles sur des sections du cerveau des échantillons d'autopsie, et des modèles animaux qui ont été donnés un régime de  $Ca^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  [22-27]. Il semble que les mitochondries du cerveau et de la moelle épinière sont particulièrement susceptibles pour le processus de maladie dans la SLA. Dans des modèles SOD1 de la SLA on avait seulement détecté une capacité de buffering  $Ca^{2+}$  diminuée dans le cerveau et la moelle épinière, pas dans la mitochondrie du foie. [120]. Des raisons possibles pour la sensibilité anormale des mitochondries de la moelle épinière sont leurs seuils significativement plus bas pour le changement induit-  $Ca^{2+}$  dans la transition de perméabilité mitochondriale (MPT) susceptible augmentée de peroxydation lipidique, niveaux diminués de mRNA mitochondriaux et des niveaux significativement plus élevés que le DNA mitochondrial oxydé. [131].

Mutations somatiques pourraient significativement contribuer à la dysfonction mitochondriale. Le DNA mitochondrial (mtDNA) est un génome circulaire de 16.5-kb qui encode 13 protéines de la chaîne

respiratoire, et 22 tRNAs. Il manque des histons protecteurs et alors c'est plus susceptible pour dommage oxydatif que DNA nucléaire. Le statut oxydatif haut dans ce organelle sont attendue de favoriser plus de mutations. Des fréquences augmentées de mutations mtDNA étaient rapportées dans la SLA sporadique et d'autres maladies neurodégénératives [118, 127, 132]. On a suggéré que ces mutations diminuent ces mutations d'activité complexe IV de la chaîne électron transport (ETC). MtDNA des sujets SLA transmis au cellules mtDNA-utilisé humaines neuroblastoma, causait la fonction anormale ETC, homéostasie enragé  $Ca^{2+}$ , et changements dans la structure mitochondriale [133]. Nous avons récemment ajouté mtDNA de SLA/OD et ont trouvé des mutations somatiques dans le promotor strand légère (LSP) région dans DNA mitochondriale ou tissu du cerveau de tous les deux patients PD [134] et patients SLA [R. Garruto et al., information non-publié]. Le LSP influence la contrôle régulatrice sur la transcription mitochondriale et répllication. Son rôle cruciale dans l'entretien de la stabilité des génomes mitochondriales implique que les mutations dans le LSP pourraient être détriment pour les bonnes fonctions mitochondriales.

On suggère que mitochondrie pourrait agir comme but et trigger dans la SLA familiale et sporadique [135]. La connexion qui semble d'être fonctionnelle, soutient cette suggestion. Une augmentation soudaine dans  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$  cytoplasmique médiée par TRPM2 qui pourrait être traité par des mitochondrie qui fonctionnent normalement, pourrait être détriment pour des mitochondrie ou des mutations somatiques ont causé des activités ETC dysfonctionnelle, ou où la péroxydation lipide a attaqué l'intégrité du membrane, alors rendre l'organelle moins capable dans le traitement d'imbalance ion. C'est possible que des niveaux plus hauts de ROS soient produits dans ces situations, alors causant l'activation TRPM2 persistante, et influx massive long  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$ , qui pourraient imposer le système buffering cellulaire. Le cycle entretenant-même de stress oxydatif, augmentations  $[Ca^{2+}]_i$ , ROS augmenté, et activation TRPM2 augmenté, serait responsable pour la génération d'influx  $Ca^{2+}$  longtemps. Dans la présence de mitochondrie dysfonctionnelle avec des capacités buffering diminués,  $Ca^{2+}$  anormalement haute accumulera. Cette série d'événements peut observer l'accumulation anormale de  $Ca^{2+}$  observé dans le cytoplasme et le mitochondrie dans le cerveau et tissus moelle épinière influencent en SLA/PD et d'autres variantes cliniques de la SLA [19, 23, 136]. Des neurones moteurs sont extrêmement sensibles au overload  $Ca^{2+}$  par une capacité buffering

cytosolique bas  $Ca^{2+}$  [119, 137]. C'est alors admissible d'adopter le fait que le stress oxydatif et l'activation persistente de canaux TRPM2 dans des neurones moteurs seront extrêmement nuisible. La démonstration récente que des effets L-BMAA-induit cytotoxique,  $[Ca^{2+}]_i$  augmentations, et production ROS étaient substantiellement plus large dans d'autres neurones spinaux, soutient fortement cette hypothèse [44]. Important est le résultat que L-BMAA causait une augmentation substantielle  $[Ca^{2+}]_i$  et production ROS dans des neurones moteurs, des conditions favorables pour activation TRPM2, suggère un rôle difficile pour TRPM2 en neurotoxicose médiée L-BMAA. Fonction TRPM2 en neurones moteurs, surtout en présence de L-BMAA et d'autres stressors oxydatifs, est un sujet énormément important pour la recherche future.

### Concernation immun en ALS: TRPM2 in Microglie

Il y a de la preuve augmentée que la dégénération et la mort des neurones moteurs dans la SLA sporadique et familiale n'est pas limitée au processus pathogènes dans les neurones mêmes, mais qu'un composant immun est concerné, contribué par cellules voisines, surtout microglie, les cellules immunocompétentes résidentes dans le CNS [138-144]. Microglie fournit une réponse tôt vers dommage de cerveau en libérant des cytokines pro inflammatoires et des facteurs toxiques comme l'oxyde nitrique (NO),  $H_2O_2$ , et ROS. Microglie activés sont phagocytaires, contiennent des pouvoirs migratoires étendus et sont observés dans la corne ventrale de la moelle épinière des patients SLA [145]. L'activité micro gliale n'était pas recherchée en connexion avec la SLA/PD du Pacifique Occidentale, bien que le dommage en immunité humorale et cellulaire fût rapporté [146, 147]. TRPM2 est présent en grand nombre dans les microglie, et encore plus important, on présente que TRPM2 est concerné en activation micro gliale pendant le stress oxydatif [104]. En absence d'information sur l'activation micro gliale en SLA/PD nous discuterons ce qui est connu sur ce sujet en la SLA familiale et sporadique.

