

# Enfermedad de Huntington. Revisión.

*Ernesto Bonilla*

Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina,  
Universidad del Zulia e Instituto de Investigaciones Biomédicas  
(INBIOMED), FUNDACITE Zulia, Apartado 1151, Maracaibo, Venezuela.

**Palabras clave:** Enfermedad de Huntington, ganglios basales, estrés oxidativo, citotoxicidad, melatonina.

**Resumen.** La enfermedad de Huntington (EH) es una enfermedad hereditaria neurodegenerativa, autosómica dominante, caracterizada por trastornos del movimiento, cognitivos y psiquiátricos. Su prevalencia es de aproximadamente 1 caso por cada 10.000 habitantes. Los síntomas comienzan generalmente entre la tercera y cuarta décadas de la vida, pero pueden aparecer en cualquier edad. La base molecular de la EH es la expansión del trinucleótido CAG en el primer exón del gen situado en el cromosoma 4 (4p 16.3). Este gen codifica la proteína huntingtina, de 3136 aminoácidos. La traducción de la expansión de este trinucleótido produce unidades repetidas de glutamina (Gln). Esta expansión CAG/poliGln tiene de 6 a 39 unidades en individuos normales y de 36 a 180 en pacientes con EH. Son poco conocidos tanto la función de la huntingtina normal como el mecanismo patogénico provocado por la expansión poliGln de la huntingtina mutante. Esta proteína se asocia con vesículas sinápticas y/o microtúbulos y parece desempeñar un papel importante en el transporte de las vesículas y/o su unión al citoesqueleto. Se cree que la forma mutante altera el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial. La huntingtina es importante para la embriogénesis. La ganancia tóxica de función ocasionada por la huntingtina podría ser debida a la hiperactividad de la función normal o a la introducción de una función novedosa. Su interacción con otras proteínas puede conducir a una alteración del funcionamiento celular o a su propia polimerización para formar agregados insolubles. Al parecer, los agregados intraneuronales de la huntingtina pueden afectar la transcripción del gen, las interacciones entre proteínas y su transporte dentro del núcleo y el citoplasma, así como el transporte de las vesículas. Sin embargo, el hecho de que se haya demostrado una disociación entre la agregación de huntingtina y el patrón selectivo de la pérdida de las neuronas del estriado, hace pensar que las otras propiedades de la huntingtina mutante, tales como la proteólisis y las interacciones con otras proteínas

---

que afectan el tráfico de las vesículas y el transporte nuclear, podrían ser suficientes para causar la neurodegeneración. El 80% de los cerebros de los individuos con EH presenta atrofia de los lóbulos frontales y el 95% atrofia bilateral simétrica del estriado. El peso promedio del cerebro es aproximadamente un 30% menor que el normal. El neoestriado se atrofia de una forma ordenada y topográfica. La cola del núcleo caudado (NC) se degenera más que el cuerpo y éste más que la cabeza. La atrofia del NC se acompaña de una atrofia gradual y pérdida neuronal en otras regiones cerebrales, a medida que avanza la enfermedad. Las neuronas de proyección en el neoestriado y en la corteza cerebral son más susceptibles que las interneuronas. En el neoestriado las concentraciones de GABA, dinorfina y sustancia P están disminuidas, pero las de la somatostatina y del neuropéptido Y están aumentadas. Una alteración del metabolismo energético y la sensibilidad al estrés oxidativo y a los efectos citotóxicos del glutamato contribuyen, probablemente, a la muerte neuronal en la EH. Se propone el ensayo de la melatonina en cultivos celulares y en animales transgénicos, para estudiar cómo sus propiedades antioxidantes y secuestradoras de radicales libres afectan la progresión de la enfermedad.

### **Huntington's disease. A review.**

*Invest Clín 2000; 41(2): 117-141.*

**Key words:** Huntington's disease, huntingtin, basal ganglia, oxidative stress, cytotoxicity, melatonin.

**Abstract.** Huntington's disease (HD) is a hereditary autosomal dominant neurodegenerative disease characterized by motor, cognitive and psychiatric symptoms. It affects about 1 in 10.000 individuals. The onset of symptoms typically occurs in the third or fourth decade of life, though it may appear at any age. The molecular basis of the disease is the expansion of the trinucleotide CAG in the first exon of a gene on chromosome four (4p 16.3). This gene encodes the protein huntingtin of 3136 amino acids. The mutation of huntingtin produces an expanded stretch of glutamine (Gln) residues. This CAG/polyGln expansion has 6 to 39 units in normal individuals and 36 to 180 units in HD patients. The normal function of huntingtin and the pathogenic mechanisms caused by the expanded polyGln of mutant huntingtin remain incompletely characterized. Huntingtin appears to be associated with synaptic vesicles and /or microtubules and seems to have an important role in vesicular transport and/or the binding to the cytoskeleton. It is thought that this protein is important in embryogenesis and that its mutant form alters the function of the mitochondrial respiratory chain. The toxic gain of function caused by huntingtin could either be an overactivity of the normal function or the introduc-

tion of a novel function. Its interactions with other proteins could lead to an impairment of the cellular function or to its own polymerization to form insoluble aggregates. The intraneuronal aggregates could affect gene transcription, protein interactions, protein transport inside the nucleus and cytoplasm, and the vesicular transport. However, since a dissociation between the aggregation of huntingtin and the selective pattern of striatal neuronal loss has been demonstrated, it is believed that other properties of the mutant huntingtin, like proteolysis and the interactions with other proteins that affect vesicular trafficking and nuclear transport, could be responsible for the neurodegeneration. On gross examination, 80% of HD brains show atrophy of the frontal lobes. A bilateral, symmetric atrophy of the striatum is observed in 95% of the HD brains. The mean brain weight in HD patients is approximately 30% lower than in normal individuals. Striatal degeneration has an ordered and topographic distribution. The tail of the caudate nucleus shows more degeneration than the head. The caudate atrophy is associated to a gradual atrophy and neuronal loss in other brain regions as the disease progresses. The striatal and cerebral cortex projection neurons are much more susceptible to the disease than interneurons. In the neostriatum, the levels of GABA, dynorphin and substance P are decreased, but the concentrations of somatostatin and neuropeptide Y increase. An impairment of energy metabolism in HD and a sensitivity to oxidative stress and to the cytotoxic effects of glutamate seem to contribute to the neuronal death in HD. It is proposed that melatonin should be assayed in cell cultures and in transgenic animals due to its potent antioxidant and free radical scavenger properties.

*Recibido: 10-3-2000. Aceptado: 9-5-2000.*

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Huntington (EH) es una enfermedad hereditaria neurodegenerativa, autosómica dominante, caracterizada por trastornos del movimiento, cognitivos y psiquiátricos (1). Comienza generalmente entre la tercera y cuarta décadas de la vida, aunque puede aparecer en cualquier otra edad y la muerte suele ocurrir después de 10 a 20 años de evolución (2). La mayoría de los casos juveniles hereda su enfermedad del padre afectado (3).

La prevalencia de la EH, es de aproximadamente 1 caso por cada 10.000 habitantes (4), pero en el estado Zulia, Venezuela, puede llegar a ser 100 veces mayor (5).

## ASPECTOS CLÍNICOS

El diagnóstico de la EH depende de tres criterios fundamentales: a) historia familiar de la enfermedad; b) alteración motora progresiva con corea o rigidez y c) trastornos psiquiátricos con demencia progresiva, sin otra causa aparente.

Las personas que heredan el gen de la enfermedad generalmente se desarrollan y funcionan normalmente hasta llegar a la adultez temprana. Sin embargo, los movimientos involuntarios pueden comenzar en cualquier momento después de la infancia. En la evaluación clínica y prospectiva de la comunidad de enfermos que vive en la costa occidental del Lago de Maracaibo, se demostró la existencia de todas las formas motoras de la enfermedad (6). Noventa y cuatro por ciento de los pacientes comenzó la enfermedad en la adultez y el 6% correspondió a la forma juvenil. Los adultos desarrollaron una enfermedad progresiva, cuya tasa de declinación funcional varió entre los pacientes, pero los que se encontraban en la etapa más temprana de la enfermedad se deterioraron más rápidamente que los más avanzados. En todo caso, la tasa de declinación en la familia venezolana fue similar a la de los pacientes norteamericanos, que son más heterogéneos y están medicados. Por lo tanto, se deduce que los neurolépticos utilizados para tratar la EH son apenas paliativos y no alteran el curso de la enfermedad. Los movimientos coreicos, la disfunción oculomotora y las alteraciones en los movimientos rápidos alternantes fueron signos tempranos de la EH, se incrementaron en intensidad con el tiempo y alcanzaron una meseta en las etapas avanzadas de la enfermedad. Los rasgos parkinsonianos y distónicos eran mínimos en las etapas tempranas, aparecían a medida que avanzaba la enfermedad y se in-

tensificaban en las etapas tardías. La disartria y los reflejos hiperactivos eran comunes, a diferencia de la anartria y la respuesta extensora plantar que se observaron raramente.

