Relación etiopatogénica de los enterovirus con la esclerosis múltiple, el síndrome de fatiga crónica y la esclerosis lateral amiotrófica

Hernández González E,[1] Barrios Olivera J,[2]
Sarmientos L,[2] Más Lago P,[2] Bender del Busto JE,[1] Palomera FR[2]

RESUMEN

Introducción: *Aunque la etiología es aún desconocida, existe una frecuente asociación de infecciones crónicas virales con enfermedades neurológicas como la esclerosis múltiple (EM), el síndrome de fatiga crónica (SFC) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), y hechos más recientes como la detección de secuencias de RNA de enterovirus en médula espinal de pacientes con ELA, y de serologías frecuentemente positivas para éstos y otros virus en pacientes con EM y SFC, avalan algunas de estas relaciones etiopatogénicas.* ***Pacientes y métodos:*** *Se realiza la determinación de anticuerpos para diferentes enterovirus (Coxsackie A: CA9 y Coxsackie B: CB1, CB2, CB3, CB4, CB5, CB6) a 20 pacientes con EM, cuatro pacientes con SFC, 11 pacientes con ELA, y 20 controles sanos, mediante el método de neutralización indirecta.* ***Resultados:*** *Se obtuvieron títulos promedios geométricos (TPG) de anticuerpos para enterovirus CB3 de 54.5 en pacientes con EM y de 31.1 en relación con controles, así como de CA9 de 32.3 en relación con 22.2 para controles; en el SFC para CA9 de 78.89 (en relación con 22.14 en controles en relación con los demás serotipos, los cuales resultaron significativos; en pacientes con ELA el TPG de CB2 de 44.66 (en relación con 15.36 en controles).* ***Conclusiones:*** *La implicación de los enterovirus en la patogenia de estas enfermedades es aún controvertida, pero la frecuente asociación de títulos de anticuerpos para algunos serotipos específicos en pacientes con EM, SFC y ELA en relación con un grupo control, podría tener relaciones etiopatogénicas, lo cual abriría nuevas posibilidades para comprender la causa de las mismas.*

Palabras clave: *enterovirus, etiopatogenia, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, síndrome de fatiga crónica.*

Rev Mex Neuroci 2004; 5(4): 313-318

Etiopathogenic relation of enteroviruses with multiple sclerosis, chronic fatigue syndrome and amyotrophic lateral sclerosis.

ABSTRACT

Introduction: *Although its aetiology is still unknown, there is a frequent association of chronic viral infections with neurological diseases, such as: Multiple Sclerosis (MS), Chronic Fatigue Syndrome (CFS) and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Also more recent facts, are the detection of RNA sequences from enteroviruses in the spinal cord in patients with ALS, with serology's frequently positive toward these and others viruses in patients suffering from MS and CFS, that ascertain some of these etiopathogenic relations.* ***Patients and methods:*** *We performed the determination of antibodies for different enteroviruses (Coxsackie A: CA9 and Coxsackie B: CB1, CB2, CB3, CB4, CB5, CB6) on 20 patients with MS, 4 with, CFS11 with ALS, and 20 healthy control, through the method of indirect neutralizing.* ***Results:*** *We obtained average geometric titles of antibodies for enteroviruses: CB3 of 54.5% in patients with MS, 31 related to control ones; CA9 of 32.3% in relations to 22.2 for the control group; in patients with CFS for CA9 of 78.89 (in relation with 22.14 in controls) which were significant in reference to the other serotypes, and patients with ALS, CB2 of 44.66% in relation to 15.36 in control ones.* ***Conclusions:*** *The implication of these enteroviruses in the pathogenic of these diseases, is still controversial, but the frequent title association of some antibodies for some specific serotypes in patients with MS, CFS and ALS in reference to the control group, may have etiopathogenic relations, that is a fact that could open new possibilities to understand their causes.*

Keys words: *enteroviruses, etiopathogenic, chronic fatigue syndrome, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis.*

Rev Mex Neuroci 2004; 5(4): 313-318

1. Centro Internacional de Restauración Neurológica.
2. Instituto Medicina Tropical Pedro Kourí.

Correspondencia: Dra. Elizabeth Hernández González
Clínica Afecciones Neuromusculares y Esclerosis Múltiple. Centro Internacional de Restauración Neurológica. Dirección: Ave 25 No.15805 E/ 158 y 160, Playa. CP11300, CH.Cuba
Email: elizabeth.hdez@infomed.sld.cu, eliza@neuro.ciren.cu

INTRODUCCIÓN

Muchas enfermedades neurológicas desafortunadamente carecen de una causa conocida en la actualidad; los grandes progresos de la ciencia y la técnica, así como los resultados de las investigaciones que se han realizado en los últimos años, vislumbran posibles etiologías, las cuales podrían argumentarse en el futuro, con la ayuda de la medicina molecular y con el esfuerzo conjunto de numerosos especialistas, dedicados a investigar en el campo de las neurociencias.