Etudes en SLA sporadique et en modèles souris de la SLA familiale suggèrent que des événements immun se présentent dans un stade très tôt dans le processus maladie. Prolifération micro gliale et activation semblait se continuer et contribuer à la mort neuronale [141]. Facteurs pro inflammatoires, probablement sécrétés par microglie, étaient remarqués dans un stade tôt, quand

aucune autre perte neurones moteurs étaient déjà passés. Fluide cérébrospinal (CSF) dans la SLA sporadique, familiale contient des facteurs cytotoxiques [142], parmi laquelle 4-hydroxynonanal (4-HNE), un dérivé réactif aldéhyde de peroxydation lipide [143]. C'est de plus en plus claire que les interactions entre les neurones moteurs et les cellules gliales entourant, sont intégrales pour la pathogénèse SLA [138-140, 148-150]. Par exemple, une étude qui rapporte le modèle SOD1 G93A de la SLA familiale, que la maladie a seulement de dommages indirectes quand la mutation se présentent dans tous les deux le glioblastoma humain et les cellules neuroblastoma, pas quand la présence était limité à n'importe quelle type de cellule [148]. Une autre étude utilisait un système de culture cellulaire pour démontrer la toxicité neurones moteurs, induit par microglie induit-lipopolysaccharide (LPS) [149]. Toxicité semblait être causé par le stress micro gliale-inuit oxydatif/nitratif, qui active une route influx  $Ca^{2+}$ , parce que c'était limité par un inhibiteur induit micro gliale nitrite oxyde synthase (iNOS), l'aliénation de  $Ca^{2+}$  intracellulaire, ou par addition de catalase ou glutathione. Finalement l'engagement définitif de microglie dans le processus de maladie de la SLA familiale est démontré par l'utilisation de souris transgéniques avec SOD1 mutante amovible [139]. 'La baisse' de l'expression de SOD1 mutante en neurones moteurs retardait convenable départ de la maladie et la progression tôt. L'utilisation de la même manipulation pour microglie n'attaquait pas le départ de la maladie, mais retardait plus tard énormément la progression de la maladie, et prolongeait le temps de survie générale, suggérant que microglie avec SOD1 mutante, accélère le processus de maladie.

Activation micro gliale est médiée par des augmentations en  $Ca^{2+}$  cytoplasmique d'origine de sources intracellulaires et environnement extracellulaire [104, 151]. Canaux TRPM2 démontraient qu'ils contribuent significativement à ce dernier. Important c'est que TRPM2 en microglie activé démontrait une sensibilité augmentée de  $H_2O_2$  [104]. Microglie activés, néanmoins, produisent eux-mêmes  $H_2O_2$  (un processus qui s'appelle caprice respiratoire). C'est pour ça que la sensibilité augmentée de TRPM2 à  $H_2O_2$  en microglie activé servent probablement comme un signal de feedback positif, alors promouvant encore plus l'activation TRPM2, et l'influx  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$  longtemps- conditions qui peuvent conserver les microglie dans un état activé prolongé. Une telle présence générera du stress oxydatif dans les neurones voisins et glia. L'effet combiné de stress oxydatif et ensuite activation TRPM2, et augmentation drastique des niveaux cellulaires  $Ca^{2+}$  et

Na<sup>+</sup> serait surtout délétère pour les neurones moteurs par leur incapacité de tamponner des changements énormes cytoplasmiques Ca<sup>2+</sup>. Accumulation anormale Ca<sup>2+</sup> dans les terminales motrices nerveuses dans la SLA supporte ce scénario possible [152] et à l'hypothèse que Ca<sup>2+</sup> intracellulaire augmenté induit par mécanismes immuns concerné dans la mort cellulaire neurones moteurs dans la SLA [153]. Des populations barrées de microglie sont rapporté d'être présent dans l'hippocampe, olfacto-encéphalon, ganglia basale et substantia nigra [154]. Suivant le raisonnement présenté ci-dessus, nous pouvons supposer que ces régions du cerveau sont plus susceptibles pour dommage par l'activation micro gliale prolongée. La perte sélective de cellules nigrales après une exposition prolongée au Mg<sup>2+</sup> bas soutient cette possibilité [27]. Stress oxydatif augmenté et activation NF-κB induit par Mg<sup>2+</sup> bas pourrait causer activation micro gliale persistante et mort cellulaire nigrales.

C'est certainement probable que d'autres routes Ca<sup>2+</sup> influx comme AMPA/Kainate et récepteurs glutamate sont aussi concernés. Néanmoins, la relation directe est évident dans le 'stress oxydatif-microglie- neurones moteurs TRPM2 - Ca<sup>2+</sup> influx pathway' semble être un hypothèse probable pour expliquer la relation entre microglie et neurones moteurs et engagement immunitaire dans la pathogénèse de la SLA [155, 156].

### Autres indications intrigantes vers concernation TRPM2 dans SLA/PD

#### **β-amyloïde peptides**

Ces peptides sont liés à l'étiologie d'AD et étaient aussi trouvés dans la SLA/PD. Une étude récente rapportait que l'activité β-amyloïde était médiée par des canaux TRPM2 [111].

#### **Neuropathie diabétique périphère dans la SLA/PD et le rôle d'activation PARP**

En 1997, on avait remarqué une relation possible entre diabète mellites et SLA/PD en Guam [130]. Une étude publiée en 1999 rapportait que la neuropathie périphère pourrait être une manifestation de la SLA/PD de Guam [157]. L'activation de poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) a été récemment identifiée comme un mécanisme important qui est derrière la neuropathie diabétique périphère [158]. Action PARP a aussi été identifié comme une des routes importantes dans laquelle le stress oxydatif active les canaux TRPM2 [115] alors suggèrent que l'influx Ca<sup>2+</sup> paria TRPM2 pourrait être concerné dans la neuropathie diabétique périphère. Important est que, ces résultats supportent fortement la suggestion que la SLA/PD de Guam est une maladie multi système

avec une concernation subclinique du système nerveux périphère et que l'activation TRPM2 non-régulé, peut-être par stress oxydatif haut, pourrait être un facteur étiologique clé.

### **Mutants TRPM2 dans SLA/PD**

Analyse séquence de TRPM2 avait dévoilé la présence de 3 variantes associés avec la SLA/PD. Les résultats sont écrits pour publication et ne seront pas traités dans ce rapport-ci.

## Résumé

De grands efforts et des ressources gigantesques sont consacrés à l'étude de la SLA/PD du Pacifique Occidental. Le nombre substantiel d'information neuropathologiques, clinique et épidémiologique généré pendant des années, représente une trésorerie d'information utile et des directions qui pourraient être analysées et interprétées ensemble avec d'autres études récentes sur la SLA sporadique et familiale. On présume en générale que les différents variantes cliniques de la SLA, partagent probablement des mécanismes pathogéniques moléculaires pareils, et de ceux-ci, la supériorité de preuve, preuve l'engagement du stress oxydatif, la dysfonction mitochondriale, l'homéostasie  $Ca^{2+}$  divers, et des mécanismes immuns, surtout médiée par les microglies activés

En vertu de leurs caractéristiques d'activation et perméation et le fait qu'ils se présentent dans des neurones moteurs et des cellules micro gliales, nous introduisons *TRPM7* et *TRPM2* comme des gènes candidats de susceptibilité dans la SLA/PD, et peut-être aussi pour la SLA sporadique. Des activités de canal TRPM7 et TRPM2 sont interconnectées avec les facteurs importants suspects d'engagement dans ces maladies – homéostasie  $Ca^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  divers, dysfonction mitochondriale, stress oxydative et réponses inflammatoires. Ca peut alors être hypothéqué que les variantes génétiques des ces canaux peuvent attaquer certains ou tous les mécanismes suspects, et alors contribuer au processus de maladie. Bien qu'il y ait certaines conjectures et suppositions qui sont basées sur la preuve, nous espérons néanmoins que nous avons identifié deux buts prometteurs pour plus de recherche.

