

# Alteraciones mitocondriales en las enfermedades neurodegenerativas

F.J. Jiménez-Jiménez, M. Ortí-Pareja, J.A. Molina-Arjona<sup>a</sup>

**Resumen.** Existen muchos datos que sugieren el papel de las reacciones oxidativas mediadas por radicales libres en las enfermedades neurodegenerativas. La cadena respiratoria mitocondrial ejerce un papel protector contra dichas reacciones, por lo que su disfunción podría contribuir al 'estrés oxidativo'. Se han descrito alteraciones de la función de la cadena respiratoria y del genoma mitocondrial en diversas enfermedades neurodegenerativas, como en las de Parkinson, Alzheimer y Huntington. En el presente artículo se revisa el estado actual esta cuestión [REV NEUROL 1998; 26 (Supl 1): S 112-7].

**Palabras clave.** Disfunción mitocondrial. Distonía. Enfermedad de Alzheimer. Enfermedad de Huntington. Enfermedad de Parkinson. Esclerosis lateral amiotrófica. Estrés oxidativo. Genoma mitocondrial. Neurodegeneración.

## MITOCHONDRIAL ALTERATIONS IN NEURODEGENERATIVE DISORDERS

**Summary.** There are many data suggesting the possible role of oxidative reactions mediated by free radicals in neurodegenerative disease. Because the mitochondrial respiratory chain exerts a protective role against these reactions, its dysfunction could contribute to 'oxidative stress'. There have been described alterations of the mitochondrial respiratory chain and mitochondrial genome in several neurodegenerative diseases, such as in Parkinson's, Alzheimer's and Huntington's diseases. This article focuses on a review of the current knowledge regarding this issue [REV NEUROL 1998; 26 (Supl 1): S 112-7].

**Key words.** Alzheimer's disease. Amyotrophic lateral sclerosis. Dystonia. Huntington's disease. Mitochondrial dysfunction. Mitochondrial genome. Neurodegeneration. Oxidative stress. Parkinson's disease.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han publicado un gran número de estudios sobre el posible papel de las reacciones oxidativas en la patogenia del envejecimiento tisular y de muchas enfermedades, incluyendo las neurodegenerativas [1]. Estas reacciones son mediadas por los llamados radicales libres o 'especies reactivas de oxígeno'.

El hecho de que la fosforilación oxidativa se lleve a cabo en las mitocondrias, donde los radicales libres pueden ser eliminados y transformados en agua, sería un factor protector contra las reacciones oxidativas [1]. La actividad de los complejos mitocondriales y las alteraciones del ADN mitocondrial (ADNmt) han sido estudiadas en diversas enfermedades neurodegenerativas por su posible papel en la patogenia de dichas entidades. En el presente artículo se revisa el estado actual de esta cuestión.

## ENFERMEDAD DE PARKINSON

La enfermedad de Parkinson (EP) se caracteriza clínicamente por la presencia de bradicinesia, rigidez y temblor, y, desde el punto de vista neuropatológico, por dos datos fundamentales [2]:

- Pérdida de neuronas monoaminérgicas del tronco cerebral (sobre todo de la sustancia negra compacta y del locus coeruleus), que se asocia a disminución de niveles de dopamina (DA) y de sus metabolitos, los ácidos 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC)

y homovanílico (AHV). Para que aparezcan los síntomas de la EP, se requiere una pérdida neuronal mínima del 80% en la sustancia negra compacta.

- Presencia de cuerpos de inclusión eosinófilos citoplasmáticos, denominados cuerpos de Lewy, en dichas neuronas.

La etiología de la EP es desconocida, aunque se ha sugerido que ésta podría ser multifactorial, interviniendo en la misma diversos factores genéticos y ambientales, y el envejecimiento [3,4]. Sin embargo, no existen datos suficientes que apoyen alguno de estos factores como único responsable, e incluso se ha sugerido la posibilidad de que con el término EP se designen varias enfermedades diferentes [5]. Los posibles mecanismos patogénicos son también desconocidos, aunque las hipótesis más aceptadas en la actualidad incluyen la contribución de los siguientes factores [2,4]: 1. Estrés oxidativo. 2. Neuromelanina. 3. Alteraciones de la función mitocondrial. 4. Excitotoxicidad. 5. Déficit de proteínas ligadoras de calcio. 6. Óxido nítrico. 7. Déficit de factores tróficos. 8. Citoquinas.

El descubrimiento de que el derivado piridínico MPTP era capaz de inducir un cuadro parkinsoniano parecido a la EP, tanto en humanos como en animales, ha ayudado a comprender algunos de los posibles mecanismos etiopatogénicos de dicha enfermedad. El MPTP es transformado por la monoaminoxidasa B (MAO-B) glial en ion MPDP<sup>+</sup>, compuesto inestable que se transforma rápidamente en el ion 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP<sup>+</sup>), metabolito responsable de la acción neurotóxica. El MPP<sup>+</sup> es captado por las neuronas por el mismo sistema de recaptación que la dopamina [6,7], e inhibe el complejo I (NADH-CoQ<sub>1</sub> reductasa) de la cadena respiratoria mitocondrial [8-10] y el complejo alfa-cetoglutarato-deshidrogenasa del ciclo de Krebs [11]. Como consecuencia, se produce una marcada disminución de la síntesis de ATP y de glutatión, un fracaso energético y la reducción del atrapamiento de electrones libres y de sustancias oxidantes, que conducen a la muerte neuronal. Estas acciones inhibitorias sobre complejos enzimáticos mitocondriales son también ejercidas por análogos en-

Recibido: 11.12.97. Aceptado:

Sección de Neurología. Hospital Príncipe de Asturias. Universidad de Alcalá de Henares. <sup>a</sup> Servicio de Neurología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid, España.