Los cuatro pacientes juveniles estudiados presentaron todas las características de la EH juvenil (7), predominando la distonía y el parkinsonismo, con pocos movimientos coreicos. Los signos cerebelosos, temblor y convulsiones aparecían a medida que avanzaba la enfermedad. Al igual que lo reportado por otros autores (7,8), la declinación funcional de los pacientes juveniles fue más rápida que en los adultos, debido probablemente a una degeneración neuronal más extensa (6).

Con los datos recogidos de una muestra de 2.494 pacientes con EH, para determinar la relación entre el comienzo de los síntomas y la duración de la enfermedad, se demostró que en los pacientes con la forma juvenil y en aquellos cuyos primeros síntomas aparecieron después de los 49 años de edad, la muerte ocurrió más tempranamente que en los enfermos de 20 a 49 años de edad (9).

En la familia venezolana, la más larga de las familias con EH conocidas mundialmente, se identificaron seis uniones entre dos individuos sintomáticos, que dieron origen a 31 descendientes en quienes no se logró detectar nada diferente desde el punto de vista clínico. Una de estas familias estaba integrada por ambos padres enfermos, y 14 descendientes de los cuales 4 eran

homocigotos, 6 heterocigotos y 4 normales. No se observaron diferencias fenotípicas en la edad de aparición, en la sintomatología y la progresión de la enfermedad entre los afectados homocigotos y los heterocigotos del pedigree venezolano por lo que se concluyó que los síntomas motores, cognitivos y psiquiátricos de la EH no son influenciados por la dosis del gen defectuoso y no son mitigados por el alelo normal (10).

En la EH se han reportados alteraciones importantes de la memoria y de la atención en etapas tempranas de la enfermedad (11,12). Los trastornos distímicos y la depresión mayor son frecuentes en estos pacientes (13).

## ASPECTOS GENÉTICOS MOLECULARES

La base molecular de la EH es la expansión del trinucleótido CAG en el primer exón del gen situado en el cromosoma cuatro (4 p16.3) (14). Este mecanismo de mutación también se ha descrito en la distrofia miotónica, la atrofia muscular espino-bulbar, la atrofia dentadorubro-palidoluisiana y en la ataxia espino-cerebelosa I (15). Estas enfermedades se caracterizan por la formación de inclusiones nucleares insolubles en las neuronas, las cuales alteran la función del núcleo y contribuyen a la neurodegeneración.

El gen de la EH codifica la proteína huntingtina, de 3136 aminoácidos, con un peso molecular de ~ 360 KDa (14). La traducción de la expansión del trinucleótido CAG

produce unidades repetidas de glutamina (Gln) en una posición cercana al grupo amino terminal (comenzando en el residuo 18) de la huntingtina (16). Esta expansión CAG/poliGln tiene de 6 a 39 unidades en individuos normales y de 36 a 180 en pacientes con EH (17). Esta sobreposición entre los rangos normales y patológicos de la expansión poliGln sugiere que la patogénesis de la EH es multifactorial, o que la enfermedad es incompletamente penetrante en algunas poblaciones (18).

El número de las repeticiones del trinucleótido CAG se correlaciona positivamente con la edad de aparición, progresión y severidad de la enfermedad y tiende a incrementarse mediante la transmisión paterna (19). En pacientes con EH también se ha demostrado una correlación positiva y significativa entre el número de repeticiones de CAG y el grado de atrofia del núcleo caudado (NC) (20).

Se desconocen tanto la función de la huntingtina normal como el mecanismo patogénico provocado por la expansión poliGln de la huntingtina mutante. Es interesante señalar que ésta conserva algunas de las funciones básicas de la huntingtina normal ya que los homocigotos para el gen de la EH producen sólo huntingtina anormal pero tienen los mismos rasgos clínicos de los heterocigotos (21).

La huntingtina se expresa ampliamente en los tejidos. Sin embargo, la patología de la EH está restringida aparentemente al cerebro,

donde la degeneración empieza en el estriado y la corteza para luego afectar otras áreas cerebrales. Las mayores concentraciones de esta proteína se encuentran en el cerebro, particularmente en la corteza cerebral, y en el cerebelo (22). En el cerebro, la proteína se expresa uniformemente en los cuerpos celulares neuronales y en las dendritas y puede asociarse con vesículas sinápticas y/o microtúbulos (23 y 24). Por lo tanto, la huntingtina parece desempeñar un papel importante en el transporte de las vesículas y/o en la unión al citoesqueleto.

En el interior de la neurona, la huntingtina normal se localiza en el citoplasma y unida a membranas, mientras que la mutante se acumula en regiones específicas del núcleo donde forma inclusiones y puede unirse al ADN (23,25). Las inclusiones intranucleares se han observado tanto en los animales transgénicos como en los pacientes con EH. En la corteza frontal, la frecuencia de las inclusiones intranucleares se correlaciona con el tamaño de la expansión de CAG y es inversamente proporcional a la edad de comienzo de los síntomas. Esta correlación no se detecta en el estriado lo que muy probablemente refleja una pérdida neuronal más avanzada en el momento de la muerte del paciente (26).

En un estudio realizado con tejidos cerebrales de humanos con diferentes grados de EH, utilizando anticuerpos que reconocen preferencialmente a los agregados de huntingtina, se demostró que los agre-

gados en el neuropilo (dendritas y espinas dendríticas) son más comunes que los agregados nucleares y pueden presentarse en gran número antes de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad. También se observaron más agregados en la corteza que en el estriado. A pesar de que ésta es la región más afectada en la EH, sólo el 1- 4% de sus neuronas presentaron agregados nucleares. La unión a ubiquitina sólo se observó en un subgrupo de agregados, lo que sugiere que la proteólisis de los mismos, mediada por la ubiquitina, puede ser tardía o variable (27).

Se ha propuesto que la huntingtina desempeña un rol muy importante en el metabolismo energético y que la forma mutante altera el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial ocasionando una disminución de la producción de ATP y muerte celular (28).

La huntingtina parece ser importante para la embriogénesis, como lo sugiere el hecho de que la eliminación de los dos alelos de la proteína es letal in útero (29).

Los ratones transgénicos para la mutación de la EH, con expansiones de 115-156 unidades de CAG en el primer exón de la huntingtina, desarrollan un desorden neurológico progresivo (temblor, marcha imbalanceda, convulsiones y caquexia) semejante al observado en la EH (30,31). El cerebro de estos ratones se atrofia y presenta anomalías nucleares ultraestructurales semejantes a las observadas en los pacientes con EH, tales como un incremento

en el número y la densidad de los poros nucleares e indentación o muescas de la membrana (32). La huntingtina mutante de estos ratones transgénicos sintomáticos se localiza en inclusiones nucleares; en los animales controles y asintomáticos se encuentra en el citoplasma en forma difusa (33). La pérdida neuronal y la gliosis reactiva en el estriado, que son características de la EH en humanos, no son evidentes en los ratones transgénicos. Las inclusiones nucleares aparecen antes de la disminución del peso del cerebro, que precede a la disminución del peso corporal y al comienzo de los síntomas neurológicos, lo cual sugiere que la acumulación de la proteína mutante es importante en el mecanismo patogénico (21). La huntingtina también está presente en el neuropilo de los ratones transgénicos. A diferencia de los agregados nucleares, los del neuropilo son más pequeños y no contienen ubiquitina. Los agregados de huntingtina localizados en el terminal axónico se unen a algunas vesículas sinápticas, pudiendo provocar alteraciones en la transmisión sináptica y en la comunicación interneuronal. La formación de estos agregados en el neuropilo se correlaciona con el desarrollo de los síntomas neurológicos (34). En estudios realizados en células clonales estriatales de ratón se ha observado que la formación de inclusiones es separable de los eventos que regulan la muerte neuronal. La administración de un inhibidor de la caspasa incrementó la sobrevivencia de las células, pero no

disminuyó las inclusiones nucleares y citoplasmáticas (35).