## Remerciements

Nous remercions M. Shetler et R. C. V. Go (University of Hawaii) pour l'assistance dans la préparation de ce manuscrit. M.H. est supporté par S11 NS043462.

## Références

1. Shaw PJ. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76:1046–57. [[PubMed](#)]
2. Rowland LP. Amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med*. 2001;344:1688–700. [[PubMed](#)]
3. Mitchel JD. Amyotrophic lateral sclerosis: toxins and environment. *ALS and other motor neuron disorders*. 2000;1:235–250. [[PubMed](#)]
4. Elizan TS, Hirano A, Abrams BM, Need RL, Van Nuis C, Kurland LT. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia complex of Guam. Neurological reevaluation. *Arch Neurol*. 1966;14:356–68. [[PubMed](#)]
5. Gajdusek DC, Salazar AM. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonian syndromes in high incidence among the Auyu and Jakai people of West New Guinea. *Neurology*. 1982;32:107–26. [[PubMed](#)]
6. Kimura K, Yase Y, Higashi Y, Une S, Yamamoto K, Iwasaki M, Tsumoto I, Sugiura M, Yoshimura S, Namikawa K, Kumura J, Iwamoto S, Yamamoto I, Handa Y, Yata M, Yata Y. Epidemiological and geomedical studies on amyotrophic lateral sclerosis. *Dis Nerv Syst*. 1963;14:155–159.
7. Kurland LT, Mulder DW. Epidemiologic investigations of amyotrophic lateral sclerosis. 1. Preliminary report on geographic distributions, with special referesce to the Marianas Islands, including clinical and ptholofical observations. *Neurology*. 1954;4:355–378. 438–448. [[PubMed](#)]
8. Hirano A, Kurland LT, Krooth RS, Lessell S. Parkinsonisme-dementia complex, an endemic disease on the island of Guam. I. Clinical features. *Brain*. 1961;84:642–61. [[PubMed](#)]
9. Hirano A, Malamud N, Kurland LT. Parkinsonisme-dementia complex, an endemic disease on the island of Guam. II. Pathological features. *Brain*. 1961;84:662–79. [[PubMed](#)]
10. Rodgers-Johnson P, Garruto RM, Yanagihara R, Chen K-M, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia on Guam: a 30 year evaluation of clinical and neuropathological trends. *Neurology*. 1986;36:7–13.

[\[PubMed\]](#)

11.

Matsumoto S, Hirano A, Goto S. Spinal cord neurofibrillary tangles of Guamanian amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia complex: an immunohistochemical study. *Neurology*. 1990;40:975–9. [\[PubMed\]](#)

12.

Garruto RM. A commentary on neuronal degeneration and cell death in Guam ALS and PD: an evolutionary process of understanding. *Curr Alzheimer Res*. 2006;3:397–401. [\[PubMed\]](#)

13.

Yase Y. The pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 1972;2:292–6. [\[PubMed\]](#)

14.

Garruto RM, Y R, Gajdusek DC, Arion DM. Concentrations of Heavy Metals and Essential Minerals in Garden Soil and Drinking Water in the Western Pacific. *Amyotrophic Lateral Sclerosis in Asia and Oceania*. 1984:265–330.

15.

Spencer PS, Nunn PB, Hugon J, Ludolph AC, Ross SM, Roy DN, Robertson RC. Guam amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonisme-dementia linked to a plant excitant neurotoxin. *Science*. 1987;237:517–22. [\[PubMed\]](#)

16.

Whiting MG. Food practices in ALS foci in Japan, the Marianas and New Guinea. *Fed Proc*. 1964;23:1343–1345. [\[PubMed\]](#)

17.

Yanagihara R, Garruto RM, Gajdusek DC, Tomita A, Uchikawa T, Konagaya Y, Chen KM, Sobue I, Plato CC, Gibbs CJ Jr. Calcium and vitamin D metabolism in Guamanian Chamorros with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia. *Ann Neurol*. 1984;15:42–8. [\[PubMed\]](#)

18.

Garruto RM, Plato CC, Yanagihara R, Fox K, Dutt J, Gajdusek DC, Tobin J. Bone mass in Guamanian patients with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia. *Am J Phys Anthropol*. 1989;80:107–13. [\[PubMed\]](#)

19.

Garruto RM, Fukatsu R, Yanagihara R, Gajdusek DC, Hook G, Fiori CE. Imaging of calcium and aluminum in neurofibrillary tangle-bearing neurons in parkinsonisme-dementia of Guam. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984;81:1875–1879. [\[PubMed\]](#)

20.

Garruto RM, Swyt C, Yanagihara R, Fiori CE, Gadjusek DC. Intraneuronal co-localization of silicon with calcium and aluminum in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme with dementia of Guam. *N Engl J Med*. 1986;315:711–2.

[\[PubMed\]](#)

21. Perl DP, Gajdusek DC, Garruto RM, Yanagihara RT, Gibbs CJ Jr. Intra-neuronal aluminum accumulation in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia of Guam. *Science*. 1982;1:1028.
22. Yasui M, Ota K, Garruto RM. Concentration of zinc and iron in the brains of Guamanian patients with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia. *Neurotoxicology*. 1993;14:445–450. [[PubMed](#)]
23. Yasui M, Yase Y, Kihira T, Adachi K, Suzuki Y. Magnesium and calcium contents in CNS tissues of amyotrophic lateral sclerosis patients from the Kii peninsula, Japan. *Eur Neurol*. 1992;32:95–8. [[PubMed](#)]
24. Garruto RM, Shankar SK, Yanagihara R, Salazar AM, Amyx HL, Gajdusek DC. Low-calcium, high-aluminum diet-induced motor neuron pathology in cynomolgus monkeys. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1989;78:210–9. [[PubMed](#)]
25. Yasui M, Yano I, Yase Y, Ota K. Distribution of magnesium in central nervous system tissue, trabecular and cortical bone in rats fed with unbalanced diets of minerals. *J Neurol Sci*. 1990;99:177–83. [[PubMed](#)]
26. Yasui M, Ota K, Yoshida M. Effects of low calcium and magnesium dietary intake on the central nervous system tissues of rats and calcium-magnesium related disorders in the amyotrophic lateral sclerosis focus in the Kii Peninsula of Japan. *Magnes Res*. 1997;10:39–50. [[PubMed](#)]
27. Oyanagi K, Kawakami E, Kikuchi-Horie K, Ohara K, Ogata K, Takahama S, Wada M, Kihira T, Yasui M. Magnesium deficiency over generations in rats with special references to the pathogenesis of the Parkinsonism-dementia complex and amyotrophic lateral sclerosis of Guam. *Neuropathology*. 2006;26:115–28. [[PubMed](#)]
28. Weiss JH, Koh JY, Choi DW. Neurotoxicity of beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) and beta-N-oxalylamino-L-alanine (BOAA) on cultured cortical neurons. *Brain Res*. 1989;497:64–71. [[PubMed](#)]
29. Staton PC, Bristow DR. The dietary excitotoxins beta-N-methylamino-L-alanine and beta-N-oxalylamino-L-alanine induce necrotic- and apoptotic-like death of rat cerebellar granule cells. *J Neurochem*. 1997;69:1508–18. [[PubMed](#)]
30. Duncan MW, Kopin IJ, Garruto RM, Lavine L, Markey SP. 2-amino-3 (methylamino)-propionic acid in cycad-derived foods is an unlikely cause of

- amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonisme. *Lancet*. 1988;2:631–632. [[PubMed](#)]
- 31.
- Garruto RM, Yanagihara R, Gajdusek DC. Cycads and amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonisme dementia. *Lancet*. 1988;2:1079. [[PubMed](#)]
- 32.
- Weiss JH, Christine CW, Choi DW. Bicarbonate dependence of glutamate receptor activation by beta-N-methylamino-L-alanine: channel recording and study with related compounds. *Neuron*. 1989;3:321–6. [[PubMed](#)]
- 33.
- Ross SM, Seelig M, Spencer PS. Specific antagonism of excitotoxic action of ‘uncommon’ amino acids assayed in organotypic mouse cortical cultures. *Brain Res*. 1987;425:120–7. [[PubMed](#)]
- 34.
- Copani A, Canonico PL, Nicoletti F. Beta-N-methylamino-L-alanine (L-BMAA) is a potent agonist of ‘metabotropic’ glutamate receptors. *Eur J Pharmacol*. 1990;181:327–8. [[PubMed](#)]
- 35.
- Copani AP, Canonico L, Catania MV, Aronica E, Bruno V, Ratti E, van Amsterdam FT, Gaviraghi G, Nicoletti F. Interaction between beta-N-methylamino-L-alanine and excitatory amino acid receptors in brain slices and neuronal cultures. *Brain Res*. 1991;558:79–86. [[PubMed](#)]
- 36.
- Manzoni OJ, Prezeau L, Bockaert J. beta-N-methylamino-L-alanine is a low-affinity agonist of metabotropic glutamate receptors. *Neuroreport*. 1991;29:609–11. [[PubMed](#)]
- 37.
- Weiss JH, Choi DW. Slow non-NMDA receptor mediated neurotoxicity and amyotrophic lateral sclerosis. *Adv Neurol*. 1991;56:311–8. [[PubMed](#)]
- 38.
- Allen CN, Spencer PS, Carpenter DO. Beta-N-methylamino-L-alanine in the presence of bicarbonate is an agonist at non-N-methyl-D-aspartate-type receptors. *Neuroscience*. 1993;54:567–74. [[PubMed](#)]
- 39.
- Brownson DM, Mabry TJ, Leslie SW. The cycad neurotoxic amino acid, beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA), elevates intracellular calcium levels in dissociated rat brain cells. *J Ethnopharmacol*. 2002;82:159–67. [[PubMed](#)]
- 40.
- Bochet P, Audinat E, Lambolez B, Crepel F, Rossier J, Iino M, Tsuzuki K, Ozawa S. Subunit composition at the single-cell level explains functional properties of a glutamate-gated channel. *Neuron*. 1994;12:383–8. [[PubMed](#)]
- 41.

- Jonas P, Racca C, Sakmann B, Seeburg PH, Monyer H. Differences in Ca<sup>2+</sup> permeability of AMPA-type glutamate receptor channels in neocortical neurons caused by differential GluR-B subunit expression. *Neuron*. 1994;12:1281–9. [[PubMed](#)]
- 42.
- Carriedo SG, Yin HZ, Weiss JH. Motor neurons are selectively vulnerable to AMPA/kainate receptor-mediated injury in vitro. *J Neurosci*. 1996;16:4069–79. [[PubMed](#)]
- 43.
- Murch SJ, J S, Cox PA, Banack SA. A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:12228–31. [[PubMed](#)]
- 44.
- Rao SD, Banack SA, Cox PA, Weiss JH. BMAA selectively injures motor neurons via AMPA/kainate receptor activation. *Exp Neurol*. 2006;201:244–52. [[PubMed](#)]
- 45.
- Montine TJ, Li K, Perl DP, Galasko D. Lack of beta-methylamino-l-alanine in brain from controls, AD, or Chamorro with PDC. *Neurology*. 2005;65:768–9. [[PubMed](#)]
- 46.
- Kaneko S, Kawakami S, Hara Y, Wakamori M, Itoh E, Minami T, Takada Y, Kume T, Katsuki H, Mori Y, Akaike A. A critical role of TRPM2 in neuronal cell death by hydrogen peroxide. *J Pharmacol Sci*. 2006;101:66–76. [[PubMed](#)]
- 47.
- Smith MA, Herson PS, Lee K, Pinnock RD, Ashford ML. Hydrogen-peroxide-induced toxicity of rat striatal neurones involves activation of a non-selective cation channel. *J Physiol*. 2003;547:417–25. [[PubMed](#)]
- 48.
- Plato CC, Reed DM, Elizan TS, Kurland LT. Amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of Guam. IV. Familial and genetic investigations. *Am J Hum Gene*. 1967;19:617–632.
- 49.
- Garruto RM. Pacific paradigms of environmentally-induced neurological disorders: clinical, epidemiological and molecular perspectives. *Neurotoxicology*. 1991;12:347–77. [[PubMed](#)]
- 50.
- Plato CC, Garruto RM, Fox KM, Gajdusek DC. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia on Guam: a 25-year prospective case-control study. *Am J Epidemiol*. 1986;124:643–56. [[PubMed](#)]
- 51.
- Plato CC, Galasko D, Garruto RM, Plato M, Gamst A, Craig UK, Torres JM, Wiederholt W. ALS and PDC of Guam: forty-year follow-up. *Neurology*.