Correspondencia: Dr. Félix Javier Jiménez-Jiménez. Sección de Neurología. Hospital Príncipe de Asturias. Universidad de Alcalá de Henares. Ctra. de Alcalá-Meco, s/n. E-28880 Alcalá de Henares, Madrid.

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por las becas FIS (95/0269), FIS (97/1262) y FIS (97/5578) y por la Fundación Neurociencias y Envejecimiento.

© 1998, REVISTA DE NEUROLOGÍA

dógenos de las tetrahydroisoquinolinas, que han sido implicados en la etiopatogenia de la EP [11, 12].

### ***Estudios de la función mitocondrial en la EP***

Una vez conocido el efecto inhibitor del MPP<sup>+</sup> sobre el complejo I mitocondrial, parecía razonable estudiar la función mitocondrial en pacientes con EP. Varios grupos investigadores han descrito una disminución de la actividad del complejo I [13-18] y de la tinción con anticuerpos contra éste [19] en la sustancia negra del cerebro de pacientes parkinsonianos post mortem. Schapira et al [16] han sugerido incluso que dicha disminución de complejo I sólo sucede en sustancia negra, y no en otras áreas cerebrales de pacientes parkinsonianos y que es específica para la EP, ya que no la encontraron en pacientes con otras enfermedades en las que se produce muerte de neuronas dopaminérgicas. También se ha descrito disminución de la actividad del complejo alfa-cetoglutarato-deshidrogenasa mitocondrial en la sustancia negra en la EP [20].

La actividad de los complejos enzimáticos de la cadena respiratoria mitocondrial ha sido estudiada en diversos tejidos periféricos de pacientes parkinsonianos, incluyendo músculo, plaquetas y linfocitos. Sin embargo, los resultados obtenidos en estos tejidos han sido muy dispares y no permiten obtener conclusiones ni establecer un posible marcador biológico para el diagnóstico de la EP.

Algunos autores han encontrado disminución de la actividad de los complejos I [21-28], II [21], III [28] y IV [21,27,28] en músculo, mientras que otros no han detectado alteraciones [17, 29-31]. Estudios en músculo utilizando resonancia magnética con espectroscopia de <sup>31</sup>P tampoco han mostrado alteraciones de la función mitocondrial [32].

En plaquetas se ha descrito disminución de actividad de los complejos I [33-37], II-III [37] y IV [36] en algunos estudios, mientras que en otros no se detectaron diferencias con respecto a controles [17,38]. Dos estudios se realizaron con homogenados tisulares [34] y los demás con mitocondria aislada [33,35-38].

Dos estudios en homogenados de linfocitos mostraron, respectivamente, disminución de la actividad del complejo II [33] y de los complejos I y IV [39]. Sin embargo, un estudio reciente de nuestro grupo en mitocondrias aisladas de linfocitos, no mostró diferencias en la actividad de complejos mitocondriales entre pacientes con EP y controles [40]. Los estudios en muestras post mortem congeladas de sustancia negra sólo se pueden realizar en homogenados, dada la escasa cantidad de tejido disponible [41], por lo que podría haber sucedido un hecho similar al encontrado en linfocitos. Esto cuestionaría la hipótesis de la relación causal entre déficit de complejo I mitocondrial y EP.

### ***ADN mitocondrial y EP***

Tras el hallazgo de la disminución de actividad de complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial se comenzó el estudio de las posibles alteraciones del genoma mitocondrial en el riesgo para EP, ya que 7 de las 13 subunidades del complejo I son codificadas por el ADNmt. Varios estudios, usando técnicas diferentes, no han demostrado la presencia de deleciones del ADNmt en la sustancia negra de pacientes parkinsonianos, con excepción de algunas explicables por la edad [42-47]. Tampoco se han encontrado deleciones en el ADN de mitocondrias de músculo [31]. Sin embargo, algunos autores han sugerido que el acúmulo de mutaciones puntuales del ADNmt relacionadas con el envejecimiento, observadas en algunos pacientes con EP, podría estar aumentado

en el estriado de éstos, y que el fenotipo del ADN mutante se expresaría cuando la proporción de éste llegara a ser unas 10 veces mayor que la del ADNmt normal [48-51]. Shoffner et al [52] encontraron la presencia de una variante del gen ARNt<sup>Gln</sup> en el par de nucleótidos 4336 con mucha mayor frecuencia en pacientes con EP que en controles.

Dado que el ADNmt se hereda exclusivamente por vía materna, si la EP tuviera herencia mitocondrial existiría un predominio de la transmisión materna sobre la paterna, hecho no observado en la mayoría de estudios [53,54]. Estos datos parecían descartar la hipótesis de herencia mitocondrial de la EP.