Se ha sugerido que la huntingtina normal se opone a la apoptosis (36), pero la agregación de esta proteína podría generarla (18). Es importante señalar que la huntingtina es degradada por la caspasa-3 durante la apoptosis y la velocidad de degradación se incrementa a medida que aumenta el número de residuos de glutamina (37). Recientemente se demostró que la administración intracerebroventricular de un inhibidor de la caspasa 1, en ratones transgénicos de la EH, retrasa la progresión de la enfermedad y la mortalidad de los ratones (38). Estudios recientes han revelado la presencia de caspasa-8 activada en la fracción insoluble de las regiones cerebrales afectadas en los pacientes con EH, lo cual sugiere que durante el desarrollo de esta enfermedad se produce una relocalización y activación de la caspasa-8. Esta enzima es necesaria para que se produzca la muerte de las neuronas en las ratas en las cuales se expresó un complejo poliGln expandido. La inhibición de la caspasa-8 bloqueó la muerte neuronal inducida por la poliGln (39).

### **EFFECTOS DE LA HUNTINGTINA MUTANTE**

Existen evidencias que apoyan la hipótesis de que la ganancia tóxica de función, ocasionada por la huntingtina, conduce a la neurodegeneración en la EH. Esta ganancia de función podría ser debida a la hi-

peractividad de una función normal o a la introducción de una función novedosa distinta a la actividad biológica de la proteína normal. El proceso patogénico ocasionado por el aumento en el número de residuos de glutamina, podría incluir interacciones novedosas con otras proteínas, lo cual conduciría a una alteración del funcionamiento celular, o a una polimerización para formar grandes agregados insolubles (40).

La huntingtina interactúa, a través de sus residuos de glutamina, con la enzima gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), produciendo una inhibición de su actividad y la consiguiente pérdida en el metabolismo energético (41). Esta inhibición enzimática apoya la hipótesis de que la neurodegeneración selectiva en la EH es debida a una alteración en el metabolismo energético. La huntingtina también se une a una proteína cuya función se desconoce (proteína asociada a la huntingtina o HAP-1). Esta unión se intensifica con el aumento en el número de residuos de glutamina, con lo cual se produciría un cambio de función (41). La HAP-1 parece desempeñar un rol muy importante en la patología molecular de la EH, debido a que esta proteína se expresa exclusivamente en el cerebro e interactúa con la dinactina que es un componente citoesquelético (42), cuya unión a la huntingtina es dependiente de los residuos poliGln. Las menores concentraciones del ARNm de la HAP-1 se han detectado en los ganglios basales (43), precisamente donde ocurren los cambios

patológicos más importantes en la EH. El homólogo humano de la HAP-1 ha sido clonado (44).

Se desconoce el mecanismo de la formación de los agregados insolubles, en los cuales la codistribución de la ubiquitina y la huntingtina mutante sugiere que la proteólisis de esta última, dependiente de la ubiquitina, es incompleta. Se ha sugerido que la expansión de los residuos de glutamina forma láminas  $\beta$  condensadas las cuales, mediante enlaces hidrógeno entre los grupos amida de la cadena principal y las cadenas laterales polares, conducen a la agregación y a la precipitación de la huntingtina (45). De hecho, la región terminal amínica de esta proteína forma agregados en un modelo de cultivo celular, solamente cuando se aumenta el número de residuos de glutamina en la cadena poliGln (46). *In vitro*, el umbral para la agregación de la huntingtina se encuentra entre 35 y 45 residuos de glutamina, rango que se aproxima a la cifra crítica para el desarrollo de la EH (47). No se sabe cómo contribuyen los agregados a la alteración de la función celular aunque se piensa que pueden afectar la transcripción del gen, las interacciones entre las proteínas, el transporte de las proteínas dentro del núcleo y el citoplasma, así como el transporte de las vesículas (48). Sin embargo, recientemente se demostró que existe una disociación entre la agregación de huntingtina y el patrón selectivo de la pérdida de las neuronas del estriado observado en la EH. En efecto, los agregados se formaron



principalmente en las interneuronas no afectadas mientras que se detectaron pocos o ningún agregado en las neuronas estriatales espinosas vulnerables. Se observaron múltiples agregados en casi todas las neuronas corticales positivas a la diaforasa de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH-d) y en casi el 50% de las neuronas NADPH-d positivas del neostriado no afectadas en las etapas tempranas de la EH. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la agregación de la huntingtina no es buen signo para predecir la pérdida neuronal. Más que un precursor de la muerte neuronal, la agregación de la huntingtina mutante puede ser un mecanismo citoprotector contra la neurotoxicidad inducida por la poliGln (49). Las propiedades de la huntingtina mutante distintas a su agregación, tales como su proteólisis y las interacciones con otras proteínas que afectan el tráfico de las vesículas y el transporte nuclear, pueden ser suficientes para causar neurodegeneración en el estriado y la corteza. Se deduce, entonces, que la huntingtina mutante interviene en múltiples vías patogénicas que conducen a la muerte neuronal (50).

Los resultados obtenidos utilizando cultivos de células 293T y animales transgénicos, parecen sugerir que la patogenia de la EH evoluciona en dos fases: una toxicidad inicial en el citoplasma seguida de la proteólisis de la huntingtina, de su translocación nuclear, con incremento en las concentraciones intranucleares de los fragmentos N-ter-

minal, formación de los agregados y muerte neuronal por apoptosis (51).

En ratas, la huntingtina no se encuentra consistentemente en las neuronas de proyección del estriado (que se degeneran en la EH), pero es abundante en las interneuronas estriatales colinérgicas (que sobreviven en la EH), lo cual sugiere que la mutación en la huntingtina no es responsable de la destrucción de las neuronas. Por otro lado, en contraste con la expresión heterogénea de la huntingtina en los diferentes tipos neuronales del estriado, las neuronas corticoestriatales son ricas en huntingtina y en ARNm (52).

La huntingtina también interactúa con otras proteínas como la transglutaminasa, que cataliza la formación de enlaces covalentes entre residuos de glutamina (donante) y de lisina (receptor) (53). Se ha postulado que la transglutaminasa tisular puede contribuir a la formación de los agregados intraneuronales. En un trabajo reciente se demostró, mediante procedimientos inmunohistoquímicos y bioquímicos, que la expresión y la actividad de la transglutaminasa están aumentadas en los cerebros de los pacientes con la EH, por lo que es posible que esta enzima desempeñe un rol importante en la patogenia de esta enfermedad (54).

La proteína 1 que interactúa con la huntingtina (HIP1) interviene en la regulación del citoesqueleto; cuando se pierde su interacción normal con la huntingtina puede afectarse la integridad del complejo membrana-citoesqueleto (55,56). La

huntingtina también se une a la calmodulina (57), a los microtúbulos (24,58) y a la enzima cistationina  $\beta$ -sintetasa (59) que convierte la metionina en cisteína y cuya inhibición puede conducir a la acumulación de homocisteína y al daño excitotóxico.

La proteína 2 que interactúa con la huntingtina (HIP2) es una enzima que conjuga la ubiquitina; cuando se pierde esta interacción huntingtina-ubiquitina, no se produce la proteólisis de la huntingtina (60). La conjugación de la ubiquitina con una proteína (en este caso la huntingtina) es una vía comúnmente utilizada para la degradación de las proteínas (61), por lo que las concentraciones celulares de huntingtina son normalmente reguladas en parte por la proteólisis que depende de la ubiquitina.

En ratones transgénicos para la mutación de la EH, tanto la huntingtina como la ubiquitina se localizan en las inclusiones intranucleares neuronales en el estriado (33). La conjugación de ambas proteínas se ha demostrado en cultivos celulares (46) y en linfoblastos transformados de individuos heterocigotos para la EH (33).

Es importante destacar que la huntingtina mutante se conjuga con la ubiquitina pero no es degradada (33,62) lo cual aumenta su propensión a la formación de agregados.

## **ALTERACIÓN DE LOS GANGLIOS BASALES**

La EH está asociada principalmente con la degeneración de los

ganglios basales, los cuales están constituidos por el cuerpo estriado y el núcleo amigdalóide. La sustancia negra (SN) y el núcleo subtalámico (NST) también se incluyen dentro de los ganglios basales, debido a sus conexiones con los núcleos anteriores. El cuerpo estriado comprende el neostriado (NC y putamen) y el paleostriado o globo pálido (GP). Este último se divide en externo (Gpe) e interno (Gpi). La SN tiene 2 zonas: la pars reticulata (SNr) y la pars compacta (SNc). En el neostriado se observan los cambios celulares y estructurales más dramáticos de la EH.

