

Doença de Huntington: Uma Revisão dos Aspectos Fisiopatológicos

Huntington's Disease: A Review on the Physiopathological Aspects

Joana M Gil-Mohapel¹, Ana Cristina Rego²

RESUMO

Introdução. A doença de Huntington (DH) é uma doença neurodegenerativa do cérebro que se caracteriza pela perda de coordenação motora, alterações psiquiátricas, declínio cognitivo e demência progressiva. A DH é causada pela mutação no gene de uma proteína que todos possuímos, a huntingtina. A nível cerebral, a huntingtina mutante causa a morte seletiva de neurónios do estriado, córtex e hipotálamo. Esta mutação resulta na alteração de múltiplos mecanismos intracelulares que conduzem à disfunção das vias nigro- e corticoestriatal. **Objetivo.** O objetivo do presente artigo consiste em apresentar uma revisão crítica dos principais mecanismos de disfunção neuronal glutamatérgica e dopaminérgica na DH assim como dos mecanismos de desregulação metabólica e mitocondrial que contribuem para a morte neuronal seletiva na DH. **Método.** Foi realizada uma pesquisa de artigos científicos desde 1980 na base de dados PubMed. **Resultados.** Foram selecionados 10 artigos de revisão e 85 artigos originais, publicados em Inglês. **Conclusão.** Com base na literatura analisada é possível concluir que a disfunção neuronal precoce induzida pela huntingtina mutante em regiões não-estriatais (nomeadamente o córtex e a *substantia nigra*) desempenha um papel crucial durante as fases iniciais da DH. Tal informação poderá ser relevante para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a DH.

Unitermos. Apoptose, Autofagia, Doença de Huntington, Gânglios da Base, Morte Celular.

Citação. Gil-Mohapel JM, Rego AC. Doença de Huntington: Uma Revisão dos Aspectos Fisiopatológicos.

ABSTRACT

Introduction. Huntington's disease (HD) is a brain neurodegenerative disorder, characterized by the loss of motor coordination, psychiatric disturbances, cognitive decline and progressive dementia. HD is caused by a mutation in the gene encoding for a protein normally present in the human body, huntingtin. At the cerebral level, mutant huntingtin causes the selective death of striatal, cortical and hypothalamic neurons. The mutation underlies changes in several basic intracellular mechanisms that lead to dysfunction of nigro- and corticostriatal pathways. **Objective.** The goal of this study is to present a critical overview of the main mechanisms responsible for the glutamatergic and dopaminergic dysfunction, as well as the pathways involved in metabolic and mitochondrial dysfunction in HD. **Method.** We performed a PubMed search and selected scientific articles that were published since 1980. **Results.** We selected 10 review articles and 85 original articles, all published in English. **Conclusion.** Based on the literature, it is possible to conclude that mutant huntingtin-induced neuronal dysfunction occurring outside the striatum (namely in the cortex and *substantia nigra*) plays a critical role during the initial stages of the disease. This information may be relevant for the development of new therapeutic strategies for HD.

Keywords. Apoptosis, Autophagy, Basal Ganglia, Cell Death, Huntington Disease.

Citation. Gil-Mohapel JM, Rego AC. Huntington's Disease: A Review on the Physiopathological Aspects.

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal e na Divisão de Ciências Médicas da Universidade de Victoria, Canadá.

1. Doutorada em Biologia Celular (Universidade de Coimbra, Portugal); Investigador de pós-doutoramento na Divisão de Ciências Médicas da Universidade de Victoria, Canadá.

2. Doutorada em Biologia Celular (Universidade de Coimbra, Portugal); Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; Coordenadora do grupo de investigação "Mitochondrial Dysfunction and Signaling in Neurodegeneration" do Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra, Portugal.

Endereço para correspondência:

Prof. Ana Cristina Rego
Faculdade de Medicina e
Centro de Neurociências Biologia Celular
Rua Larga, Universidade de Coimbra (pólo I),
CEP 3004-504, Coimbra, Portugal.
Tel/Fax: +351-239-820190 / +351-239-822776;
E-mail: a.cristina.rego@gmail.com

Revisão

Recebido em: 26/08/10

Aceito em: 04/03/11

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

A doença de Huntington (DH) é uma patologia neurodegenerativa, autossômica dominante, classicamente descrita como Coreia de Huntington ('*khoreia*' é a palavra grega para dança). A DH é a doença poliglutamínica mais comum e também a melhor estudada. Apresenta uma prevalência de 3 a 10 indivíduos por cada 100.000 no oeste Europeu e América do Norte^{1,2}.