Sin embargo, un estudio reciente mostró tendencia hacia la herencia por vía materna en casos con antecedentes familiares, así como una edad más precoz de comienzo de la EP en casos con herencia materna que en los casos con herencia paterna [55]. En otro estudio reciente, en el que se repoblaron células clonadas de neuroblastoma humano (que carecen de mitocondrias), con mitocondrias procedentes de plaquetas de pacientes parkinsonianos o de controles, se comprobó que las células repobladas con las mitocondrias de pacientes con EP tenían una menor actividad del complejo I que las repobladas con mitocondrias de controles [56]. Esto sugiere que el déficit de complejo I podría ser de origen genético.

## **ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más frecuente de demencia. Su síntoma inicial, y uno de los más importantes, es la pérdida de memoria. Desde el punto de vista neuropatológico se caracteriza por la pérdida progresiva de poblaciones neuronales, especialmente a nivel de la corteza cerebral e hipocampo, y la presencia de placas seniles y ovillos neurofibrilares en las regiones cerebrales afectadas [57]. La alteración neuroquímica más importante es la disminución de inervación colinérgica cortical, con disminución de la actividad de colinacetyltransferasa [58].

La etiología de la EA es desconocida, aunque podría relacionarse con la interacción entre envejecimiento y factores genéticos y ambientales [59-62]. Se ha sugerido que algunos defectos en el metabolismo energético [41] y el estrés oxidativo [63,64] podrían estar implicados en la patogenia de la muerte neuronal en la EA.

Mediante tomografía por emisión de positrones se ha demostrado disminución de flujo sanguíneo cerebral y de metabolismo de glucosa en la corteza cerebral de pacientes con EA, que se relaciona con la gravedad de la demencia [65]. Se ha descrito también disminución de actividad de los complejos enzimáticos piruvato-deshidrogenasa en cerebro [66,67] y de alfa-cetoglutarato-deshidrogenasa en cerebro y en fibroblastos de pacientes con EA [68].

### ***Estudios de la función mitocondrial en EA***

El posible papel de la disfunción mitocondrial en la patogenia de la EA es controvertido. Parker et al [69,70] fueron los primeros en detectar una disminución de actividad del complejo IV (citocromooxidasa o COX) de la cadena respiratoria mitocondrial en plaquetas. Posteriormente, algunos investigadores encontraron datos similares en varias áreas de la corteza cerebral [71-73]. Por el contrario, otros estudios no encontraron diferencias significativas en la actividad de COX en cerebro [74-77], plaquetas [78] y linfocitos [79] de pacientes con EA con respecto a controles. No obstante, dos estudios recientes han demostrado una dismi-

nución de la expresión del ARNm que codifica la COX en corteza temporal y en hipocampo [80,81]. Además, se ha propuesto que la inhibición farmacológica selectiva del COX en un modelo animal causa algunas alteraciones de memoria similares a las de la EA [82].

Recientemente se ha descrito una disminución de actividad de COX, aumento de producción de radicales libres y de actividades de enzimas antioxidantes como la glutatión-peroxidasa, glutatión-reductasa y superóxido-dismutasas en híbridos (híbridos de citoplasma de células de teratocarcinoma a las que se le ha sustituido su ADNmt por el de células de los sujetos a estudio) de plaquetas de pacientes con EA con respecto a controles [83]. Este hallazgo supondría que la disminución de actividad de la COX podría ser determinada directamente por el ADNmt.

#### **ADN mitocondrial y EA**

Reichmann et al [76] no encontraron deleciones del ADNmt en varias áreas corticales de pacientes con EA. Blanchard et al [84] describieron la deleción en el par de nucleótidos 4977 en la corteza frontal asociada tanto a envejecimiento como a EA, dato posteriormente confirmado por Corral-Debrinski et al [85], pero no por Cavelier et al [77]. Los hallazgos con respecto a la presencia de una mutación puntual del gen mitocondrial ND2 son controvertidos [86-88]. La frecuencia de aparición de mutaciones puntuales del gen mitocondrial ND4 parece estar disminuida en la corteza temporal de pacientes con EA [89].

Al igual que en los pacientes con EP, Shoffner et al [52] encontraron la presencia de una variante del gen ARNt<sup>Gln</sup> en el par de nucleótidos 4336, con mucha mayor frecuencia en la corteza cerebral de pacientes con EA que en controles, hallazgo que ha sido confirmado por otros grupos [90,91]. Payami y Hoffbuhr [92] han demostrado la ausencia de relación de la herencia materna con el riesgo para EA y con una edad de comienzo más precoz de ésta.

#### **ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

La enfermedad de Huntington (EH) es la causa más frecuente de corea hereditaria. Su herencia es autosómica dominante, con penetrancia completa, y el defecto genético es conocido. Desde el punto de vista clínico, la forma clásica de EH se caracteriza por la presencia de trastornos del movimiento –de los cuales el más frecuente es la corea–, alteraciones psiquiátricas –muchas veces son la primera manifestación e incluyen cambios de personalidad, depresión-manía, ilusiones y alucinaciones, paranoia y cuadros esquizofreniformes, etc.–, y demencia, siendo la edad de comienzo habitual la cuarta década [93,94]. El hallazgo anatómopatológico más característico es la atrofia de neostriado (sobre todo de la cabeza del caudado), el cual presenta pérdida neuronal (fundamentalmente de neuronas pequeñas espinosas) y gliosis [95]. Las alteraciones neuroquímicas más importantes son la depleción de GABA, glutamato-descarboxilasa y acetilcolina en estriado, aunque también se han descrito cambios en las concentraciones de algunos neuropéptidos como encefalinas, sustancia P y enzima convertidora de angiotensina, así como disminución de receptores de GABA, benzodiazepinas y acetilcolina en caudado y putamen [93].