- 2002;58:765–73. [[PubMed](#)]
52.  
Garruto RM, Yanagihara R, Gajdusek DC. Disappearance of high-incidence amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia on Guam. *Neurology*. 1985;35:193–198. [[PubMed](#)]
53.  
Plato CC, Garruto RM, Galasko D, Craig UK, Plato M, Gamst A, Torres JM, Wiederholt W. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia complex of Guam: changing incidence rates during the past 60 years. *Am J Epidemiol*. 2003;157:149–57. [[PubMed](#)]
54.  
Bailey-Wilson JE, Plato CC, Elston RC, Garruto RM. Potential role of an additive genetic component in the cause of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonisme-dementia in the western Pacific. *Am J Med Genet*. 1993;45:68–76. [[PubMed](#)]
55.  
Figlewicz DA, Garruto RM, Krizus A, Yanagihara R, Rouleau GA. The Cu/Zn superoxide dismutase gene in ALS and parkinsonisme-dementia of Guam. *Neuroreport*. 1994;5:557–60. [[PubMed](#)]
56.  
Perez-Tur J, Buee L, Morris HR, Waring SC, Onstead L, Wavrant-De Vrieze F, Crook R, Buee-Scherrer V, Hof PR, Petersen RC, McGeer PL, Delacourte A, Hutton M, Siddique T, Ahlskog JE, Hardy J, Steele JC. Neurodegenerative diseases of Guam: analysis of TAU. *Neurology*. 1999;53:411–3. [[PubMed](#)]
57.  
Poorkaj P, Tsuang D, Wijsman E, Steinbart E, Garruto RM, Craig UK, Chapman NH, Anderson L, Bird TD, Plato CC, Perl DP, Weiderholt W, Galasko D, Schellenberg GD. TAU as a susceptibility gene for amyotropic lateral sclerosis-parkinsonisme dementia complex of Guam. *Arch Neurol*. 2001;58:1871–8. [[PubMed](#)]
58.  
Chen X, Xia Y, Gresham LS, Molgaard CA, Thomas RG, Galasko D, Wiederholt WC, Saitoh T. ApoE and CYP2D6 polymorphism with and without parkinsonisme-dementia complex in the people of Chamorro, guam. *Neurology*. 1996;47:779–84. [[PubMed](#)]
59.  
Altura BM, Gebrewold A, Zhang A, Altura BT. Low intracellular magnesium ions induce lipid peroxidation and activation of nuclear factor-kappa B in canine cerebral vascular smooth muscle: possible relation to ttraumatic brain injury and strokes. *Neurosci Lett*. 2003;341:189–192. [[PubMed](#)]
60.  
Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem*. 2001;8:721–38. [[PubMed](#)]

61. Hentati A, Ouahchi K, Pericak-Vance MA, Nijhawan D, Ahmad A, Yang Y, Rimmler J, Hung W, Schlotter B, Ahmed A, Ben Hamida M, Hentati F, Siddique T. Linkage of a commoner form of récessive amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 15q15-q22 markers. *Neurogenetics*. 1998;2:55–60. [[PubMed](#)]
62. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*. 1993;362:59–62. [[PubMed](#)]
63. Nadler MJ, Hermosura MC, Inabe K, Perraud AL, Zhu Q, Stokes AJ, Kurosaki T, Kinet JP, Penner R, Scharenberg AM, Fleig A. LTRPC7 is a Mg-ATP-regulated divalent cation channel required for cell viability. *Nature*. 2001;411:590–5. [[PubMed](#)]
64. Monteilh-Zoller MK, Hermosura MC, Nadler MJ, Scharenberg AM, Penner R, Fleig A. TRPM7 provides an ion channel mechanism for cellular entry of trace metal ions. *J Gen Physiol*. 2003;121:49–60. [[PubMed](#)]
65. Schmitz C, Perraud AL, Johnson CO, Inabe K, Smith MK, Penner R, Kurosaki T, Fleig A, Scharenberg AM. Regulation of vertebrate cellular Mg<sup>2+</sup> homeostasis by TRPM7. *Cell*. 2003;114:191–200. [[PubMed](#)]
66. He Y, Yao G, Savoia C, Touyz RM. Transient receptor potential melastatin 7 ion channels regulate magnesium homeostasis in vascular smooth muscle cells: role of angiotensin II. *Circ Res*. 2005;96:207–15. [[PubMed](#)]
67. Hanano T, Hara Y, Shi J, Morita H, Umebayashi C, Mori E, Sumimoto H, Ito Y, Mori Y, Inoue R. Involvement of TRPM7 in cell growth as a spontaneously activated Ca<sup>2+</sup> entry pathway in human retinoblastoma cells. *J Pharmacol Sci*. 2004;95:403–19. [[PubMed](#)]
68. Aarts M, Iihara K, Wei WL, Xiong ZG, Arundine M, Cerwinski W, MacDonald JF, Tymianski M. A key role for TRPM7 channels in anoxic neuronal death. *Cell*. 2003;115:863–77. [[PubMed](#)]
69. Elizondo MR, Arduini BL, Paulsen J, MacDonald EL, Sabel JL, Henion PD, Cornell RA, Parichy DM. Defective skeletogenesis with kidney stone formation in dwarf zebrafish mutant for trpm7. *Curr Biol*. 2005;15:667–71. [[PubMed](#)]

Oancea E, Wolfe JT, Clapham DE. Functional TRPM7 Channels Accumulate at the Plasma Membrane in Response to Fluid Flow. *Circ Res*. 2005;98:245–253.

[[PubMed](#)]

71.

Krapivinsky G, Mochida S, Krapivinsky L, Cibulsky SM, Clapham DE. The TRPM7 ion channel functions in cholinergic synaptic vesicles and affects transmitter release. *Neuron*. 2006;52:485–96. [[PubMed](#)]

72.

Clark K, Langeslag M, van Leeuwen B, Ran L, Ryazanov AG, Figdor CG, Moolenaar WH, Jalink K, van Leeuwen FN. TRPM7, a novel regulator of actomyosin contractility and cell adhesion. *Embo J*. 2006;25:290–301. [[PubMed](#)]

73.

Landman N, Jeong SY, Shin SY, Voronov SV, Serban G, Kang MS, Park MK, Di Paolo G, Chung S, Kim T-W. Presenilin mutations linked to familial Alzheimer's Disease cause an imbalance in phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:19524–9. [[PubMed](#)]

74.

Montell C. Mg<sup>2+</sup> homeostasis: the Mg<sup>2+</sup>-nifcent TRPM chanzymes. *Curr Biol*. 2003;13:R799–801. [[PubMed](#)]

75.

Ryazanov AG, Pavur KS, Dorovkov MV. Alpha-kinases: a new class of protein kinases with a novel catalytic domain. *Curr Biol*. 1999;9:R43–45. [[PubMed](#)]

76.

Pinna LA, Ruzzene M. How do protein kinases recognize their substrates? *Biochim Biophys Acta*. 1996;1314:191–225. [[PubMed](#)]

77.

Runnels LW, Yue L, Clapham DE. TRP-PLIK, a bifunctional protein with kinase and ion channel activities. *Science*. 2001;291:1043–1047. [[PubMed](#)]

78.