En algunas de estas entidades como la EM, el SFC y la ELA se han propuesto complejos mecanismos donde los agentes infecciosos en interacción con otros factores (genéticos, inmunológicos, ambientales) podrían jugar un rol fundamental para desarrollar la enfermedad.[1]

La EM es una enfermedad desmielinizante e inflamatoria del SNC, con gran heterogeneidad clínica, y en la que un posible agente infeccioso, de tipo viral, quizás adquirido en los primeros años de la vida y en un individuo susceptible,[2] sea capaz de desarrollar una respuesta inmune anormal, con daño de la mielina del SNC, con las consiguientes manifestaciones clínicas que la caracterizan, y lo han evidenciado múltiples estudios epidemiológicos, inmunopatológicos y clínicos que han detectado la presencia de anticuerpos para Epstein Barr virus, herpes simple virus, virus de la leucemia de células T humanas (HTLV I), tanto en suero como LCR de estos pacientes.[2-6]

El SFC es un desorden multisistémico que produce una fatiga discapacitante, síntomas neurológicos y neuromusculares, anomalías en el sistema inmunológico y desequilibrios hormonales y que se caracteriza por la presencia de fatiga crónica severa durante seis meses o más, con la exclusión de otras condiciones médicas, así como por la aparición concurrente de los siguientes síntomas, en forma persistente y con recaídas durante por lo menos seis meses consecutivos, como falta de concentración y pérdida de la memoria inmediata, dolor de garganta, inflamación de los nódulos linfáticos, dolores musculares, dolores articulares sin hinchazón ni enrojecimientos, cefaleas de un nuevo tipo patrón o severidad, trastornos del sueño, así como malestar después de un esfuerzo durante más de 24 horas.

Se han propuesto para el SFC hipótesis etiológicas virales como el hallazgo de anticuerpos séricos para virus como el Epstein Barr, así como contra herpes simple y herpes virus 6, el citomegalovirus, así como para enterovirus, los que han sido reportados en numerosos estudios realizados en pacientes con la enfermedad.[7,8]

Otra teoría propone un agente "x", aún desconocido, que actúa atrayendo las células T, que liberan citoquinas: una de ellas, la interleukina 2, fue estudiada exhaustivamente, pues al ser utilizada produce síntomas similares al SFC.

La tercera teoría estudia los retrovirus, tres de ellos se encuentran con frecuencia en el ser humano. El VIH, productor del SIDA, y el HTLV-1 y HTLV-2, causantes de diversas formas de leucemia, los cuales han sido hallados en varios pacientes con SFC. Se considera de importancia la presencia de deficiencias en la inmunidad celular, que es resaltada como factor etiológico asociado.

A nivel molecular, las causas de la fatiga incluyen una disminución en la fosfocreatina muscular, un combustible de acceso rápido del músculo. En algunos pacientes se halló también una acumulación de protones, que ocasionan la fatiga muscular; otros combustibles musculares descendidos son el glucógeno muscular y la glucosa en sangre. Hay un aumento en plasma de la relación entre la concentración de triptófano libre y los aminoácidos de cadena ramificada.

La acumulación de protones que se ve al realizar esfuerzos físicos es mayor aún en gente sedentaria. Como en ellos disminuye la actividad aeróbica y aumenta la glucólisis anaeróbica, hay un desmesurado aumento de los niveles de ácidos grasos plasmáticos, pues la oxidación no alcanza a consumir el total de los ácidos grasos movilizados. El aumento de los ácidos grasos en plasma aumenta indirectamente la concentración plasmática de triptófano, que a su vez ingresa en mayor cantidad al cerebro. El ingreso aumentado de triptófano al SNC eleva el nivel de 5 hidroxitriptamina cerebral que es la causa de la fatiga central.[9,10]