La patogenia de la muerte neuronal en la EH es desconocida. La hipótesis más aceptada es la neurotóxica, según la cual el daño neuronal sería mediado por aminoácidos excitadores como

glutamato y aspartato o por metabolitos endógenos del triptófano como el ácido quinolínico. También se ha sugerido el posible papel del estrés oxidativo y de las alteraciones de la función mitocondrial [96]. Koroshetz et al [97] han descrito aumento de lactato en córtex mediante resonancia magnética por espectroscopia, y del cociente lactato/piruvato en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con EH, lo que sugiere la existencia de una disminución del metabolismo energético, que se corrige mediante tratamiento con coenzima Q<sub>10</sub>.

Un hallazgo potencialmente interesante es la reciente descripción de que el ácido 3-nitropropiónico, inhibidor del complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial, es capaz de reproducir las características clínicas y neuropatológicas de la EH en modelos animales [98-100].

Brennan et al [101] encontraron una disminución significativa del complejo IV y del citocromo aa<sub>3</sub> en cerebro de pacientes con EH. Mann et al [102] describieron una marcada disminución de la actividad de los complejos II-III en el caudado; más recientemente confirmaron este hallazgo y encontraron también disminución de actividad del complejo IV [103]. Parker et al [104] describieron disminución marcada de actividad del complejo I, hallazgo que no ha sido confirmado en un estudio más reciente [103].

Irwin et al [105] no encontraron alteraciones del ADNmt en linfoblastos de pacientes con EH procedentes de una familia amplia en Venezuela. Chen et al [106] describieron una disminución de deleciones delta del ADNmt en corteza occipital y putamen, no observando este dato en caudado. Finalmente, Horton et al [107] describieron una mayor frecuencia de la presencia de deleciones del par de nucleótidos 4977 en la corteza temporal, dato que no observaron en putamen ni en corteza frontal.

#### **OTRAS ENFERMEDADES**

No existen muchos datos con respecto a la función mitocondrial en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Bowling et al [108] encontraron disminución de la actividad del complejo I en médula y en corteza cerebral de pacientes con ELA familiar. Fujita et al [109] hallaron disminución de la actividad de COX en médula, especialmente en sus regiones ventrales.

Algunos autores han señalado disminución de actividad del complejo I en pacientes con distonía, tanto focal como generalizada [110], mientras que otros sólo han encontrado dicha alteración en distonías focales [111].