Los ganglios basales son considerados actualmente como componentes de circuitos segregados más amplios que incluyen al tálamo y a la corteza cerebral (63). El circuito motor comprende los campos sensoriomotores pre y post-central, las áreas motoras de los ganglios basales y los núcleos ventrales anterior y lateral del tálamo. Las proyecciones de la corteza y de la SNc terminan principalmente en el caudado-putamen. La información del caudado-putamen se dirige al GPI/SNr a través de 2 vías: una directa monosináptica y una indirecta que pasa a través del GPe y el NST (64). Existe también una conexión directa Gpe-Gpi (65). La información que sale de los ganglios basales es dirigida hacia los núcleos ventrales anteriores y laterales del tálamo (63). Con la excepción de los eferentes excitadores glutamatérgicos del NST, todas las conexiones de entrada y de salida de los ganglios basales son inhibitorias

(gabaérgicas). La liberación de dopamina de los terminales nigroestriados parece modular la actividad de las vías directa e indirecta. La transmisión es facilitada por los receptores D<sub>1</sub> en la vía directa e inhibida por los receptores D<sub>2</sub> en la indirecta. El efecto final de la liberación estriatal de la dopamina es una reducción de la actividad de las conexiones de salida de los ganglios basales, lo que conduce a una hiperactividad de las neuronas de proyección tálamo-corticales (64).

Según este modelo, los movimientos voluntarios se inician en la corteza cerebral la cual se proyecta al tallo cerebral, médula espinal y varias áreas subcorticales, entre las cuales se encuentran el NC y el putamen. La estimulación de la vía directa produce una reducción en la actividad de las conexiones de salida de los ganglios basales causando una desinhibición de las neuronas tálamo-corticales y facilitación del movimiento. Por el contrario, la activación de la vía indirecta conduciría a un incremento en la actividad de las conexiones de salida de los ganglios basales y la supresión del movimiento. La EH se caracteriza por un descenso en la actividad de las conexiones de salida de los ganglios basales. El mecanismo de producción de los movimientos coreicos sería el siguiente: la degeneración de las neuronas estriatales que se proyectan al GPe (vía indirecta) produciría una desinhibición del GPe, seguida de un aumento de la inhibición del NST y, como consecuencia, una reducción de la actividad del

Gpi y de la conexión de salida hacia el tálamo (65). La desinhibición del tálamo originaría una hiperactividad de la vía tálamo-cortical y la aparición de los movimientos coreicos.

Existen evidencias a favor de que la corea pudiera resultar de la pérdida preferencial de las neuronas del estriado que se proyectan al GPe, mientras que la forma rígida acinética de la EH sería ocasionada por la pérdida adicional de las neuronas estriatales que se proyectan al Gpi (66). Las variaciones en la actividad neuronal dentro de cada una de estas regiones del pálido desempeñan también un papel importante en estos trastornos del movimiento.

La determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa ha permitido dividir el neostriado en dos compartimientos: el estriosoma y la matriz (67). La intensidad de la coloración histoquímica para la acetilcolina es débil en los estriosomas y densa en la matriz. La huntingtina tiene también una distribución desigual que se corresponde con la división entre estriosoma y matriz (21). Esta organización es preservada relativamente en la EH. La pérdida neuronal y la gliosis ocurren en ambos compartimientos pero aparece primero en los estriosomas indicando que sus neuronas pueden ser más vulnerables en las etapas tempranas de la EH. Las neuronas de la matriz que se proyectan al GPe, parecen degenerarse antes que las neuronas de la matriz que se proyectan al Gpi (68).

Utilizando violeta de cresilo como colorante, se han identificado

2 grupos de neuronas en el neoes-triado. Uno está formado por neuro-nas de pequeño y mediano tamaño y el otro por neuronas más grandes ( $\leq 40 \mu\text{m}$ ). La relación entre las neu-ronas pequeñas-medianas y las grandes es de 175:1. Con la técnica de Golgi se distinguen 5 categorías de neuronas; las 2 principales co-rresponden a neuronas con dendritas espinosas (neuronas espinosas) y neuronas con dendritas lisas (neu-ronas no espinosas). Ambas cate-gorías comprenden neuronas peque-ñas, medianas y grandes (69).

Las neuronas espinosas repre-sentan el 80% de las neuronas del neoes-triado y todas contienen ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). Son las neuronas principales de entrada y salida del neoes-triado. Algunas tam-bién liberan encefalina, sustancia P, dinorfina o calbindina.

Las neuronas no espinosas son interneuronas con conexiones loca-les. Algunas de las de mediano ta-maño contienen, simultáneamente, NADPH-d, somatostatina, neuropé-p-tido Y y la sintetasa del óxido nítri-co. Otras neuronas no espinosas de mediano tamaño contienen colecis-toquinina. Las más grandes elabo-ran acetilcolina (21).

Las neuronas de la corteza ce-rebral que se proyectan al estriado liberan glutamato que es el principal neurotransmisor excitador en el ce-rebro. El glutamato actúa sobre 2 ti-pos de receptores: los ionotrópicos, que controlan los canales iónicos, y los metabotrópicos que controlan la actividad de las enzimas de la mem-brana celular mediante proteínas G

(70). Los receptores ionotrópicos, acti-vados por el glutamato son los re-ceptores a N-metil-D-aspartato (NMDA), al ácido alfa-amino-3-hi-droxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA) y al ácido kaínico. Se han identificado, por lo menos, 5 tipos de receptores a NMDA. Las neuro-nas espinosas del neoes-triado, que son las más vulnerables en la EH, contienen los receptores NMDA-1 y NMDA-2B. Las neuronas no espi-no-sas, que son realtivamente preserva-das, tienen principalmente los re-ceptores NMDA-2D.

Se cree que los mecanismos ex-citotóxicos juegan un rol determi-nante en la fisiopatología de la EH. La hiperestimulación de los recepto-res ionotrópicos del glutamato, es-pecialmente los receptores a NMDA, producida por el exceso de glutama-to, incrementa la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el citoplasma, causando la muerte neuronal. La hiperestimula-ción del subgrupo 1 de los recepto-res metabotrópicos abre los canales de calcio dependientes del voltaje y facilita la liberación del glutamato para que se produzca la neurotoxicidad.

La inervación dopaminérgica del neoes-triado se origina en la SNC. De los 5 tipos de receptores dopami-nérgicos identificados en el neoes-triado, los receptores D1 están loca-lizados en las neuronas espinosas que originan la vía directa, y los D2 están en las neuronas espinosas ue forman la vía indirecta. Se ha demostrado una disminución acen-tuada de los receptores D1 y D2 en individuos con el gen de la EH, asin-

tomáticos, lo cual sugiere que la alteración de los receptores dopaminérgicos, desempeña un papel importante en la fisiopatología de la EH (71). Estudios con tomografía de emisión de positrones en 4 pacientes con síntomas de la EH, mostraron una pérdida anual del 3% de la fijación del radioligando a los receptores D2 del estriado y una disminución del 5% de la fijación a los receptores D1. En 8 de 9 pacientes asintomáticos la pérdida de la fijación a los receptores D2 del estriado fue del 4% anual. Todos los 9 pacientes asintomáticos mostraron una pérdida promedio anual del 2% de la fijación del radioligando a los receptores D1. Los autores concluyeron que las mediciones con esta técnica de fijación a los receptores dopaminérgicos D1 y D2, pueden ser usadas para identificar los portadores asintomáticos del gen mutante de la EH, cuya patología está progresando activamente y quienes serían susceptibles a una terapia neuroprotectora. La determinación de la tasa de progresión de la EH en enfermos y en portadores asintomáticos del gen, será de extraordinaria importancia en ensayos futuros de tratamientos restauradores (72).

Los receptores a los neurotransmisores (glutamato, dopamina, acetilcolina y adenosina) que están alterados en la EH disminuyen en el cerebro de ratones transgénicos, en algunos casos antes de que aparezcan síntomas motores o conductuales. Además, esta disminución está precedida por un descenso selectivo en las correspondientes especies de

ARNm, lo cual sugiere una alteración en la transcripción de los genes específicos. Estos resultados indican que los descensos en el número de receptores preceden y, por lo tanto, pudieran contribuir al desarrollo de los síntomas y, en segundo lugar, que la alteración en la transcripción de genes específicos pudiera ser un mecanismo patológico clave en la EH (73).