Otras investigaciones más recientes parecen indicar que el fundamento etiológico podría estar relacionado con alteraciones del sueño, ya que en el SFC se han encontrado trastornos periódicos de la motilidad, apneas, narcolepsia y somnolencia diurna,[11] que aún no han sido identificados totalmente. Los hallazgos de las investigaciones sobre el sueño y los ritmos circadianos coinciden con los de los últimos trabajos de investigación sobre el SFC, así como también se plantean alteraciones del sistema nervioso autónomo.[12]

En relación con la ELA, enfermedad considerada degenerativa, y en la que recientemente se ha detectado mediante técnica de biología molecular, RNA de enterovirus en muestras de médula espinal de pacientes con la enfermedad,[13] y la existencia de otras evidencias que hacen sospechar una posible etiología viral, como la presencia de partículas virales en pacientes con la enfermedad, a través de estudios de microscopia electrónica, la evidencia de reacción inflamatoria en el tejido nervioso afectado, así como la presencia de anticuerpos antivira-

les específicos asociados con la ocurrencia de ELA y la evidencia de material genético viral encontrado específicamente en tejidos de pacientes con ELA, en relación con muestras controles,[14] ha abierto nuevos horizontes en la investigación, con el objetivo de encauzar la conducta médica hacia estrategias más específicas de tratamiento en este nuevo milenio.

Por todo lo anterior, nos propusimos relacionar la presencia de un agente infeccioso enteroviral en la etiología de la esclerosis múltiple, el síndrome de fatiga crónica y la esclerosis lateral amiotrófica, ya que por sus características epidemiológicas, con una distribución mundial, así como por su comportamiento patogénico, con neurotropismo positivo, largos periodos de latencia, podría ser un candidato no bien estudiado en la actualidad en la patogenia de estas enfermedades.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se realiza la determinación de anticuerpos neutralizantes (AN) para diferentes serotipos de enterovirus: Coxsackie A9 (CA9), Coxsackie B1 (CB1), Coxsackie B2 (CB2), Coxsackie B3 (CB3), Coxsackie B4 (CB4), Coxsackie B5 (CB5), Coxsackie B6 (CB6) a 20 pacientes con esclerosis múltiple, cuatro pacientes con síndrome de fatiga crónica, 11 pacientes con esclerosis lateral amiotrófica y 20 controles sanos, los cuales han sido atendidos y estudiados en el Centro Internacional de Restauración Neurológica en el periodo de 2001-02.

Para la definición diagnóstica de EM se aplican los criterios de Poser (modificados), incluyéndose sólo los pacientes con la enfermedad definida; el SFC se diagnosticó según los criterios de CDC de Atlanta de octubre/98, así como en la ELA, los criterios de El Escorial. No se incluyeron en el estudio pacientes con infección sintomática respiratoria o digestiva en los últimos tres meses a su evaluación, así como los controles se trataban de pacientes que acudían para chequeos rutinarios (en ausencia de enfermedad neurológica o infecciosa).

Los sueros se procesaron en el laboratorio de enterovirus del IPK, mediante el método de neutralización indirecta, según los métodos recomendados por EPI/OMS con la modificación de que la lectura no se realizó por tinción. Para monitorizar el comportamiento de los sueros positivos se les realizaron diluciones desde 1:8 hasta 1:1024 para ser titulados; a los resultados obtenidos, se realizaron análisis estadístico (t-Student) para muestras no pareadas.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

La presencia de títulos promedios geométricos para CB3 de 54.5 en pacientes con EM, en relación con otros serotipos virales y en comparación con el grupo control que fue 31.1 puede resultar significativo (Figura 1) si tenemos en consideración que existe frecuente asociación de infecciones respiratorias enterovirales como causa de las exacerbaciones de la enfermedad, por lo que se ha planteado que existe cierto mimetismo molecular entre éstas y los antígenos mielínicos que desencadenan el ataque, por la semejanza de la región P3A de la poliproteína del Coxsackie B3 y Coxsackie B4 con la PBM, o que quizás el virus actúa como un superantígeno capaz de inducir los linfocitos T y activar la enfermedad, o qué infecciones tempranas por enterovirus pudieran estar relacionadas con determinadas enfermedades del SNC en el adulto, por mantenerse en forma latente y reactivarse, favorecidos por fenómenos de diferente naturaleza, lo cual produciría partículas virales con potencialidad de mediar un proceso de autoinmunidad.[3,15-17] Con respecto a los demás serotipos, aunque las diferencias no son significativas entre pacientes y controles, no obstante se encontraron anticuerpos para la mayoría de los mismos en ambos grupos, que pudiera explicarse por la alta prevalencia de estas infecciones en la población general.