A DH foi descrita inicialmente no século 19 por George Huntington, que identificou as características clínicas da doença e o padrão de transmissão familiar. Contudo, foi apenas em 1993 que a mutação génica causadora da DH foi descoberta pelo consórcio organizado pela *Hereditary Disease Foundation*. Este grupo identificou uma expansão instável do triploto CAG (citosina-adenina-guanina), na região codificante (exão 1) do gene *HD* (do inglês '*Huntington's disease*', também designado gene *IT15* ou '*Interesting Transcript 15*'), que codifica a proteína huntingtina. A mutação resulta numa expansão de resíduos de glutamina localizados no terminal amínico da proteína huntingtina³. A proteína mutante é expressa de forma ubíqua, em todo o organismo, porém a morte celular surge em áreas específicas do cérebro, particularmente no estriado e no córtex¹. Por outro lado, a huntingtina mutante é expressa durante toda a vida, mas, na maioria dos casos, o aparecimento dos primeiros sintomas surge apenas na idade adulta, entre os 35 e 50 anos de idade. A doença progride ao longo do tempo e torna-se fatal 15 a 20 anos após o aparecimento dos primeiros sintomas².

Após um preâmbulo sobre as principais características neuropatológicas e clínicas da DH (*secção 3*), este artigo de revisão tem como objetivo avaliar os principais mecanismos de disfunção neuronal glutamatérgica e dopaminérgica na DH e a sua interação com as vias cortico- e nigro-estriatais, assim como os mecanismos de desregulação metabólica e mitocondrial que contribuem para morte neuronal seletiva na DH (*secção 4*). Os mecanismos fisiopatológicos descritos no presente artigo de revisão estão associados à disfunção de regiões não-estriatais (nomeadamente o córtex e a *substantia nigra*), desempenhando um papel crucial durante as fases iniciais da DH. Uma vez que estas regiões estabelecem contacto directo com o estriado (a região mais afetada na DH) através das vias cortico- e nigro-estriatal, acreditamos que o desen-

volvimento de estratégias terapêuticas que actuem a nível destas vias neurológicas poderá ter um impacto positivo no tratamento de pacientes com a DH.

MÉTODOS

Para a elaboração da presente revisão, foram analisados estudos que investigaram os principais aspectos que distinguem a DH relativamente às outras oito patologias do grupo das doenças de expansão de poliglutaminas, nomeadamente as manifestações clínicas, a neuropatologia e a genética desta patologia incurável. Para além disso, debruçamo-nos na recolha de informação sobre os processos de excitotoxicidade e toxicidade da dopamina, e suas respectivas consequências na disfunção neuronal das vias cortico-estriatal e nigro-estriatal a nível cerebral. De modo a descrever os mecanismos de morte celular seletiva na DH, a nível do estriado, explorámos a ocorrência de disfunção mitocondrial, metabólica e a produção de radicais livres subjacentes aos processos de morte celular por apoptose (ativação de caspases) e autofagia.

Para a localização dos artigos científicos, foi criada uma estratégia de busca na base de dados PubMed por meio de palavras-chave, onde se estabeleceu a relação entre doença de Huntington, inclusões intranucleares, huntingtina mutante, excitotoxicidade, toxicidade da dopamina, disfunção metabólica, disfunção mitocondrial e stresse oxidativo, morte celular por apoptose e autofagia.

RESULTADOS

Foram selecionados 10 artigos de revisão e 85 artigos originais, publicados em Inglês. Os artigos selecionados incluíram os artigos chave/iniciais sobre a DH, publicados nas décadas de 80 e 90, e artigos actuais, publicados entre o período de 2000-2008.