## NEUROPATOLOGÍA

El 80% de los cerebros de pacientes con la EH presenta atrofia de los lóbulos frontales. En un estudio de una muestra de 163 cerebros, el peso promedio fue 1067 g (el peso normal es cercano a 1350 g) (74). El 95% presenta atrofia simétrica bilateral del estriado. Las zonas no estriadales son normales o presentan atrofia de severidad variable, especialmente cuando hay otra enfermedad coexistente. El análisis morfométrico de 30 cerebros de pacientes con la EH reveló pérdidas de 21-29% de la corteza cerebral, 28% del tálamo, 57% del NC, 64% del putamen y 29-34% de la sustancia blanca (75). El neostriado fue la única región donde la pérdida neuronal se asoció a una astrocitosis reactiva.

El neostriado de los enfermos se atrofia en forma ordenada y topográfica. La cola del NC se degenera más que el cuerpo y éste más que la cabeza. De la misma manera, la porción caudal del putamen se altera más que la porción rostral. A lo largo del eje coronal del neostriado,

las regiones dorsales son más afectadas que las ventrales.

El patrón distintivo de la degeneración en el estriado de los pacientes con la EH ha sido el marco para el desarrollo de un sistema de gradación basado en los hallazgos macro y microscópicos (74). Este sistema tiene 5 grados (0-4) de severidad del daño estriatal. El 1% de los cerebros de pacientes con la EH corresponde al grado 0. Macroscópicamente son indistinguibles de los cerebros normales; microscópicamente hay 30-40% de pérdida neuronal en la cola del NC, sin gliosis reactiva.

El grado 1 comprende el 4% de todos los cerebros. La cola del NC es mucho más pequeña que la normal y puede detectarse una atrofia del cuerpo del NC. La pérdida neuronal y la astrogliosis son evidentes en la cola del NC, menos en el cuerpo y en la porción dorsal de la cabeza del NC y del putamen. Hay una pérdida del 50% de las neuronas de la cabeza del NC.

El grado 2 representa el 16% y el grado 3 el 54% de todos los cerebros de pacientes con la EH. Macroscópicamente, la atrofia del estriado es ligera o moderada en el grado 2 y severa en el grado 3. Microscópicamente, los cambios observados en los grados 2 y 3 son más severos que en el grado 1, pero menores que en el grado 4.

En el grado 4 está representado el 25% de todos los cerebros de pacientes con la EH. El estriado está severamente atrofiado y ha

perdido el 95% o más de sus neuronas.

Existe una buena correlación entre el grado de patología estriatal y la alteración de otras regiones cerebrales en la EH. El globo pálido está atrofiado en los grados 3 y 4. En el grado 4 se observa una reducción del 50% del GP; el GPe es más afectado que el GPi. La atrofia del GP es debida principalmente a la pérdida del neuropilo y, en menor cuantía, a la disminución de las neuronas.

La atrofia de la corteza cerebral puede ser muy manifiesta en los grados 3 y 4, pero la pérdida neuronal es difícil de apreciar. En el tálamo se observa astrocitosis y pérdida neuronal en el núcleo centromediano, solamente en los grados 3 y 4. En la SNr se produce pérdida neuronal. La SNc es más delgada que la normal, pero el número de neuronas es aparentemente normal en todos los grados. En el NST hay una marcada atrofia en los grados 3 y 4, con muy poca astrocitosis.

El cerebelo es más pequeño en los grados 3 y 4, pero está menos atrofico que la corteza cerebral. La pérdida acentuada de neuronas en la corteza cerebelosa ocurre raramente y generalmente se asocia con eventos agónicos o hipóxicos remotos (21).

Existe una correlación entre el número de trinucleótidos CAG y el grado de severidad neuropatológica. Un número grande de repeticiones de CAG se corresponde con una pérdida neuronal también acentuada (76).

## CAMBIOS NEUROQUÍMICOS

Las neuronas espinosas que contienen encefalina y se proyectan al GPe son más afectadas que las que poseen sustancia P y terminan en el GPi (77,78). La degeneración de las neuronas del neocórtex se traduce bioquímicamente por cambios en las concentraciones de los neurotransmisores que sintetizan. Los niveles de GABA, dinorfina y sustancia P están disminuidos, pero los de la somatostatina y neuropéptido Y se encuentran aumentados (1,79). En el putamen, el contenido de GABA y glutamato disminuye significativamente (80).

Las interneuronas no espinosas que tienen NADPH-d son relativamente resistentes a la degeneración en la EH, debido posiblemente al tipo de receptores glutamatérgicos que contienen (81). Se ha demostrado que la infusión de ácido quinolínico (agonista de los receptores NMDA) en el neocórtex destruye las neuronas espinosas sin afectar las no espinosas que contienen NADPH-d; estos cambios celulares son semejantes a los observados en la EH. Por otro lado, la administración intraestriatal de los agonistas a los receptores no NMDA, tales como el quisqualato y el kainato, destruye tanto las neuronas espinosas como las no espinosas que tienen NADPH-d. Los resultados sugieren que las neuronas que poseen NADPH-d no tienen receptores NMDA, pero sí al kainato (82,83). En las etapas finales de la EH, tanto las neuronas espinosas como las no es-

pinosas son afectadas y, por consiguiente, los receptores glutamatérgicos ionotrópicos y los metabotrópicos también son alterados.

Se ha sugerido que una alteración en el metabolismo energético es la responsable de la vulnerabilidad selectiva de las neuronas espinosas medianas en la EH. La inyección subaguda del ácido 3-nitropropiónico, que produce una inhibición irreversible del complejo II-deshidrogenasa succínica de la cadena respiratoria mitocondrial, produce una pérdida neuronal selectiva en el estriado. Este efecto tóxico puede ser bloqueado por antagonistas de los receptores NMDA (84). La alteración en el metabolismo energético ocasiona un descenso en los depósitos de fosfato de alta energía y deterioro del potencial de membrana. En estas circunstancias se libera el bloqueo que producen los iones  $Mg^{2+}$  en los receptores NMDA, los cuales son activados por el glutamato hasta producir la muerte neuronal por un mecanismo excitotóxico lento (85). La administración del ácido 3-nitropropiónico a roedores y primates reproduce la mayor parte de las características clínicas y fisiopatológicas de la EH, incluyendo los movimientos distónicos y coreiformes, el déficit cognitivo y la degeneración estriatal progresiva y heterogénea, preferentemente de las neuronas gabaérgicas espinosas de mediano tamaño, con poca afectación de las interneuronas y de las aferentes (86).

En el estriado de los pacientes con EH se ha detectado un incremento en los niveles de ácido láctico

cerebral, así como una disminución de la actividad de la deshidrogenasa succínica. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que una alteración en el metabolismo energético en la EH es la responsable de la muerte neuronal (28).

El hallazgo de concentraciones elevadas de productos del daño oxidativo, tales como el malondialdehído, la 8-hidroxideoxiguanosina, la 3-nitrotirosina y la hemooxigenasa en áreas degeneradas del cerebro de enfermos; y el aumento en la producción de radicales libres en modelos animales, parecen indicar que el estrés oxidativo es el agente causal o un constituyente secundario de la cascada de eventos que conducen a la muerte neuronal en la EH (87). Por esa razón, la utilización de compuestos antioxidantes y sequestradores de los radicales libres debería ser considerada seriamente en el tratamiento de estos enfermos, particularmente de los individuos asintomáticos portadores del gen de la EH, con el fin de determinar el efecto de estos agentes en la progresión de la enfermedad. Estudios recientes han demostrado que la administración oral de la Coenzima Q10, que es un factor importante en la cadena de transporte de electrones y un buen antioxidante, disminuye significativamente los niveles elevados de lactato reportados en pacientes con EH (90).