De hecho, esto no estaría en contradicción con las hipótesis más recientes de que en la EM, un virus puede persistir o reactivarse en el SNC y producir daño directamente o a través de la respuesta inmune desarrollada para su eliminación (hit-hit), o por otro lado, el virus nunca entraría al SNC, se mantendría en la periferia mediando un proceso de autoinmunidad (hit-run).[18]

En relación al SFC, donde se encontraron TPG altos de CA9 (78.8) en relación con el grupo control (22.2), en relación con los demás serotipos, lo cual también ha resultado significativo en nuestro estu-

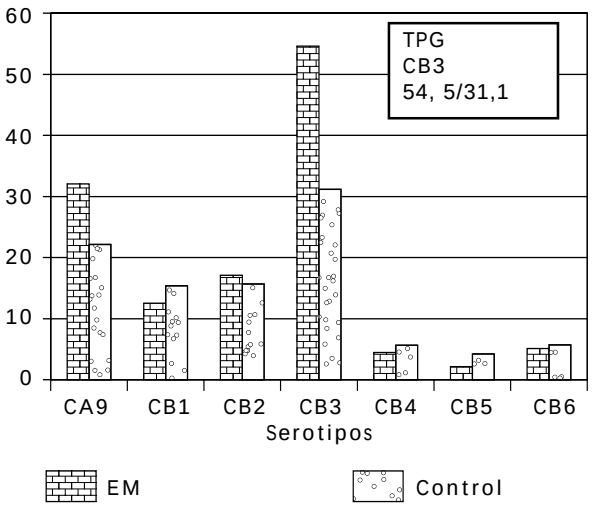

Figura 1. Relación del título de anticuerpos para enterovirus en pacientes con EM y controles.

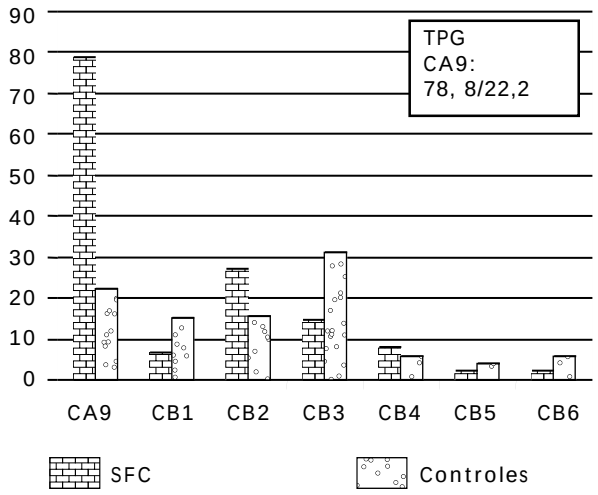

Figura 2. Relación entre el título de anticuerpos para enterovirus de pacientes con SFC y controles.

dio (Figura 2). Otros reportes, como Nair, et al. han estudiado al respecto mediante anticuerpos neutralizantes y RCP en un grupo de pacientes y controles para serotipos del Coxsackie B y no han encontrado diferencias importantes al comparar los anticuerpos neutralizantes entre pacientes y controles (34/41), pero sí al utilizar reacción en cadena de la polimerasa de la región 5'no codificante del genoma de los enterovirus entre esos mismos grupos (42/9), lo que evidencia la presencia de los mismos en el grupo de pacientes, y la posible participación de alguna forma en la enfermedad. De hecho, los pacientes con SFC presentan factores predisponentes o precipitantes muy similares al de los procesos infecciosos, como stress mantenido, alteraciones inmunitarias y, por supuesto, es característico el SFC postinfeccioso que se describe en múltiples enfermedades, con muy similares características clínicas.[19,20] Es conocido además que la presencia de enterovirus en el músculo esquelético se asocia a una anormal respuesta del lactato durante el ejercicio, lo cual alterna el metabolismo muscular en tales pacientes.[21]

De hecho, nuestra muestra de pacientes es pequeña, pero teniendo en cuenta éstos y muchos otros estudios al respecto, los múltiples agentes etiológicos planteados no han sido lo suficientemente consistentes como para dar una hipótesis convincente,[22] no obstante los enterovirus serían unos buenos candidatos para relacionarlos con el SFC, por tener alta prevalencia en la población, capacidad de producir infecciones crónicas, latencia prolongada, neurotropismo positivo y en individuos con ciertos factores predisponentes, son capaces de replicarse y producir enfermedad clínica, con repercusión multisistémica.[23,24]