Schmitz C, Dorovkov MV, Zhao X, Davenport BJ, Ryazanov AG, Perraud AL. The channel kinases TRPM6 and TRPM7 are functionally nonredundant. *J Biol Chem*. 2005;280:37763–71. [[PubMed](#)]

79.

Matsushita M, Kozak JA, Shimizu Y, McLachlin DT, Yamaguchi H, Wei FY, Tomizawa K, Matsui H, Chait BT, Cahalan MD, Nairn AC. Channel function is dissociated from the intrinsic kinase activity and autophosphorylation of TRPM7/ChaK1. *J Biol Chem*. 2005;280:20793–803. [[PubMed](#)]

80.

Dorovkov MV, Ryazanov AG. Phosphorylation of annexin I by TRPM7 channel-kinase. *J Biol Chem*. 2004;279:50643–6. [[PubMed](#)]

81.

- Hermosura MC, Monteilh-Zoller MK, Scharenberg AM, Penner R, Fleig A. Dissociation of the store-operated calcium current I(CRAC) and the Mg-nucleotide-regulated metal ion current MagNuM. *J Physiol.* 2002;539:445–58. [[PubMed](#)]
- 82.
- Prakriya M, Lewis RS. Separation and characterization of currents through store-operated CRAC channels and Mg<sup>2+</sup>-inhibited cation (MIC) channels. *J Gen Physiol.* 2002;119:487–507. [[PubMed](#)]
- 83.
- Kozak JA, Matsushita M, Nairn AC, Cahalan MD. Charge screening by internal pH and polyvalent cations as a mechanism for activation, inhibition, and rundown of TRPM7/MIC channels. *J Gen Physiol.* 2005;126:499–514. [[PubMed](#)]
- 84.
- Jiang J, Li M, Yue L. Potentiation of TRPM7 inward currents by protons. *J Gen Physiol.* 2005;126:137–50. [[PubMed](#)]
- 85.
- Runnels LW, Yue L, Clapham DE. The TRPM7 channel is inactivated by PIP(2) hydrolysis. *Nat Cell Biol.* 2002;4:329–36. [[PubMed](#)]
- 86.
- Takezawa R, Schmitz C, Demeuse P, Scharenberg AM, Penner R, Fleig A. Receptor-mediated regulation of the TRPM7 channel through its endogenous protein kinase domain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:6009–14. [[PubMed](#)]
- 87.
- Kozak JA, Cahalan MD. MIC channels are inhibited by internal divalent cations but not ATP. *Biophys J.* 2003;84:922–7. [[PubMed](#)]
- 88.
- Langeslag M, Clark K, Moolenaar WH, van Leeuwen FN, Jalink K. Activation of TRPM7 channels by phospholipase C-coupled receptor agonists. *J Biol Chem.* 2007;282:232–9. [[PubMed](#)]
- 89.
- Kerschbaum HH, Kozak JA, Cahalan MD. Polyvalent cations as permeant probes of MIC and TRPM7 pores. *Biophys J.* 2003;84:2293–305. [[PubMed](#)]
- 90.
- Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, Yamada H, Shimizu S, Mori E, Kudoh J, Shimizu N, Kurose H, Okada Y, Imoto K, Mori Y. LTRPC2 Ca<sup>2+</sup>-permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell.* 2002;9:163–73. [[PubMed](#)]
- 91.
- Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, Jungling E, Zitt C, Luckhoff A. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem.* 2002;277:23150–6. [[PubMed](#)]

92.  
Martinez-Sanchez M, Striggow F, Schroder UH, Kahlert S, Reymann KG, Reiser G. Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> homeostasis pathways, cell death and protection after oxygen-glucose-deprivation in organotypic hippocampal slice cultures. *Neuroscience*. 2004;128:729–40. [[PubMed](#)]
93.  
Hermosura MC, Nayakanti H, Dorovkov MV, Calderon FR, Ryazanov AG, Haymer DS, Garruto RM. A TRPM7 variant shows altered sensitivity to magnesium that may contribute to the pathogenesis of two Guamanian neurodegenerative disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:11510–5. [[PubMed](#)]
94.  
Frey D, Schneider C, Xu L, Borg J, Spooren W, Caroni P. Early and selective loss of neuromuscular synapse subtypes with low sprouting competence in motoneuron diseases. *J Neurosci*. 2000;20:2534–42. [[PubMed](#)]
95.  
Pinter MJ, Waldeck RF, Wallace N, Cork LC. Motor unit behavior in canine motor neuron disease. *J Neurosci*. 1995;15:3447–57. [[PubMed](#)]
96.  
Chinopoulos C, Adam-Vizi V. Calcium, mitochondrie and oxidative stress in neuronal pathology. Novel aspects of an enduring theme. *Febs J*. 2006;273:433–50. [[PubMed](#)]
97.  
Petrault I, Zimowska W, Mathieu J, Bayle D, Rock E, Favier A, Rayssiguier Y, Mazur A. Changes in gene expression in rat thymocytes identified by cDNA array support the occurrence of oxidative stress in early magnesium deficiency. *Biochim et Biophys Acta*. 2002;1586:92–98.
98.  
Aarts MM, Tymianski M. TRPMs and neuronal cell death. *Pflugers Arch*. 2005;451:243–9. [[PubMed](#)]
99.  
McNulty S, Fonfria E. The role of TRPM channels in cell death. *Pflugers Arch*. 2005;451:235–42. [[PubMed](#)]
100.  
Simpson EP, Yen AA, Appel SH. Oxidative Stress: a common denominator in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2003;15:730–6. [[PubMed](#)]
101.  
Sano Y, Inamura K, Miyake A, Mochizuki S, Yokoi H, Matsushime H, Furuichi K. Immunocyte Ca<sup>2+</sup> influx system mediated by LTRPC2. *Science*. 2001;293:1327–30. [[PubMed](#)]
- 102.