La melatonina sería un candidato ideal para ensayar, por su efecto antioxidante y sequestrador de radicales libres (88), por su alta solubilidad en medios orgánicos y

acuosos; así como por la facilidad con que atraviesa la barrera hematoencefálica y las membranas celular y nuclear. Inicialmente se estudiaría su efecto en medio de cultivo y en animales transgénicos. La escasa toxicidad de la melatonina facilitaría el análisis de un amplio rango de dosis por tiempos prolongados. El único reporte sobre el uso de la melatonina en la EH corresponde a 2 casos (una mujer de 53 y otra de 39 años) con disfunción motora moderada a severa. Aunque no tenían síntomas psicóticos antes de la administración de la melatonina, ambas presentaron depresión y retardo psicomotor durante el tratamiento. Sin embargo, las dos pacientes recibieron dosis muy elevadas de la neurohormona (hasta 1200 mg diarios) por poco tiempo (9-12 días) y dividida en cuatro dosis iguales durante el día, lo que pudo haber alterado la síntesis nocturna y la liberación de la melatonina endógena y haber producido cambios circadianos impredecibles (89).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MARTIN J.B., GUSELLA J.F.: Huntington's disease: Pathogenesis and management. *New Engl J Med* 1986; 315:1267-1276.
2. PENNEY J.B., YOUNG A.B., SHOULSON I., STAROSTA-RUBINSTEIN S., SNODGRASS S.R., SANCHEZ-RAMOS J., RAMOS-ARROYO M., GOMEZ F., PENCHASZADEH G., ALVIR J., ESTEVEZ J., QUIROZ I,



- MARSOL N., MORENO H., CONNEALLY P. M., BONILLA E., WEXLER N.: Huntington's disease in Venezuela: 7 years of follow-up on symptomatic and asymptomatic individuals. *Movement Disorders* 1990; 5: 93-99.
3. BIRD E. D., CARO A. J., PILLING J. B.: A sex related factor in the inheritance of Huntington's chorea. *Ann Hum Genet* 1974; 37:255-260.
  4. HARPER P. S.: The epidemiology of Huntington's disease. *Hum Genet* 1992; 89:365-376.
  5. NEGRETTE A.: Corea de Huntington. Maracaibo, Venezuela: Taller Gráfico de la Universidad del Zulia; 1962.
  6. YOUNG A.B., SHOULSON I., PENNEY J.B., STAROSTA-RUBINSTEIN S., GOMEZ F., TRAVERS H., RAMOS M., SNODGRASS S.R., BONILLA E., MORENO H., WEXLER N.: Huntington's disease in Venezuela: Neurologic features and functional decline. *Neurology* 1986; 36:244-249.
  7. OSBORNE J.P., MUNSON P., BURMAN D.: Huntington's chorea: report of 3 cases and review of the literature. *Arch Dis Child* 1982; 57:99-103.
  8. GOEBEL H. H., HEIPERTZ R., SCHOLZ W., IQBAL K., TELLEZ-NAGEL I.: Juvenil Huntington's chorea: clinical, ultrastructural and biochemical studies. *Neurology (NY)* 1978; 28:23-31.
  9. FOROUD T., GRAY J., IVASHINA J., CONNEALLY P.M.: Differences in duration of Huntington's disease based on age of onset. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 52-56.
  10. WEXLER N.S., YOUNG A.B., TANZI R.E., TRAVERS H., STAROSTA-RUBINSTEIN S., PENNEY J.B., SNODGRASS S. R., SHOULSON I., GOMEZ F., RAMOS-ARROYO M., PENCHASZADEH G.K., MORENO H., GIBBONS K., FARYNIARZ A., HOBBS W., ANDERSON M. A., BONILLA E., CONNEALLY P.M., GUSELLA J.F.: Homozygotes for Huntington's disease. *Nature* 1987, 326:194-197.
  11. FOLSTEIN S., FOLSTEIN M., McHUGH P.: Psychiatric syndromes in Huntington's disease. In *Advances in Neurology*, Vol 23 (T. N. Chase y col., ed) New York, Raven Press, 1979.
  12. JOSIASSEN R.C., CURRY L., MANCALL E.: Development of Neuropsychological deficits in Huntington's disease. *Arch Neurol* 1983; 40:791-796.
  13. PRIETO DE RINCON D., BONILLA E.: Aspectos psiquiátricos de pacientes con la enfermedad de Huntington y sus descendientes. *Invest Clin* 1986; 27:165-201.
  14. THE HUNTINGTON'S DISEASE COLLABORATIVE RESEARCH GROUP: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on

- Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72: 971-983.
15. CASKEY C.T., PIZZUTI A., FU Y.H., FENWICK R. G., NELSON D.L.: Triplet repeat mutations in human disease. *Science* 1992; 256:784-789.
  16. PERSICHETTI F., AMBROSE C.M., GE P., McNEIL S.M., SRINIDHI J., ANDERSON M.A., JENKINS B., BARNES G.T., DUYAO M.P., KANALEY L., WEXLER N.S., MYERS R.H., BIRD E.D., VONSATTEL J.P., MACDONALD M.E., GUSELLA J.F.: Normal and expanded Huntington's disease gene alleles produce distinguishable proteins due to translation cross the CAG repeat. *Mol Med* 1995; 1:374-383.
  17. RUBINZTEIN D.C. LEGGO J., COLES R., ALMQVIST E., BIANCALANA V., CASSIMAN J.J., CHOTAI K., CONNARTY M., CRAUFURD D., CURTIS A., DAVIDSON M.J., DIFFER A.M., DODE C., DODGE A., FRONTALI M., RANEN N.G., STINE O.C., SHERR M., ABBOTT M.H., FRANZ M L., GRAHAM C.A., HARPER P.S., HEDREEN J.C., JACKSON A., KAPLAN J.C., LOSEKDOT M., MACMILLAN J.C., MORRISON P., TROTTIER Y., NOVELLETTO A., SIMPSON S.A., THEILMAN J., WHITTAKER J.L., FOLSTEIN S.E., ROSS C.A., HAYDEN M.R.: Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington's disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeat and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *Am J Hum Genet* 1996; 59:16-22.
  18. WALLING H.W., BALDASSARE J.J., WESTFALL T.C.: Molecular aspects of Huntington's disease. *J Neurosci Res.* 1998; 54:301-308.
  19. DUYAO M., AMBROSE C., MYER R., NOVELLETTO A., PERSICHETTI F., FRONTALI M., FOLSTEIN S., ROSS C., FRANZ M., ABBOTT M., GRAY J., CONNEALLY P., YOUNG A., PENNEY J., HOLLINGWORTH Z., SHOULSON I., LAZZARINI A., FALEK A., KOROSHETZ W., SAX D., BIRD E., VONSATTEL J., BONILLA E., ALVIR J., BICKHAM CONDE J., CHA J. H., DURE I., GOMEZ F., RAMOS M., SÁNCHEZ RAMOS J., SNODGRASS S., DE YOUNG M., WEXLER N., MOSCOWITZ C., PENCHASZADETH G., MACFARLANE H., ANDERSON M., JENKINS B., SRINIDHI J., BARNES G., GUSELLA J., MACDONALD M.: Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat Genet* 1993; 4:387-392.
  20. CULJKOVIC B., STOVKOVIC O., VOJVODIC N., SVETEL M., RAKIC L., ROMAC S., KOSTIC V.: Correlation between triplet repeat expansion and computed tomography measures of caudate nuclei atrophy in