La presencia de títulos séricos de CB2 de 46.6 en pacientes con ELA en relación con 15.6 en sujetos sanos, así como del resto de los otros serotipos, en una proporción mayor en los enfermos que en sujetos sanos (Figura 3), nos hace plantear que existe alguna susceptibilidad mayor o especial en el grupo de enfermos, en los mecanismos de respuesta inmune mediada por anticuerpos para los enterovirus, simplemente es una respuesta a una infección crónica o latente por éstos.

En relación con el posible papel de los virus en la ELA, también ha habido discrepancia entre los diferentes reportes, por ejemplo, Walter, et al.[25] no han podido demostrar la presencia de echovirus en 10 muestras de corteza motora ni en 20 muestras de autopsia de médula espinal de pacientes con la enfermedad; otros han relacionado otros virus como el HIV 1, el HSV 1, el HTLV, el HBV y varios enterovirus no polio con la enfermedad,[26-28] pero no han ido más allá de reportar su coexistencia, con algunas limitaciones por ser pequeñas muestras y en ocasiones contradictorios resultados, sin embargo, Berger, et al.[13] han reportado fuertes evidencias, al encontrar presencia de echovirus 6 mediante RCP en un grupo significativo de pacientes con la enfermedad (88%) en comparación con un grupo de sujetos con otras enfermedades neurológicas (3%). Se ha reportado además un cuadro clínicamente similar a la ELA en pacientes con infección por retrovirus, con mejoría y regresión total de la sintomatología tras el tratamiento antirretroviral.[29]

Lo cierto es que aunque la presencia de éstos no se correlaciona necesariamente o siempre con la enfermedad, aún se pudiera inferir que las personas enfermas son más susceptibles a una infección viral, teorías que no se excluyen mutuamen-

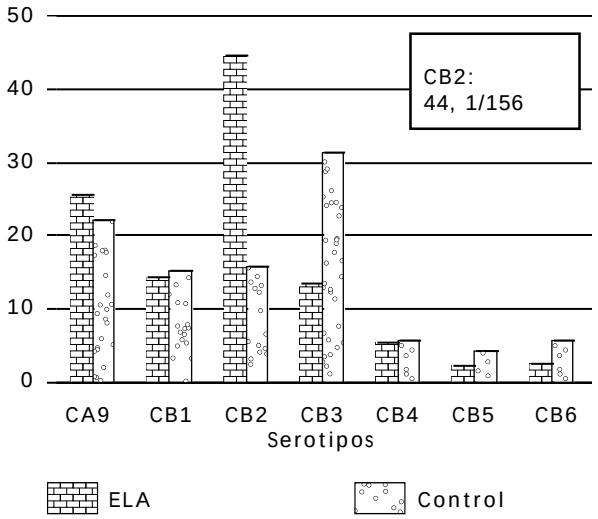

Figura 3. Relación del título de anticuerpos para enterovirus en pacientes con ELA y controles.

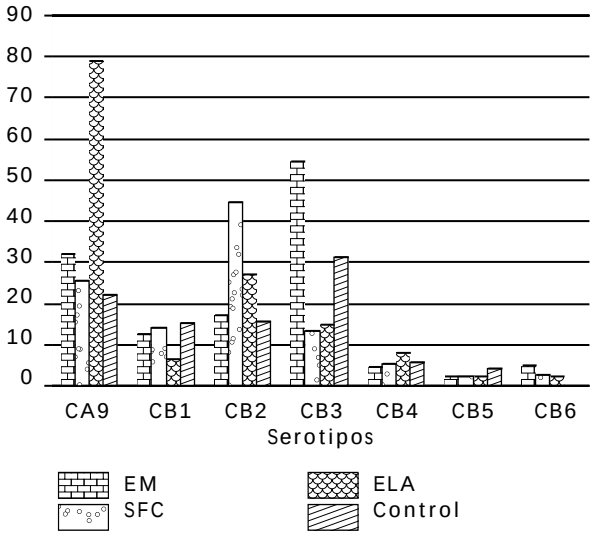

Figura 4. Comparación de los serotipos más significativos en los diferentes tipos de estudio.

te, pues es posible que las células nerviosas infectadas sean más susceptibles a la excitotoxicidad del glutamato, o viceversa, es decir, que la infección viral ocurra como consecuencia de la toxicidad del mismo, haciéndolas sucumbir,[30] y por tanto jugando algún papel patogénico en tales procesos.