#### **CONCLUSIONES**

Se han descrito alteraciones tanto de la función enzimática como del genoma mitocondrial en algunas enfermedades neurodegenerativas, especialmente en las de Parkinson (disminución del complejo I) y Alzheimer (disminución del complejo IV), si bien los datos obtenidos hasta la fecha no son concluyentes. Tampoco se sabe si estas alteraciones son relevantes desde el punto de vista patogénico o si simplemente representan un epifenómeno relacionado con el proceso causal. No obstante, los resultados de los experimentos con híbridos en la EP [56] y en la EA [83], previamente mencionados, sugieren que las alteraciones del genoma mitocondrial pueden traducirse en el correspondiente déficit enzimático, apoyando la posibilidad de que una alteración de aquél pueda desempeñar un papel patogénico en la neurodegeneración.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Jiménez-Jiménez FJ, de Bustos F, Gasalla T, Ortí-Pareja M. Estrés oxidativo y sistema nervioso central. En Luquin MR, Jiménez-Jiménez FJ, Martínez-Vila E, Molina JA, Bermejo F, Coria F, eds. Mecanismos de muerte neuronal y neuroprotección en enfermedades neurológicas. *Neurología* 1996; 11 (Supl 3): 13-22.
2. Jiménez-Jiménez FJ, Luquin MR. Muerte neuronal y neuroprotección en la enfermedad de Parkinson. En Luquin MR, Jiménez-Jiménez FJ, Martínez-Vila E, Molina JA, Bermejo F, Coria F, eds. Mecanismos de muerte neuronal y neuroprotección en enfermedades neurológicas. *Neurología* 1996; 11 (Supl 3): 93-106.
3. Calne DB, Langston JW. Aetiology of Parkinson's disease. *Lancet* 1983; 2: 1457-9.
4. Jiménez-Jiménez FJ. Epidemiología de la enfermedad de Parkinson. En Obeso JA, Tolosa E, Grandas F, eds. Tratado sobre la enfermedad de Parkinson. Madrid: Luzán 5, ediciones; 1997. p. 71-88.
5. Mateo D, Giménez-Roldán S. Etiología de la enfermedad de Parkinson: ¿un proceso multicausal o varias enfermedades? *Rev Clin Esp* 1990; 186 (Supl 2): 13-21.
6. Jiménez-Jiménez FJ, Ladero Quesada JM. Modelo experimental de parkinsonismo por una neurotoxina: implicaciones en la clínica y en la etiología de la enfermedad de Parkinson. *Med Clin (Barc)* 1990; 94: 585-95.
7. Luquin MR, Obeso JA, Herrero MT, Laguna J, Martínez Lage JM. Parkinsonismo inducido por MPTP como modelo experimental de enfermedad de Parkinson: similitudes y diferencias. *Neurología* 1991; 6: 287-94.
8. Vyas I, Heikkilä RE, Nicklas WJ. Metabolite of dopaminergic neurotoxin inhibits mitochondrial oxidation. *Trans Am Neurol Assoc* 1985; 16: 293.
9. Nicklas WJ, Vyas I, Heikkilä RE. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenylpyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Life Sci* 1985; 36: 2503-8.
10. Mizuno Y, Saitoh T, Sone N. Inhibition of mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase activity by 1-methyl-4-phenylpyridinium ion. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 143: 294-9.
11. McNaught KS, Altomare C, Cellamare S, Carotti A, Thull U, Carrupt PA, et al. Inhibition of alpha-ketoglutarate dehydrogenase by isoquinoline derivatives structurally related to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Neuroreport* 1995; 6: 1105-8.
12. Suzuki K, Mizuno Y, Yoshida M. Inhibition of mitochondrial respiration by 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-like endogenous alkaloids in mouse brain. *Neurochem Res* 1990; 15: 705-10.
13. Schapira AHV, Cooper JM, Dexter D, Jenner P, Clark JB, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet* 1989; 1: 1269.
14. Mizuno Y, Ohta S, Tanaka S, Takiyama S, Suzuki K, Sato T, et al. Deficiencies in complex I subunits of the respiratory chain in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 163: 1450-5.
15. Schapira AHV, Cooper JM, Dexter D, Clark JB, Jenner P, Marsden. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem* 1990; 54: 823-7.
16. Schapira AH, Mann VM, Cooper JM, Dexter D, Daniel SE, Jenner P, et al. Anatomic and disease specificity of NADH CoQ1 reductase (complex I) deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem* 1990; 55: 2142-5.
17. Mann V, Cooper JM, Krige D, Daniel SE, Schapira AH, Marsden CD. Brain, skeletal muscle and platelet homogenate mitochondrial function in Parkinson's disease. *Brain* 1992; 115: 333-42.
18. Janetzky B, Hauck S, Youdim MB, Riederer P, Jellinger K, Pantucek F, et al. Unaltered aconitase activity, but decreased complex I activity in substantia nigra pars compacta of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 1994; 169: 126-8.
19. Hattori N, Tanaka M, Ozawa T, Mizuno Y. Immunohistochemical studies on complexes I, II, III, and IV of mitochondria in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1991; 30: 563-71.
20. Mizuno Y, Matuda S, Yoshino H, Mori H, Hattori N, Ikebe S. An immunohistochemical study on alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1994; 35: 204-10.