DISCUSSÃO

Principais características da doença de Huntington

Manifestações clínicas

Clinicamente, a DH caracteriza-se por coreia progressiva, declínio cognitivo e perturbações psiquiátricas. Os primeiros sinais da patologia são subtis. Numa fase precoce podem ser observadas alterações moderadas na execução dos movimentos, dificuldades na resolução de problemas, irritabilidade e depressão. As alterações mo-

toras, associadas à perda de coordenação dos movimentos voluntários, progridem de forma lenta. Os movimentos involuntários dos músculos tornam-se mais graves e os pacientes perdem gradualmente a capacidade para se moverem e, eventualmente, de comunicarem⁴⁻⁶. Os estádios mais avançados da doença são também caracterizados por bradicinésia (i.e., lentidão anormal dos movimentos voluntários) e rigidez severa, e por demência⁷⁻⁹. Os pacientes são regularmente avaliados com base na escala funcional UHDRS (do inglês, *Unified Huntington's Disease Rating Scale*), desenvolvida em 1996. A morte dos pacientes ocorre geralmente devido a complicações respiratórias infecciosas ou cardiovasculares¹⁰. Nos pacientes com formas juvenis da DH, a sintomatologia é consideravelmente diferente, sendo caracterizada por bradicinésia, tremores, rigidez e distonia, e a coreia pode mesmo estar ausente. As crianças afetadas pela DH podem também sofrer ataques epiléticos¹¹.

A maioria dos pacientes sofre também de caquexia (i.e., estado patológico caracterizado por extrema magreza e mau estar geral grave), com emaciação (i.e., emagrecimento muito acentuado) a nível muscular e perda de peso, que surgem de forma inexplicável apesar de um consumo calórico elevado^{12,13}. Alterações endócrinas têm sido também descritas em doentes de DH, incluindo um aumento dos níveis de corticosteróides^{14,15} e uma diminuição dos níveis de testosterona¹⁶. Para além disso, 10-25% dos pacientes de Huntington exibem diabetes mellitus^{17,18}.

As capacidades cognitivas são grandemente afetadas na DH. O declínio da capacidade intelectual é um dos primeiros sinais de défice cognitivo em pacientes de Huntington. Nalguns casos de DH, o défice das funções cognitivas pode ser detectado décadas antes do aparecimento dos sintomas motores. As alterações cognitivas tendem a piorar ao longo do tempo, e tal como referido anteriormente, os doentes de Huntington em fase tardia podem apresentar demência severa¹⁹. Por outro lado, um comportamento maníaco-depressivo¹⁹ e alterações de personalidade, tais como irritabilidade, apatia e distúrbios sexuais, fazem parte da síndrome psiquiátrica que caracteriza a DH²⁰.

Tendo em conta as características acima descritas, os critérios usados para o diagnóstico da DH incluem:

i) história familiar de DH; ii) défice motor progressivo associado a coreia ou rigidez sem outra causa definida; e iii) alterações psiquiátricas com demência progressiva, sem outra causa¹. Atualmente, os indivíduos que apresentam estes sintomas são submetidos ao teste genético, de forma a avaliar a presença da mutação associada à DH e confirmar o diagnóstico.

Neuropatologia

Neuropatologicamente, a DH caracteriza-se por uma atrofia gradual do estriado (núcleo caudado e putamen). A escala de avaliação dos diferentes estádios patológicos mais usada permite determinar a severidade da degeneração na DH e foi desenvolvida por Vonsattel et al. em 1985²¹. Esta escala baseia-se nos padrões de degeneração estriatal observados em tecido *post-mortem*. A DH é assim classificada em 5 graus (0 a 4), associados a diferentes graus de severidade neuropatológica. Existe uma correlação positiva entre o número de repetições CAG e a escala de Vonsattel. Assim, um maior número de repetições CAG está associada a uma maior lesão celular no estriado e a um grau mais elevado na escala de Vonsattel¹.

O grau de atrofia estriatal também se correlaciona com a degeneração de estruturas cerebrais não-estriatais. Por exemplo, nos graus 1 e 2 as estruturas não-estriatais encontram-se geralmente preservadas ou apresentam apenas uma atrofia ligeira, enquanto nos graus 3 e 4 o córtex cerebral (particularmente as camadas III, V e VI), o *globus pallidus*, tálamo, núcleo subtalâmico, *substantia nigra*, substância branca e cerebelo poderão também estar afetados¹. O hipotálamo também pode ser afetado em pacientes de DH²². Devido a uma atrofia cerebral generalizada observada nos casos mais severos da DH, o peso cerebral pode diminuir até 40%²³.

Os neurónios mais afetados no estriado são os neurónios espinhosos médios, que correspondem a cerca de 95% do número total de neurónios estriatais. Os neurónios estriatais recebem projecções axonais de neurónios dopaminérgicos que partem da *substantia nigra pars compacta* e de neurónios glutamatérgicos do córtex cerebral e tálamo. Por sua vez, os neurónios estriatais projetam para os núcleos dos gânglios da base^{24,25}.