CONCLUSIONES

Por todo lo anterior podemos resumir que encontramos anticuerpos séricos para todos los serotipos de enterovirus estudiados en pacientes con estas enfermedades neurológicas cuya etiología es aún desconocida, pero también existe presencia de los mismos en un grupo control sano, no obstante, llama la atención que para algunos serotipos específicos como el CB2, CA9 y CB3 en pacientes con EM, SFC y ELA, respectivamente, y en comparación con el grupo control, el valor es más alto en el grupo de enfermos (Figura 4) y si bien no podemos decir que existe ninguna evidencia de una relación etiopatogénica directa de los mismos, algún rol patogénico podría haber jugado al inicio de la enfermedad, pues existen anticuerpos séricos en ausencia de infección aparente activa, cuyas posibles explicaciones podrían ser, que se tratase de anticuerpos de memoria, por tratarse de un virus defectivo, que se mantiene replicando subclínicamente en los tejidos o células comprometidas o, por otro lado, existe quizás algún fenómeno de mimetismo molecular entre estructuras de estos virus y las del sistema nervioso, fenómenos posibles y ya descritos en múltiples enfermedades neurológicas.

RECOMENDACIONES

Continuar estudiando el perfil etiológico infeccioso de tipo viral en la patogenia de algunas enfermedades neurológicas de etiología incierta.

AGRADECIMIENTOS

A la Téc. Míriam Macfersson, al Ing. Alejandro Romero, a la Lic. María Luisa Rodriguez y a la Prof. Martha Cristophol.

REFERENCIAS

1. *Muir P, Nicholson F, Spencer GT, et al. Enterovirus infection of the central nervous system of humans: lack of association with chronic neurological disease. J Gen Virol 1996; 77: 1469-76.*
2. *Kurrtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infections. Clinical Microbiol Rev 1993; 6(4): 382-427.*
3. *Hernández E. Relación etiopatogénica de los enterovirus y el HTLV I con la esclerosis múltiple. Tesis IPK 1999.*
4. *Tenser RB. Epstein-Barr virus and risk of multiple sclerosis. JAMA 2003; 290(2): 192-3.*
5. *Christensen T, Dissing P, Riemann H, Hansen HJ, Moller-Larsen A. Expression of sequence variants of endogenous retrovirus RGH in particle from in multiple sclerosis. Lancet 1998; 352: 1033.*
6. *Mayne M, Krishnan J, Mets L, et al. Infrequent detections of human herpesvirus 6 NA in peripheral blood mononuclear cell from multiple sclerosis. Ann Neurol 1998; 44(3): 391-4.*
7. *Wainwright E. Actualización sobre el síndrome de fatiga crónica. Aclmeon: Revista Argentina de Clínica Neuropsiquiátrica (publicación periódica en línea) 1994 Dic [citada 2003 Nov 11]; 3(4): [10 pantallas].*
8. *Chronic fatigue syndrome: Program Update 2002-2003. (Sitio en Internet) CDC: Center for Diseases Control and Prevention. Disponible en: http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/cfs/program-updates/cfs-uptdate-031703.htm Acceso el 6 de Nov 2003.*
9. *Reeves WC, Stamey FR, Black JB, Mawle AC, Stewart JA, Pellett PE. Human herpesviruses 6 and 7 in chronic fatigue syndrome: a case-control study. Clin Infect Dis 2000; 31: 48-52.*
10. *Bonner MR, Chadler T y col. Chronic fatigue syndrome: a follow up study. Neurol Neurosurg Psych 1994; 57: 617-21.*
11. *Krupp L. Sleep disturbances in chronic fatigue syndrome. J Psychosom Res 1993; 37(4): 325-31.*
12. *Gerrity TR, Bates J, Bell DS, Chrousos G, Furst G, Hedrick T, Hurwitz B, Kula RW, Levine SM, Moore RC, Schondorf R. Chronic fatigue syndrome: what role does the autonomic nervous system play in the pathophysiology of this complex illness? Neuro Immuno Modulation 2002; 10: 134-41.*
13. *Berger MM, Kopp N, Vital C, Redl B, Aymard M, Lina B. Detection and cellular localization of enterovirus RNA sequences in spinal cord of patients with ALS. Neurology 2000; 54: 20-5.*
14. *Swanson NR, Fox SA, Mastaglia FL. Search for persistent infection with poliovirus or other enteroviruses in amyotrophic lateral sclerosis-motor neuron disease. Neuromuscul Disord 1995; 5: 457-65.*
15. *Hernández E, Bender JE, Díaz HM, Lorigados L, Millán JC. Relación etiopatogénica del HTLV I y la esclerosis múltiple. Rev Mex Neuroci 2002; 3(1): 37-42.*
16. *Mas PL, Guzman MG, Sarmiento L. Mecanismo de participación de los enterovirus en la neuropatía epidémica. Hi-*