21. Bindoff L, Birch-Machin M, Cartlidge NEF, Parker WD Jr, Turnbull DM. Mitochondrial function in Parkinson's disease. *Lancet* 1989; 2: 49.
22. Bindoff LA, Birch-Machin M, Cartlidge NEF, Parker WD Jr, Turnbull DM. Respiratory chain abnormalities in skeletal muscle from patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 1991; 104: 203-8.
23. Shoffner JM, Watts RL, Juncos JL, Torroni A, Wallace DC. Mitochondrial oxidative phosphorylation defects in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1991; 30: 332-9.
24. Nakagawa-Hattori Y, Yoshino H, Kondo T, Mizuno Y, Horai S. Is Parkinson's disease a mitochondrial disease? *J Neurol Sci* 1992; 107: 29-33.
25. Wallace DC, Shoffner JM, Watts RL, Juncos JL, Torroni A. Mitochondrial oxidative phosphorylation defects in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1992; 32: 113-4.
26. Borg M, Desnuelle C, Ohatel M. Respiratory chain defects in skeletal muscle from de novo patients with PD. *J Neurol* 1992; 239 (Suppl): 87.
27. Cardellach F, Martí MJ, Fernández-Sola J, Marín C, Hoek JB, Tolosa E, Urbano-Márquez A. Mitochondrial respiratory chain activity in skeletal muscle from patients with Parkinson's disease. *Neurology* 1993; 43: 2258-62.
28. Blin O, Desnuelle C, Rascol O, Borg M, Peyro-Saint Paul H, Azulay JA, et al. Mitochondrial respiratory failure in skeletal muscle from patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *J Neurol Sci* 1994; 125: 95-101.
29. Anderson JJ, Bravi D, Ferrari TL, Davis TH, Baront F, Chase TH, Dagani F. No evidence for altered mitochondrial function in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993; 56: 477-80.
30. DiDonato S, Zeviani M, Giovannini P, Savarese N, Rinoldi M, Mariotti C, et al. Respiratory chain and mitochondrial DNA in muscle and brain in Parkinson's disease patients. *Neurology* 1993; 43: 2262-8.
31. Reichman H, Janetzky B, Bischof F, Seibel P, Schols L, Kuhn W, Przuntek KH, et al. Unaltered respiratory chain enzyme activity and mitochondrial DNA in skeletal muscle from patients with idiopathic Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1994; 34: 263-7.
32. Taylor DJ, Krige D, Barnes PR, Kemp GJ, Carrol MT, Mann VM, et al. A <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy study of mitochondrial function in skeletal muscle of patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 1994; 125: 77-81.
33. Parker WD, Boyson SJ, Parks JK. Abnormalities of the electron transport chain in idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989; 26: 719-23.
34. Yoshino H, Nakagawa-Hattori Y, Kondo T, Mizuno Y. Mitochondrial complex I and II activities of lymphocytes and platelets in Parkinson's disease. *J Neural Transm (P-D Sect)* 1992; 4: 27-34.
35. Krige D, Carrol MT, Cooper JM, Marsden CD, Schapira AH. Platelet mitochondrial function in Parkinson's disease. The Royal Kings and Queens Parkinson Disease Research Group. *Ann Neurol* 1992; 32: 782-8.
36. Benecke R, Strumper P, Weiss H. Electron transfer complexes I and IV of platelets are abnormal in Parkinson's disease but normal in Parkinson-plus syndromes. *Brain* 1993; 116: 1451-63.
37. Haas RH, Nasirian F, Nakano K, Ward D, Pay M, Hill R, Shults CW. Low platelet mitochondrial complex I and complex II/III activity in early untreated Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995; 37: 714-22.
38. Bravi D, Anderson JJ, Dagani F, Davis TL, Ferrari JA, Gillespie M, Alonso A, Chase TN. Effect of aging and dopaminomimetic therapy on mitochondrial respiratory function in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1992; 7: 228-31.
39. Barroso N, Campos Y, Huertas R, Esteban J, Molina JA, Alonso A, et al. Respiratory chain enzyme activities in lymphocytes from untreated patients with Parkinson disease. *Clin Chem* 1993; 39: 667-9.
40. Martín MA, Molina JA, Jiménez-Jiménez FJ, Benito-León J, Ortí-Pareja M, Campos Y, et al. Respiratory chain enzyme activities in isolated mitochondria of lymphocytes from untreated Parkinson's disease patients. *Neurology* 1996; 46: 1343-6.
41. Schapira AHV. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders and aging. In Schapira AHV, DiMauro S, ed. *Mitochondrial disorders in Neurology*. Oxford: Butterworth-Heinemann; 1994. p. 227-44.
42. Lestienne P, Nelson J, Riederer P, Jellinger K, Reichmann H. Normal mitochondrial genome in brain from patients with Parkinson's disease and complex I defect. *J Neurochem* 1990; 55: 1810-2.
43. Schapira AH, Holt JJ, Sweeney M, Harding AE, Jenner P, Marsden CD. Mitochondrial DNA analysis in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1990; 5: 294-7.
44. Mann VM, Cooper JM, Schapira AH. Quantitation of a mitochondrial DNA deletion in Parkinson's disease. *FEBS Lett* 1992; 299: 218-22.