Os neurónios espinhosos médios do estriado utilizam o neurotransmissor inibitório ácido gama-aminobu-

túrico ou GABA (do inglês ‘*γ-aminobutyric acid*’) e dinorfina, encefalina ou substância P como co-transmissores. A perda do efeito inibitório causada pela morte dos neurónios espinhosos médios do estriado tem sido directamente associada aos movimentos incontrolados característicos da DH²⁶. Contudo, na população de neurónios espinhosos do estriado observam-se diferentes graus de degeneração. De facto, nos estádios iniciais e intermédios da DH, os neurónios que expressam encefalina e projetam para o segmento externo do *globus pallidus* são mais susceptíveis do que os neurónios que contêm substância P e projetam para o segmento interno-palidal. Nos estádios mais avançados da patologia (grau 4) todos os sistemas neuronais são afetados²⁷⁻²⁹. Por outro lado, os interneurónios estriatais médios não-espinhosos [que contêm somatostatina, neuropeptídeo Y ou NADPH-diaforase (o mesmo que sintetase do óxido nítrico ou NOS)], os interneurónios colinérgicos e os neurónios GABAérgicos que contêm parvalbumina encontram-se relativamente preservados em cérebros dos pacientes de Huntington³⁰⁻³².

A DH também é caracterizada pela presença de inclusões neuronais intranucleares (NIIs, do inglês ‘*neuronal intranuclear inclusions*’)³³ e por agregados proteicos em neurites distróficas³⁴ nos neurónios estriatais e corticais. Curiosamente, a frequência de neurónios corticais que contêm NIIs aumenta drasticamente nos casos juvenis da DH³³, enquanto os agregados estriatais estão praticamente ausentes nestes pacientes³⁵, indicando uma dissociação entre a agregação da huntingtina e o padrão seletivo de neurodegeneração estriatal. Assim, o número de inclusões corticais parece correlacionar-se com a extensão da expansão de repetições CAG e a idade de início da doença³⁶. Para além disso, o aparecimento das NIIs precede a perda de peso cerebral, que por sua vez precede a perda de peso corporal e o aparecimento dos sintomas neurológicos¹.

A agregação da huntingtina mutante pode ser um dos factores desencadeadores de lesão celular na DH. Várias proteínas interagem de forma anormal com a huntingtina mutante e são recrutadas para os agregados proteicos, causando a desregulação de importantes vias intracelulares. Contudo, as inclusões de huntingtina mutante poderão apenas representar um efeito secundário da disfunção celular, podendo mesmo exercer um efeito

protector durante as fases iniciais da doença³⁵. De facto, é possível que as inclusões representem um meio da célula sequestrar fragmentos e oligómeros tóxicos de huntingtina mutante.

Genética

Como mencionado previamente, a mutação responsável pela DH é constituída por uma expansão contínua de repetições do triploto CAG, que se localiza perto do terminal 5’ do exão 1 (região codificante) do gene *HD*. Este gene contém 67 exões e está localizado no braço curto do cromossoma 4 (4p16.3), entre as regiões D4S127 e D4S180. Consequentemente, a huntingtina mutante apresenta uma cauda de resíduos de glutamina que se alinham de forma consecutiva no terminal amínico (NH₂-) da huntingtina, 17 aminoácidos após a metionina iniciadora³.

A patologia transmite-se de forma autossómica dominante. O alelo normal transmite-se de geração em geração segundo as regras de hereditariedade Mendeliana. O alelo mutante é instável durante a meiose, alterando o seu comprimento na maioria das transmissões intergeracionais, com um aumento de 1-4 unidades ou decréscimo de 1-2 unidades do triploto CAG. Em casos raros podem ocorrer expansões maiores associadas à transmissão paterna, o que reflete uma maior taxa de mutação durante a espermatogénese³.