- Huntington's disease. *J Neurol* 1999; 246:1090-1093.
21. VONSATTEL J.P.G., DIFIGLIA M.: Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998; 57:369-384.
  22. SHARP A.H., LOVE S.J., SCHILLING G., LI S.H., LI X.J., BAO J., WAGSTER M.V., KOTZUK J.A., STEINER J.P., LO A., HEDREEN J., SISODIA S., SNYDER S.H., DAWSON T.M., RYUGO D.K., ROSS C.A.: Widespread expression of Huntington's disease gene (IT15) protein product. *Neuron* 1995; 14:1065-1074.
  23. DIFIGLIA M., SAPP E., CHASE K., SCHWARCZ C., MELONI A., YOUNG C., MARTIN E., VONSATTEL J.P., CARRAWAY R., REEVES S.A., BOYCE F.M., ARONIN N.: Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron* 1995; 14:1075-1081.
  24. GUTEKUNST C.A., LEVEY A.I., HEILMAN C.J., WHALEY W.L., YI H., NASH N.R., REES H.D., MADDEN J.J., HERSCH S.M.: Identification and localization of huntingtin in brain and lymphoblastoid cell lines with anti-fusion protein antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:8710-8714.
  25. TROTTIER Y., DEVYS D., IMBERT G., SAUDOU F., AN I., LUTZ Y., WEBER C., AGID Y., HIRSCH E.C., MANDEL J.L.: Cellular localization of the Huntington's disease protein and discrimination of the normal and mutated form. *Nat Genet* 1995; 10:104-110.
  26. SIERADZAN K.A., MECHAN A.O., JONES L., WANKER E. E., NUKINA N., MANN D.M.: Huntington's disease intranuclear inclusions contain truncated, ubiquitinated huntingtin protein. *Exp Neurol* 1999; 156: 92-99.
  27. GUTEKUNST C.A., LI S.H., YI H., MULROY J. ., KUEMMERLE S., JONES R., RYE D., FERRANTE R.J., HERSCH S.M., LI X.J.: Nuclear and neuropil aggregates in Huntington's disease: relationship to neuropathology. *J Neurosci* 1999; 19:2522-2534.
  28. GU M., GASH M.T., MANN V.M., JAVOY-AGID F., COOPER J.M., SCHAPIRA A.H.: Mitochondrial defect in Huntington's disease caudate nucleus. *Ann Neurol* 1996; 39: 385-389.
  29. DUYAO M.P., AVERBACH A.B., RYAN A., PERSICETTI F., BARNES G.T., McNIEL S.M., GE P., VONSATTEL J.P., GUSELLA J.F., JOYNER A.L., MACDONALD M.E.: Inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog (Hdh). *Science* 1995, 269:407-410.
  30. MANGIARINI L., SATHASIVAM K., SELLER M., COZENS B., HARPER A., HETHERINGTON C., LAWTON M., TROTTIER Y., LEHRACH H., DAVIES S.W., BATES G.P.: Exon 1 of the HD gene with an expansive neuro-

- logical phenotype in transgenic mice. *Cell* 1996; 87: 493-506.
31. BATES G.P., MANGIARINI F., MAHAL A., DAVIES S.W.: Transgenic models of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 1997, 6:1633-1637.
32. ROOS R.A.C., BOTS G.T.A.M.: Nuclear membrane indentations in Huntington's chorea. *J Neurol Sci* 183; 61:37-47.
33. DAVIES S.W., TURMAINE M., COZENS B.A., DIFIGLIA M., SHARP A.H., ROSS C.A., SCHERZINGER E., WANKER E.E., MANGIARINI L., BATES G.P.: Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 1997; 90:537-548.
34. LI H., LI S.H., CHENG A.L., MANGIARINI L., BATES G.P., LI X.J.: Ultrastructural localization and progressive formation of neuropil aggregates in Huntington's disease transgenic mice. *Hum Mol Genet* 1999; 8:1227-1236.
35. KIM M., LEE H.S., LAFORET G., MCINTYRE C., MARTIN E. J., CHANG P., KIM T.W., WILLIAMS M., REDDY P.H., TAGLE D., BOYCE F.M., WON L., HELLER A., ARONIN N., DIFIGLIA M.: Mutant huntingtin expression in clonal striatal cells: dissociation of inclusion formation and neuronal survival by caspase inhibition. *J Neurosci* 1999; 19:964-973.
36. ZEITLIN S., LIU J.P., CHAPMAN D.L., PAPAIOANNOU V.E., EFSTRATIADIS A.: Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue. *Nat Genet* 1995; 11:155-163.
37. GOLDBERG Y.P., NICHOLSON D.W., RASPER D.M., KALCHMAN M.A., KOIDE H.B., GRAHAM R.K., BROMM M., KAZEMI-ESFARJANI P., THORNBERRY N.A., VAILLANCOURT J.P., HAYDEN M.R.: Cleavage of huntingtin by apopain, a proapoptotic cysteine protease, is modulated by the polyglutamine tract. *Nat Genet* 1996; 13: 442-449.
38. ONA V.O., LI M., VONSATTEL J.P., ANDREWS L.J., KHAN S.Q., CHUNG W.M., FREY A.S., MENON A.S., LI X.J., STIEG P.A., YUAN J., PENNEY J.B., YOUNG A.B., CHA J.H., FRIEDLANDER R.M.: Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature* 1999; 399:263-267.
39. SANCHEZ I., XU C.J., JUO P., KAKIZAKA A., BLENIS J., YUAN J.: Caspase-8 is required for cell death induced by expanded polyglutamine repeats. *Neuron* 1999; 22:623-633.
40. KAHLEM P., TERRE C., GREEN H., DJIAN P.: Peptides containing glutamine repeats as substrates for transglutaminase-catalyzed cross-linking: Relevance to diseases of the nervous system. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996; 93:14580-14585.

41. BURKE J.R., ENGHILD J. ., MARTIN M.E., JOU Y.S., MYERS R.M., ROSES A.D., VANCE J.M., STRITTMATTER W.J.: Huntingtin and DRPLA proteins selectively interact with the enzyme GADPH. *Nat Med* 1996; 2:347-350.
42. ENGELENDER S., SHARP A.H., COLOMER V., TOKITO M.K., LANAHAN A., WORLEY P., HOLZBAUER E.L.F., ROSS C.A.: Huntingtin associated protein 1 (HAP1) interacts with the p150 (Glued) subunit of dynein. *Hum Molec Genet* 1997; 6:2205-2212.
43. PAGE K.J., POTTER L., ARONNI S., EVERITT B.J., DUNNETT S.B.: The expression of huntingtin-associated protein (HAP1) mRNA in developing, adult, and ageing rat CNS: Implications for Huntington's disease neuropathology. *Eur J Neurosci* 1998, 10:1835-1845.
44. LI S.H., HOSSEINI S.H., GUTEKUNST C.A., HERSCH S.M., FERRANTE R.J., LI X.J.: A human HAP-1 homologue: cloning, expression, and interaction with huntingtin. *J Biol Chem* 1998; 273:19220-19227.
45. PERUTZ M.F.: Glutamine repeats and inherited neurodegenerative diseases: Molecular aspects. *Curr Opin Struct Biol* 1996; 6:848-858.
46. COOPER J.K., SCHILLING G., PETERS M.F., HERRING W.J., SHARP A.H., KAMINSKY Z., MASONE J., KHAN F.A., DELANOY M., BORCHELT D.R., DAWSON V.L., ROSS C.A.: Truncated N-terminal fragments of huntingtin with expanded glutamine repeats form nuclear and cytoplasmic aggregates in cell culture. *Hum Molec Genet* 1998; 7:783-790.
47. SCHERZINGER E., LURZ R., TURMAINE M., MANGIARINI L., HOLLENBACH B., HASENBANK R., BATES G.P., DAVIES S.W., LEHRACH H., WANKER E.E.: Huntingtin-encoded polyglutamine expansions form amyloid-like protein aggregates in vitro and in vivo. *Cell* 1997; 90: 549-558.
48. ARONIN N., CHASE K., YOUNG C., SAPP E., SCHWARZ C., HATTA N., KORNREICH R., LANDWEHRMEYER B., BIRD E., BEAL M.F.: CAG expansion affects the expression of mutant huntingtin in the Huntington's disease brain. *Neuron* 1995, 15:1193-1201.
49. KUEMMERLE S., GUTEKUNST C.A., KLEIM A.M., LI X.J., LI S.H., BEAL M.F., HERSCH S.M., FERRANTE R.J.: Huntingtin aggregates may not predict neuronal death in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1999; 46: 842-849.
50. ARONIN N., KIM M., LAFORET G., DI FIGLIA M.: Are there multiple pathways in the pathogenesis of Huntington's disease? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354:995-1003.
51. HACKAM A.S., HODGSON J.G., SINGARAJA R., ZHANG T.,