- Perraud AL, Schmitz C, Scharenberg AM. TRPM2  $\text{Ca}^{2+}$  permeable cation channels: from gene to biological function. *Cell Calcium*. 2003;33:519–31. [[PubMed](#)]
- 103.
- Fonfria E, Mattei C, Hill K, Brown JT, Randall A, Benham CD, Skaper SD, Campbell CA, Crook B, Murdock PR, Wilson JM, Maurio FP, Owen DE, Tilling PL, McNulty S. TRPM2 is elevated in the tMCAO stroke model, transcriptionally regulated, and functionally expressed in C13 microglie. *J Recept Signal Transduct Res*. 2006;26:179–98. [[PubMed](#)]
- 104.
- Kraft R, Grimm C, Grosse K, Hoffmann A, Sauerbruch S, Kettenmann H, Schultz G, Harteneck C. Hydrogen peroxide and ADP-ribose induce TRPM2-mediated calcium influx and cation currents in microglie. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;286:C129–37. [[PubMed](#)]
- 105.
- Lipski J, Park TI, Li D, Lee SC, Trevarton AJ, Chung KK, Freestone PS, Bai JZ. Involvement of TRP-like channels in the acute ischemic response of hippocampal CA1 neurons in brain slices. *Brain Res*. 2006;1077:187–99. [[PubMed](#)]
- 106.
- Shen BW, Perraud AL, Scharenberg A, Stoddard BL. The crystal structure and mutational analysis of human NUDT9. *J Mol Biol*. 2003;332:385–98. [[PubMed](#)]
- 107.
- Kuhn FJ, Luckhoff A. Sites of the NUDT9-H domain critical for ADP-ribose activation of the cation channel TRPM2. *J Biol Chem*. 2004;279:46431–7. [[PubMed](#)]
- 108.
- Perraud AL, Fleig A, Dunn CA, Bagley LA, Launay P, Schmitz C, Stokes AJ, Zhu Q, Bessman MJ, Penner R, Kinet JP, Scharenberg AM. ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology. *Nature*. 2001;411:595–9. [[PubMed](#)]
- 109.
- Perraud AL, Knowles HM, Schmitz C. Novel aspects of signaling and ion-homeostasis regulation in immunocytes. The TRPM ion channels and their potential role in modulating the immune response. *Mol Immunol*. 2004;41:657–73. [[PubMed](#)]
- 110.
- McHugh D, Flemming R, Xu SZ, Perraud AL, Beech DJ. Critical intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  dependence of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) cation channel activation. *J Biol Chem*. 2003;278:11002–6. [[PubMed](#)]
- 111.
- Heiner I, Eisfeld J, Warnstedt M, Radukina N, Jungling E, Luckhoff A. Endogenous ADP-ribose enables calcium-regulated cation currents through TRPM2 channels in neutrophil granulocytes. *Biochem J*. 2006;398:225–32. [[PubMed](#)]
- 112.

Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol.* 2006;209:31–41. [[PubMed](#)]

113.

Fonfria E, Marshall IC, Boyfield I, Skaper SD, Hughes JP, Owen DE, Zhang W, Miller BA, Benham CD, McNulty S. Amyloid beta-peptide(1-42) and hydrogen peroxide-induced toxicity are mediated by TRPM2 in rat primary striatal cultures. *J Neurochem.* 2005;95:715–23. [[PubMed](#)]

114.

Zhang W, Chu X, Tong Q, Cheung JY, Conrad K, Masker K, Miller BA. A novel TRPM2 isoform inhibits calcium influx and susceptibility to cell death. *J Biol Chem.* 2003;278:16222–9. [[PubMed](#)]

115.

Fonfria E, Marshall IC, Benham CD, Boyfield I, Brown JD, Hill K, Hughes JP, Skaper SD, McNulty S. TRPM2 channel opening in response to oxidative stress is dependent on activation of poly(ADP-ribose) polymerase. *Br J Pharmacol.* 2004;143:186–92. [[PubMed](#)]

116.

Perraud AL, Takanishi CL, Shen B, Kang S, Smith MK, Schmitz C, Knowles HM, Ferraris D, Li W, Zhang J, Stoddard BL, Scharenberg AM. Accumulation of free ADP-ribose from mitochondria mediates oxidative stress-induced gating of TRPM2 cation channels. *J Biol Chem.* 2005;280:6138–48. [[PubMed](#)]

117.

Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. *Physiol Rev.* 1999;79:1127–55. [[PubMed](#)]

118.

Cassarino DS, Bennett JP Jr. An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxidative pathology, protective nuclear responses, and cell death in neurodegeneration. *Brain Res Brain Res Rev.* 1999;29:1–25. [[PubMed](#)]

119.

von Lewinski F, Keller BU.  $Ca^{2+}$ , mitochondria and selective motoneuron vulnerability: implications for ALS. *Trends Neurosci.* 2005;28:494–500. [[PubMed](#)]

120.

Damiano M, Starkov AA, Petri S, Kipiani K, Kiaei M, Mattiazzi M, Flint Beal M, Manfredi G. Neural mitochondrial  $Ca^{2+}$  capacity impairment precedes the onset of motor symptoms in G93A Cu/Zn-superoxide dismutase mutant mice. *J Neurochem.* 2006;96:1349–61. [[PubMed](#)]

121.

Mattson MP. Metal-catalyzed disruption of membrane protein and lipid signaling in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1012:37–50. [[PubMed](#)]

122.  
Capasso M, Jeng JM, Malavolta M, Mocchegiani E, Sensi SL. Zinc dyshomeostasis: a key modulator of neuronal injury. *J Alzheimers Dis.* 2005;8:93–108. [[PubMed](#)]
123.  
Gellein K, Garruto RM, Syversen T, Sjobakk TE, Flaten TP. Concentrations of Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Rb, V, and Zn in formalin-fixed brain tissue in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinsonism-dementia complex of Guam determined by High-resolution ICP-MS. *Biol Trace Elem Res.* 2003;96:39–60. [[PubMed](#)]
124.  
Carri MT, Ferri A, Cozzolino M, Calabrese L, Rotilio G. Neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis: the role of oxidative stress and altered homeostasis of metals. *Brain Res Bull.* 2003;61:365–74. [[PubMed](#)]
125.  
Kapaki E, Zournas C, Kanias G, Zambelis T, Kakami A, Papageorgiou C. Essential trace element alterations in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1997;147:171–5. [[PubMed](#)]
126.  
Borthwick GM, Johnson MA, Ince PG, Shaw PJ, Turnbull DM. Mitochondrial enzyme activity in amyotrophic lateral sclerosis: implications for the role of mitochondria in neuronal cell death. *Ann Neurol.* 1999;46:787–90. [[PubMed](#)]
127.  
Vielhaber S, Kunz D, Winkler K, Wiedemann FR, Kirches E, Feistner H, Heinze HJ, Elger CE, Schubert W, Kunz WS. Mitochondrial DNA abnormalities in skeletal muscle of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Brain.* 2000;123:1339–48. [[PubMed](#)]
128.  
Vielhaber S, Winkler K, Kirches E, Kunz D, Buchner M, Feistner H, Elger CE, Ludolph AC, Riepe MW, Kunz WS. Visualization of defective mitochondrial function in skeletal muscle fibers of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1999;169:133–9. [[PubMed](#)]
129.  
Wong PC, Pardo CA, Borchelt DR, Lee MK, Copeland NG, Jenkins NA, Sisodia SS, Cleveland DW, Price DL. An adverse property of a familial ALS-linked SOD1 mutation causes motor neuron disease characterized by vacuolar degeneration of mitochondria. *Neuron.* 1995;14:1105–16. [[PubMed](#)]
130.  
Ahlskog JE, Petersen RC, Waring SC, Esteban-Santillan C, Craig UK, Maraganore DM, Lennon VA, Kurland LT. Guamanian neurodegenerative disease: are diabetes mellitus and altered humoral immunity clues to pathogenesis? *Neurology.* 1997;48:1356–62. [[PubMed](#)]
- 131.