pótesis fisiopatológicas. Rev Cub Med Trop 1997; 49(3): 186-95.

17. *Lucchineti CF, Brueck W, Rodríguez M, Lassman H. Multiple sclerosis. Lesson from neuropathology. Sem Neurol 1998; 18(3): 337-49.*
18. *Scarisbrick IA, Rodriguez M. Hit-hit and hit-run: viruses in the playing field of multiple sclerosis. Curr Neurol Neurosci Rep 2003; 3(3): 265-71.*
19. *Nairn C, Galbraith DN, Clements GB. Comparison of Coxsackie B neutralisation and enteroviral PCR in chronic fatigue patients. J Med Virol 1995; 46(4): 310-13.*
20. *Reyes M, Dobbins JG, Mawle AC, Steele L, Gary HE, Malani H, Schmid S, Fukuda K, Stewart J, Nisenbaum R, Reeves WC. Risk factors for CFS: a case control study. Chronic Fatigue Syndrome 1996; 2: 17-33.*
21. *Lane RJ, Soteriou BA, Zhang H, Archard LC. Enterovirus related metabolic myopathy: a postviral fatigue syndrome. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003; 74(10): 1382-6.*
22. *Gelman IH, Unger ER, Mawle AC, Nisenbaum R, Reeves WC. Chronic fatigue syndrome is not associated with expression of endogenous retroviral p15E. Mol Diag 2000; 5: 155-6.*
23. *Clements GB, McGarry F, Nairn C, Galbraith DN. Detection of enterovirus-specific RNA in serum: the relationship to chronic fatigue. J Med Virol 1995; 45: 156-61.*
24. *Douche-Aourik F, Berlier W, Feasson L, Bourlet T, Harrath R, Omar S, Grattard F, Denis C, Pozzetto B. Detection of enterovirus in human skeletal muscle from patients with chronic inflammatory muscle disease or fibromyalgia and healthy subjects. J Med Virol 2003; 71(4): 540-7.*
25. *Walker MP, Schlaberg R, Hays AP, Bowser R, Lipkin WI. Absence of echovirus sequences in brain and spinal cord of amyotrophic lateral sclerosis patients. Ann Neurol 2001; 49: 249-53.*
26. *Andrews WD, Tuke PW, Al-Chalabi A, Gaudin P, Ijaz S, Parton MJ, Garson JA. Detection of reverse transcriptase activity in the serum of patients with motor neurone disease. J Med Virol 2000; 61(4): 527-32.*
27. *Giraud P, Kopp N, Lina B, Chazot G. Amyotrophic lateral sclerosis: a role for enteroviruses? Rev Neurol 2000; 156: 352-6.*
28. *Giraud P, Beaulieux F, Ono S, Shimizu N, Chazot G, Lina B. Detection of enteroviral sequences from frozen spinal cord samples of Japanese ALS patients. Neurology 2001; 56(12): 1777-8.*
29. *Portegies P, Cohen ES. Possible etiological role retroviruses and enteroviruses in the development of amyotrophic lateral sclerosis. Ned Tijdschr Geneeskd 2002; 146(30): 1398-400 (ISSN: 0028-2162).*
30. *Legay V, Deleage C, Beaulieux F, Giraudon P, Aymard M, Lina B. Impaired glutamate uptake and EAAT2 down regulation in an enterovirus chronically infected human glial cell line. Eur J Neurosci 2003; 17(9): 1820-8.*
31. *Thompson AJ, Montalban X, Barkhof F, Brochet B, Filippi M, Miller DH, Polman CH, Stevenson VL, McDonald WI. Primary progressive multiple sclerosis: new diagnostic criteria. Ann Neurol 2000; 47(6): 831-5.*