45. Sandy MS, Langston JW, Smith MT, Di Monte DA. PCR analysis of platelet mtDNA: Lack of specific changes in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1993; 8: 74-82.
46. Shan DE, Yeh SI, Wan YC, Wei YH. Absence of 4, 977-bp deletion of blood cell mitochondrial DNA in patients with young-onset Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 1995; 91: 149-52.
47. Lucking CB, Kosel S, Mehraein P, Graeber MB. Absence of the mitochondrial A7237T mutation in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211: 700-4.
48. Ozawa T, Tanaka M, Ikebe S, Ohno K, Kondo T, Mizuno Y. Quantitative determination of deleted mitochondrial DNA relative to normal DNA in parkinsonian striatum by a kinetic PCR analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 172: 483-9.
49. Ozawa T, Tanaka M, Ino H, Ohno K, Sano T, Wada Y, et al. Distinct clustering of point mutations in mitochondrial DNA among patients with mitochondrial encephalomyopathies and with Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 176: 938-46.
50. Ikebe S, Tanaka M, Ohno K, Sato W, Hattori K, Kondo T, et al. Increase of deleted mitochondrial DNA in the striatum in Parkinson's disease and senescence. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 1044-8.
51. Ikebe S, Tanaka M, Ozawa T. Point mutations of mitochondrial genome in Parkinson's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 1995; 28: 281-95.
52. Shoffner JM, Brown MD, Torroni A, Lott MT, Cabell MF, Mirra SS, et al. Mitochondrial DNA variants observed in Alzheimer disease and Parkinson disease patients. *Genomics* 1993; 17: 171-184.
53. Zweig RM, Singh A, Cardillo JE, Langston JW. The familial occurrence of Parkinson's disease. Lack of evidence for maternal inheritance. *Arch Neurol* 1992; 49: 1205-11.
54. Jiménez-Jiménez FJ, Molina JA, Morano A. Etiología de la enfermedad de Parkinson: factores de riesgo y protectores. *Neurología* 1993; 8: 256-66.
55. Wooten GF, Currie LJ, Bennett JP, Harrison MB, Trugman JM, Parker WD Jr. Maternal inheritance in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1997; 41: 265-8.
56. Swerdlow RH, Parks JK, Miller SW, Tuttle JB, Trimmer PA, Sheehan JP, et al. Origin and functional consequences of the complex I defect in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1996; 40: 663-71.
57. Cotman CW, Pike CJ. Amyloid and its contributions to neurodegeneration in Alzheimer's disease. In Terry RD, Katzman R, Bick KL, eds. *Alzheimer disease*. New York: Raven Press; 1994. p. 305-15.
58. Geula C, Mesulam MM. Cholinergic systems and related neuropathological predilection patterns in Alzheimer disease. In Terry RD, Katzman R, Bick KL, eds. *Alzheimer disease*. New York: Raven Press; 1994. p. 263-91.
59. Amaducci LA, Fratiglioni L, Rocca WA, Fieschi C, Livrea P, Pedone D, et al. Risk-factors for clinically diagnosed Alzheimer's disease: A case-control study of an Italian population. *Neurology* 1986; 36: 922-31.
60. Shalat SL, Seltzer S, Pidcock C, Baker EL. Risk-factors for Alzheimer's disease: A case-control study. *Neurology* 1986; 36: 1630-3.
61. Goate AM, Hardy JA, Owen MJ, Haynes A, James L, Farrall M, et al. Genetics of Alzheimer's disease. *Adv Neurol* 1990; 51: 197-8.
62. Spencer PS. Etiology of Alzheimer's disease: A Western Pacific view. *Adv Neurol* 1990; 51: 79-82.
63. Blass JP, Gibson GE. The role of oxidative abnormalities in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Rev Neurol (Paris)* 1991; 147: 513-25.
64. Benzi G, Moretti A. Are reactive oxygen species involved in Alzheimer's disease? *Neurobiol Aging* 1995; 16: 661-74.
65. Chandrasekaran K, Hatanpaa K, Brady DR, Rapoport SI. Evidence for physiological down-regulation of brain oxidative phosphorylation in Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 1996; 142: 80-8.
66. Perry EK, Perry RH, Tomlinson BE. Coenzyme-A acetylating enzymes in Alzheimer's disease: Possible cholinergic 'compartment' of piruvate dehydrogenase. *Neurosci Lett* 1980; 18: 105-10.
67. Sorbi S, Bird ED, Blass JP. Decreased piruvate dehydrogenase complex activity in Huntington and Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1983; 13: 72-8.
68. Sheu KF, Cooper AJ, Koike K, Lindsag JG, Blass JP. Abnormality of the alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex in fibroblasts from familial Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1994; 35: 312-8.
69. Parker WD Jr, Filley CM, Parks JK. Cytochrome oxidase deficiency in Alzheimer's disease. *Neurology* 1990; 40: 1302-3.
70. Parker WD Jr, Mahr NJ, Filley CM, Parks JK, Hughes D, Young DA, Collum DM. Reduced platelet cytochrome c oxidase activity in Alzheimer's disease. *Neurology* 1994; 44: 1086-90.
71. Kish SJ, Bergeron C, Rajput A, Dozic S, Mastrogiacomo F, Chang LJ, et al. Brain cytochrome oxidase in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1992; 59: 776-9.
72. Parker WD Jr, Parks JK, Filley CM, Kleinschmidt-DeMasters BK. Electron transport chain defects in Alzheimer's disease brain. *Neurology* 1994; 44: 1090-6.
73. Mutisya EM, Bowling AC, Beal MF. Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1994; 63: 2179-84.
74. Sims NR, Finegan JM, Bowen DM, Neary D. Mitochondrial function in brain tissue in primary degenerative dementia. *Brain Res* 1987; 436: 30-8.
75. Cooper JM, Wischik C, Shapira AHV. Mitochondrial function in Alzheimer's disease. *Lancet* 1993; 341: 969-70.
76. Reichman H, Florke S, Hebenstreit G, Schrufer H, Riederer P. Analyses of energy metabolism and mitochondrial genome in post mortem brain from patients with Alzheimer's disease. *J Neurol* 1993; 240: 377-80.
77. Cavelier L, Jazin EE, Eriksson I, Prince J, Bave U, Oveland L, Gyllensten U. Decreased cytochrome-c oxidase activity and lack of age-related accumulation of mitochondrial DNA deletions in the brains of schizophrenics. *Genomics* 1995; 29: 217-24.
78. Van Zuylen AJ, Bosman GJCGM, Ruitenbeek W, van Kalmthout PJC, de Grip WJ. No evidence for reduced thrombocyte cytochrome oxidase activity in Alzheimer's disease. *Neurology* 1992; 42: 1246-7.
79. Molina JA, de Bustos F, Jiménez-Jiménez FJ, Benito León J, Gassalla T, Ortí-Pareja M, et al. Respiratory chain enzyme activities in isolated mitochondria of lymphocytes from Alzheimer's disease patients. *Neurology* 1997; 48: 636-8.
80. Simonian NA, Hyman BT. Functional alterations in Alzheimer's disease: Selective loss of mitochondrial-encoded cytochrome oxidase mRNA in the hippocampal formation. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994; 53: 508-12.
81. Chandrasekaran K, Giordano T, Brady DR, Stoll J, Martin LJ, Rapoport SI. Impairment in mitochondrial cytochrome oxidase gene expression in Alzheimer disease. *Brain Res Mol Brain Res* 1994; 24: 336-40.
82. Bennett MC, Diamond DM, Stryker SL, Parks JK, Parker WD Jr. Cytochrome oxidase inhibition: A novel animal model of Alzheimer's disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 1992; 5: 93-101.
83. Swerdlow RH, Parks JK, Cassarino DS, Maguire DJ, Maguire RS, Bennet JP, et al. Cybrids in Alzheimer's disease: A cellular model of the disease? *Neurology* 1997; 49: 918-25.
84. Blanchard BJ, Park T, Fripp WJ, Lerman LS, Ingram VM. A mitochondrial DNA deletion in normally aging and in Alzheimer brain tissue. *Neuroreport* 1993; 4: 799-802.
85. Corral-Debrinski M, Horton T, Lott MT, Shoffner JM, McKee AC, Beal MF, et al. Marked changes in mitochondrial DNA deletion levels in Alzheimer brains. *Genomics* 1994; 23: 471-6.
86. Petruzella V, Chen X, Schon EA. Is a point mutation in the mitochondrial ND<sub>2</sub> gene associated with Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 186: 491-7.
87. Lin FH, Lin R. A comparison of single nucleotide primer extension with mispairing PCR-RLFP in detecting a point mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189: 1202-6.
88. Kosel S, Egensperger R, Mehraein P, Graeber MB. No association of mutations at nucleotide 5460 of mitochondrial NADH dehydrogenase with Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 203: 745-9.
89. Fukuyama R, Hatanpaa K, Rapoport SI, Chandrasekaran K. Gene expression of ND<sub>4</sub>, a subunit of complex I of oxidative phosphorylation in mitochondria, is decreased in temporal cortex of brains of Alzheimer's disease patients. *Brain Res* 1996; 713: 290-3.
90. Hutchin T, Cortopassi G. A mitochondrial DNA clone is associated with increased risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 6892-5.
91. Brown MD, Shoffner JM, Kim YL, Jun AS, Graham BH, Cabell MF, et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of four Alzheimer's and Parkinson's disease patients. *Am J Med Genet* 1996; 61: 283-9.
92. Payami H, Hoffbuhr K. Lack of evidence for maternal effect in familial Alzheimer's disease. *Genet Epidemiol* 1993; 10: 461-4.
93. Penney JB, Young AB. Huntington's disease. In Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and movement disorders*. 2 ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p. 205-16.
94. Jiménez-Jiménez FJ. Enfermedad de Huntington 1996. *Med Clin (Barc)* 1997; 108: 696-7.
95. VonSattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Rich-