- Sullivan PG, Rabchevsky AG, Keller JN, Lovell M, Sodhi A, Hart RP, Scheff SW. Intrinsic differences in brain and spinal cord mitochondria: Implication for therapeutic interventions. *J Comp Neurol*. 2004;474:524–34. [[PubMed](#)]
- 132.
- Coskun PE, Beal MF, Wallace DC. Alzheimer's brains harbor somatic mtDNA control-region mutations that suppress mitochondrial transcription and replication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:10726–31. [[PubMed](#)]
- 133.
- Swerdlow RH, Parks JK, Cassarino DS, Trimmer PA, Miller SW, Maguire DJ, Sheehan JP, Maguire RS, Pattee G, Juel VC, Phillips LH, Tuttle JB, Bennett JP Jr, Davis RE, Parker WD Jr. Mitochondria in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*. 1998;153:135–42. [[PubMed](#)]
- 134.
- Wanglund C, Lynch D, Spathis R, Lum JK, Garruto RM. Evidence for mitochondrial dysfunction and its role in neurodegeneration in Guam ALS and PD. *American Journal of Human Biology*. 2006;18:280.
- 135.
- Bacman SR, Bradley WG, Moraes CT. Mitochondrial involvement in amyotrophic lateral sclerosis: trigger or target? *Mol Neurobiol*. 2006;33:113–31. [[PubMed](#)]
- 136.
- Siklos L, Engelhardt J, Harati Y, Smith RG, Joo F, Appel SH. Ultrastructural evidence for altered calcium in motor nerve terminals in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1996;39:203–16. [[PubMed](#)]
- 137.
- Rao SD, Weiss JH. Excitotoxic and oxidative cross-talk between motor neurons and glia in ALS pathogenesis. *Trends Neurosci*. 2004;27:17–23. [[PubMed](#)]
- 138.
- Boillee S, Vande Velde C, Cleveland DW. ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron*. 2006;52:39–59. [[PubMed](#)]
- 139.
- Boillee S, Yamanaka K, Lobsiger CS, Copeland NG, Jenkins NA, Kassiotis G, Kollias G, Cleveland DW. Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science*. 2006;312:1389–92. [[PubMed](#)]
- 140.
- Borchelt DR. Amyotrophic lateral sclerosis--are microglia killing motor neurons? *N Engl J Med*. 2006;355:1611–3. [[PubMed](#)]
- 141.
- Alexianu ME, Kozovska M, Appel SH. Immune reactivity in a mouse model of familial ALS correlates with disease progression. *Neurology*. 2001;57:1282–9. [[PubMed](#)]
- 142.

- Tikka TM, Vartiainen NE, Goldsteins G, Oja SS, Andersen PM, Marklund SL, Koistinaho J. Minocycline prevents neurotoxicity induced by cerebrospinal fluid from patients with motor neurone disease. *Brain*. 2002;125:722–31. [[PubMed](#)]
- 143.
- Smith RG, Henry YK, Mattson MP, Appel SH. Presence of 4-hydroxynonenal in cerebrospinal fluid of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1998;44:696–9. [[PubMed](#)]
- 144.
- Graves MC, Fiala M, Dinglasan LA, Liu NQ, Sayre J, Chiappelli F, van Kooten C, Vinters HV. Inflammation in amyotrophic lateral sclerosis spinal cord and brain is mediated by activated macrophages, mast cells and T cells. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2004;5:213–9. [[PubMed](#)]
- 145.
- Engelhardt JI, Tajti J, Appel SH. Lymphocytic infiltrates in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*. 1993;50:30–6. [[PubMed](#)]
- 146.
- Hoffman PM, Robbins DS, Oldstone MB, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC. Humoral immunity in Guamanians with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia. *Ann Neurol*. 1981;10:193–6. [[PubMed](#)]
- 147.
- Hoffman PM, Robbins DS, Nolte MT, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC. Cellular immunity in Guamanians with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinsonism-dementia. *N Engl J Med*. 1978;299:680–5. [[PubMed](#)]
- 148.
- Ferri A, Nencini M, Casciati A, Cozzolino M, Angelini DF, Longone P, Spalloni A, Rotilio G, Carri MT. Cell death in amyotrophic lateral sclerosis: interplay between neuronal and glial cells. *Faseb J*. 2004;18:1261–3. [[PubMed](#)]
- 149.
- Zhao W, Xie W, Le W, Beers DR, He Y, Henkel JS, Simpson EP, Yen AA, Xiao Q, Appel SH. Activated microglia initiate motor neuron injury by a nitric oxide and glutamate-mediated mechanism. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004;63:964–77. [[PubMed](#)]
- 150.
- Almer G, Vukosavic S, Romero N, Przedborski S. Inducible nitric oxide synthase up-regulation in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem*. 1999;72:2415–25. [[PubMed](#)]
- 151.
- Hoffmann A, Kann O, Ohlemeyer C, Hanisch UK, Kettenmann H. Elevation of basal intracellular calcium as a central element in the activation of brain macrophages (microglia): suppression of receptor-evoked calcium signaling and control of release function. *J Neurosci*. 2003;23:4410–9. [[PubMed](#)]

152.  
Siklos L, Engelhardt J, Harati Y, Smith RG, Joo F, Appel SH. Ultrastructural evidence for altered calcium in motor nerve terminals in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1996;39:203–16. [[PubMed](#)]
153.  
Appel SH, Smith RG, Alexianu M, Siklos L, Engelhardt J, Colom LV, Stefani E. Increased intracellular calcium triggered by immune mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurosci*. 1995;3:368–74. [[PubMed](#)]
154.  
Lawson LJ, Perry VH, Dri P, Gordon S. Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience*. 1990;39:151–70. [[PubMed](#)]
155.  
Appel SH, Simpson EP. Activated microglia: the silent executioner in neurodegenerative disease? *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2001;1:303–5. [[PubMed](#)]
156.  
Mattson MP. Free radicals, calcium, and the synaptic plasticity-cell death continuum: emerging roles of the transcription factor NF kappa B. *Int Rev Neurobiol*. 1998;42:103–68. [[PubMed](#)]
157.  
Ahlskog JE, Litchy WJ, Peterson RC, Waring SC, Esteban-Santillan C, Chen KM, Harper CM, Craig UK, Kurland LT. Guamanian neurodegenerative disease: electrophysiologic findings. *J Neurol Sci*. 1999;166:28–35. [[PubMed](#)]
158.  
Obrosova IG, Li F, Abatan OI, Forsell MA, Komjati K, Pacher P, Szabo C, Stevens MJ. Role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in diabetic neuropathy. *Diabetes*. 2004;53:711–20. [[PubMed](#)]
-