- GAN L., GUTEKUNST C.A., HERSCH S.M., HAYDEN M.R.: Evidence for both the nucleus and cytoplasm as subcellular sites of pathogenesis in Huntington's disease in cell culture and in transgenic mice expressing mutant huntingtin. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354:1047-1055.
52. FUSCO F.R., CHEN Q., LAMOREAUX W.J., FIGUEREDO-CARDENAS G., JIAO Y., COFFMAN J.A., SURMEIER D.J., HONIG M.G., CARLOCK L.R., REINER A.: Cellular localization of huntingtin in striatal and cortical neurons in rats: lack of correlation with neuronal vulnerability in Huntington's disease. *J Neurosci* 1999; 19:1189-1202.
53. KAHLEM P., GREEN H., DJIAN P.: Transglutaminase action imitates Huntington's disease: Selective polymerization of huntingtin containing expanded polyglutamine. *Mol Cell* 1998; 1: 595-601.
54. LESORT M., CHUN W., JOHNSON G.V., FERRANTE R.J.: Tissue transglutaminase is increased in Huntington's disease brain. *J. Neurochem* 1999; 73:2018-2027.
55. KALCHMAN M.A., KOIDE H.B., MCCUTCHEON K., GRAHAM R.K., NICHOL K., NISHIYAMA K., KAZEMI-ESFARJANI P., LYNN F.C., WELLINGTON C., METZLER M., GOLDBER Y.P., KANAZAWA I., GIETZ R.D., HAYDEN M. R.: HIP1, a human homologue of *S. cerevisiae* S1a2p, interacts with membrane-associated huntingtin in the brain. *Nat Genet* 1997; 16:44-53.
56. WANKER E.E., ROVIRA C., SCHERZINGER E., HASENBANK R., WALTER S., TAIT D., COLICELLI J., LEHRACH H.: HIP1: A huntingtin interacting protein isolated by the yeast two-hybrid system. *Hum Mol Genet* 1997; 6:487-495.
57. BAO J., SHARP A.H., WAGSTER M.V., BECHER M., SCHILLING G., ROSS C.A., DAWSON V.L., DAWSON T.M.: Expansion of polyglutamine repeat in huntingtin leads to abnormal protein interactions involving calmodulin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:5037-5042.
58. TUKAMOTO., NUKINA N., IDE K., KANAZAWA I.: Huntington's disease gene product, huntingtin, associates with microtubules in vitro. *Brain Res. Mol Brain Res* 1997; 51:8-14.
59. BOUTELL J.M., WOOD J.D., HARPER P.S., JONES A.L.: Huntingtin interacts with cystathionine B-synthase. *Hum Molec Genet* 1998; 7:371-378.
60. KALCHMAN M.A., GRAHAM R.K., XIA G., KOIDE H.B., HODGSON J.G., GRAHAM K.C., GOLDBERE Y.G., GIETZ R.D., PICKART C.M., HAYDEN M.R.: Huntingtin is ubiquitinated and interacts with a specific ubiquitin conjugating en-

- zime. *J Biol Chem* 1996; 271: 19385-19394.
61. JENTSCH S., SCHLENKER S.: Selective protein degradation: a journey's end within the proteasome. *Cell* 1995; 82:881-884.
62. DIFIGLIA M., SAPP E., CHASE K.O., DAVIES S.W., BATES G.P., VONSATTEL J.P., ARONIN N.: Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 1997; 277: 1990-1993.
63. ALEXANDER G.E., CRUTCHER M.D., DELONG M.R.: Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Prog Brain Res* 1990; 85:119-146.
64. WICHMANN T., DELONG M.R.: Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6:751-758.
65. ALBIN R.L.: The pathophysiology of chorea/ballism and parkinsonism. *Parkinsonism Related Dis* 1995; 1:3-11.
66. ALBIN R.L., REINER A., ANDERSON K.D., PENNEY J.B., YOUNG A. B.: Striatal and nigral neuron subpopulations in rigid Huntington's disease: Implications for the functional anatomy of chorea and rigidity-akinesia. *Ann Neurol* 1990; 27: 357-365.
67. GOLDMAN-RAKIC P.S.: Cytoarchitectonic heterogeneity of the primate neostriatum: Subdivision into island and matrix cellular compartments. *J Comp Neurol* 1982; 205:398-413.
68. HEDREEN J.C., FOLSTEIN S.E.: Early loss of neostriatal striosome neurons in Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1995; 54:105-120.
69. GRAVELAND G.A., WILLIAMS R.S., DIFIGLIA M.: A Golgi study of the human neostriatum: Neurons and afferent fibers. *J Comp Neurol* 1985; 234:317-333.
70. NICOLETTI F., BRUNO V., COPANI A., CASABONA G., KNÖPFEL T.: Metabotropic glutamate receptors: A new target for the therapy of neurodegenerative disorders? *TINS* 1996; 19:267-271.
71. WEEKS R.A., HARDING A.E., BROOKS D.J.: Striatal D1 and D2 dopamine receptor loss in asymptomatic mutation carriers of Huntington's disease. *Ann Neurol* 1996; 40:49-54.
72. ANDREWS T.C., WEEKS R.A., TURJANSKI N., GUNN R.N., WATKINS L.H., SAHAKIAN B., HODGES J.R., ROSSER A.E., WOOD N.W., BROOKS D.J.: Huntington's disease progression. PET and clinical observations. *Brain* 1999; 122:2353-2363.
73. CHA J.H., FREY A.S., ALS-DORF S.A., KERNER J.A., KOSINSKI C.M. MANGIARINI L., PENNEY J.B., DAVIES S.W., BATES G.P., YOUNG A.B.: Altered neurotransmitter receptor expression in transgenic mouse

- models of Huntington's disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354:981-989.
74. VONSATTEL J.P., MYERS R.H., STEVENS T.J., FERRANTE R.J., BIRD E.D., RICHARDSON E.P.: Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985; 44:559-577.
  75. DE LA MONTE S.M., VONSATTEL J.P., RICHARDSON E.P.: Morphometric demonstration of atrophic changes in the cerebral cortex, white matter, and neostriatum in Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1988; 47:516-525.
  76. FURTADO S., SUCHOWERSKY O., REWCASTLE B., GRAHAM L., KLIMEK M.L., GARBER A.: Relationship between trinucleotide repeats and neuropathological changes in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1996; 39:132-136.
  77. REINER A., ALBIN R.L., ANDERSON K.D., D'AMATO C.J., PENNEY J.B., YOUNG A.B.: Differential loss of striatal projection neurons in Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:5733-5737.
  78. SAPP E., GE P., AIZAWA H., BIRD E.D., PENNEY J., YOUNG A.B., VONSATTEL J.P., DIFIGLIA M.: Evidence for a preferential loss of enkephalin immunoreactivity in the external globus pallidus in low grade Huntington's disease using high resolution image analysis. *Neuroscience* 1995; 64:397-404.
  79. BONILLA E.: Neurotransmisores en la Enfermedad de Huntington. *Revisión Invest Clin* 1987; 28:99-109.
  80. BONILLA E., PRASAD A.L.N., ARRIETA A.: Huntington's disease: Studies on brain free amino acids. *Life Sci* 1988; 42:1153-1158.
  81. FERRANTE R.J., KOWALL N.W., BEAL M.F., MARTIN J.B., BIRD E.D., RICHARDSON E.P.: Morphologic and histochemical characteristics of a spared subset of striatal neurons in Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1987; 46: 12-27.
  82. BEAL M.F., KOWALL N.W., ELISON D.W., MAZUREK M.F., SWARTZ K.J., MARTIN J.B.: Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature* 1986; 321:168-171.
  83. KOH J.Y., PETERS S., CHOI D.W.: Neurons containing NADPH-Diaphorase are selectively resistant to quinolinate toxicity. *Science* 1986; 234:73-76.
  84. BEAL M.F., BROUILLET E., JENKINS B.G., FERRANTE R.J., KOWALL N.W., MILLER J.M., STOREY E., SRIVASTAVA R., ROSEN B.R., HYMAN B.T.: Neurochemical and histologic characterization of striatal excitotoxic lesions produced by the mitochondrial toxin 3-



- nitropropionic acid. *J Neurosci* 1993; 13:4181-4192.
85. BEAL M.F., HYMAN B.T., KOROSHETZ W.: Do defects in mitochondrial energy metabolism underlie the pathology of neurodegenerative disease ? *TINS* 1993; 16:125-131.
86. BROUILLET E., CONDÉ F., BEAL M.F., HANTRAYE P.: Replicating Huntington's disease phenotype in experimental animals. *Prog Neurobiol* 1999; 59:427-468.
87. BROWNE S. E., FERRANTE R. J., BEAL M. F.: Oxidative stress in Huntington's disease. *Brain Pathol* 1999; 9:147-163.
88. REITER R.J., MELCHIORRI D., SEWERYNEK E., POEGGELER B., BARLOW-WALDEN L.R., CHUANG J.I., ORTIZ G.G., ACUÑA CASTROVIEJO D.: A review of the evidence supporting melatonin's role as an anti-oxidante. *J Pineal Res* 1995; 18:1-11.
89. CARMAN J.S., POST R.M., BUSWELL R., GOODWIN F.K.: Negative effects of melatonin in depression. *Amer J Psychiatry* 1976; 133:1181-1186.
90. BEAL M.F.: Coenzyme Q10 administration and its potencial for treatment of neurodegenerative diseases. *Biofactors* 1999; 9:261-266.