- ardson EP. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985; 44: 559-77.
96. García de Yébenes J, García-Ruiz P, Sánchez-Pernaute R. Neuroprotección en la enfermedad de Huntington. En Luquin MR, Jiménez-Jiménez FJ, Martínez-Vila E, Molina JA, Bermejo F, Coria F, eds. *Mecanismos de muerte neuronal y neuroprotección en enfermedades neurológicas*. *Neurología* 1996; 11 (Supl 3): 107-17.
  97. Koroshetz WJ, Jenkins BG, Rosen BR, Beal MF. Energy metabolism defects in Huntington's disease and effects of coenzyme Q<sub>10</sub>. *Ann Neurol* 1997; 41: 160-5.
  98. Brouillet E, Hantraye P, Ferrante RJ, Dolan R, Leroy-Willig A, Kowall NW, Beal MF. Chronic mitochondrial energy impairment produces selective striatal degeneration and abnormal choreiform movements in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7105-9.
  99. Borlongan CV, Koutouzis TK, Freeman TB, Cahill DW, Sanberg PR. Behavioral pathology induced by repeated systemic injections of 3-nitropropionic acid mimics the motoric symptoms of Huntington's disease. *Brain Res* 1995; 697: 254-7.
  100. Palfi S, Ferrante RJ, Brouillet E, Beal MF, Dolan R, Guyot MC, et al. Chronic 3-nitro-propionic acid treatment in baboons replicates the cognitive and motor deficits of Huntington's disease. *J Neurosci* 1996; 16: 3019-25.
  101. Brennan WA, Bird ED, Aprille JR. Regional mitochondrial respiratory activity in Huntington's disease brain. *J Neurochem* 1985; 44: 1948-50.
  102. Mann VM, Cooper JM, Javoy-Agid Y, Jenner Y, Schapira AHV. Mitochondrial function and parental sex effect in Huntington's disease. *Lancet* 1990; 336: 749.
  103. Gu M, Gash MT, Mann VM, Javoy-Agid F, Cooper JM, Schapira AH. Mitochondrial defect in Huntington's disease caudate nucleus. *Ann Neurol* 1996; 39: 385-9.
  104. Parker WD Jr, Boyson SJ, Luder AS, Parks JK. Evidence for a defect in NADH: Ubiquinone reductase (complex I) in Huntington's disease. *Neurology* 1990; 1231-4.
  105. Irwin CC, Wexler NS, Young AB, Ozelius LJ, Penney JB, Shoulson I, et al. The role of mitochondrial DNA in Huntington's disease. *J Mol Neurosci* 1989; 1: 129-36.
  106. Chen X, Bonilla E, Sciacco M, Schon EA. Paucity of deleted mitochondrial DNAs in brain regions of Huntington's disease patients. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271: 229-33.
  107. Horton TM, Graham BH, Corral-Debrinski M, Shoffner JM, Karfman AE, Beal MF, Wallace DC. Marked increase in mitochondrial DNA deletion levels in the cerebral cortex of Huntington's disease patients. *Neurology* 1995; 45: 1879-83.
  108. Bowling AC, Schulz JB, Brown RH Jr, Beal MF. Superoxide dismutase activity, oxidative damage, and mitochondrial energy metabolism in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 1993; 61: 2322-5.
  109. Fujita K, Yamauchi M, Shibayama K, Ando M, Honda M, Nagata Y. Decreased cytochrome c oxidase activity but unchanged superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in the spinal cords of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci Res* 1996; 45: 276-81.
  110. Benecke R, Strümper P, Weiss H. Electron transfer complex I defect in idiopathic dystonia. *Ann Neurol* 1992; 32: 683-6.
  111. Schapira AHV, Warner T, Gash MT, Cleeter MWJ, Marinho CFM, Cooper JM. Complex I function in familial and sporadic dystonia. *Ann Neurol* 1997; 41: 556-9.