Normalmente, indivíduos assintomáticos possuem menos de 35 repetições CAG. A DH é manifestada quando o número de repetições excede este limite. Alelos com 35 a 39 repetições CAG estão associados com as formas mais tardias da doença; porém, uma penetrância incompleta tem sido observada em certos casos que não apresentam sintomas ou sinais neuropatológicos. Alelos com 40 a 50 unidades dão origem à forma adulta da DH, enquanto repetições mais longas (normalmente associadas a alta instabilidade alélica durante a transmissão paternal) conduzem ao aparecimento dos primeiros sintomas muito precocemente, sendo responsáveis pelos casos juvenis e infantis, mais severos e raros³ (Tabela 1). Desta forma, o número de repetições CAG parece afectar a progressão da doença. O número de repetições CAG é também o principal determinante da idade em que se manifestam os primeiros sintomas, explicando cerca de 30-60% da variação

Tabela 1

Classificação do risco de transmissão da doença com base no número de repetições CAG

| Número de Repetições CAG | Risco de Transmissão para a Descendência | Manifestação da Doença |
|--------------------------|--|--|
| < 28 | Não há transmissão | Não há manifestação da doença |
| 28-35 | Intermediário (no caso da ocorrência de mutações que levam a um aumento do número de CAGs na descendência) | Não há manifestação da doença |
| 35-40 | Penetrância incompleta | Possibilidade de vir a manifestar a doença ou início mais tardio |
| 40-50 | Penetrância completa | A doença é manifestada na idade adulta |
| > 50 | Penetrância completa | A doença é manifestada precocemente (durante o período juvenil) |

nessa idade; a percentagem remanescente é atribuída a outras características genéticas e a factores ambientais³⁷.

Mecanismos de Neurodegeneração

Ao longo da progressão da DH, a disfunção intracelular induzida pela huntingtina mutante conduz à degeneração de vias neuronais importantes e à perda celular no estriado, no córtex cerebral e noutras regiões cerebrais (Figura 1). Apesar de não resultarem necessariamente de um efeito directo da proteína mutante, os mecanismos de excitotoxicidade, toxicidade dopaminérgica, desregulação metabólica, disfunção mitocondrial, stresse oxidativo, apoptose e autofagia têm sido implicados na patologia da DH. Muitos destes mecanismos desenvolvem-se lentamente, tornando-se mais evidentes em fases mais tardias da doença. Estes mecanismos podem mesmo ocorrer em paralelo, promovendo-se mutuamente e culminando na morte neuronal.

Disfunção Cortico-estriatal e Excitotoxicidade

O estriado recebe *input* excitatório glutamatérgico de todo o córtex cerebral. A maioria dos neurónios GABAérgicos apresenta uma expressão elevada do receptor do glutamato do tipo *N*-metil-D-aspartato (NMDA)³⁸, bem como do receptor metabotrópico do glutamato mGluR5, o qual potencia as respostas dos receptores NMDA, contribuindo para o processo excitotóxico³⁹.

Após a activação crónica dos receptores NMDA, a concentração intracelular de Ca²⁺ aumenta, podendo conduzir à disfunção mitocondrial e à produção de espécies reactivas de oxigénio (ROS, do inglês '*reactive oxygen*

species') e de nitrogénio (RNS, do inglês '*reactive nitrogen species*'), à activação de proteases dependentes de Ca²⁺ (calpaínas), e à indução do processo apoptótico⁴⁰. Estes eventos contribuem para a neurodegeneração progressiva observada no estriado dos doentes de Huntington. De facto, foi recentemente demonstrado que a remoção cirúrgica do córtex, e a consequente diminuição dos níveis de glutamato no estriado, prolonga o tempo de vida e melhora alguns distúrbios comportamentais, bem como algumas características neuropatológicas de ratinhos transgénicos para a DH⁴¹. Por outro lado, em cérebros de doentes de Huntington observou-se uma degeneração do córtex sensorial e motor numa fase precoce da doença^{42,43}, sugerindo que uma disfunção cortical contribui para o desenvolvimento da doença no ser humano.

Disfunção Nigro-estriatal e a Toxicidade da Dopamina

O estriado recebe *input* dopaminérgico da *substantia nigra pars compacta*. Vários estudos demonstraram a degeneração de projecções nigro-estriatais⁴⁴⁻⁴⁶, uma atrofia dos neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra*^{47,48} e uma redução acentuada da população neuronal dopaminérgica no estriado de cérebros de doentes com DH⁴⁹. Agregados de huntingtina mutante também foram encontrados nesta região cerebral⁵⁰. Para além disso, uma diminuição de tirosina hidroxilase (a enzima limitante da biossíntese da dopamina)⁴⁸ e um decréscimo da expressão do transportador de dopamina (DAT, do inglês '*dopamine transporter*') e dos receptores da dopamina D1 e D2 ocorre nos cérebros de doentes de Huntington^{45,51} e em ratinhos transgénicos para a DH⁵². Em resumo, alterações

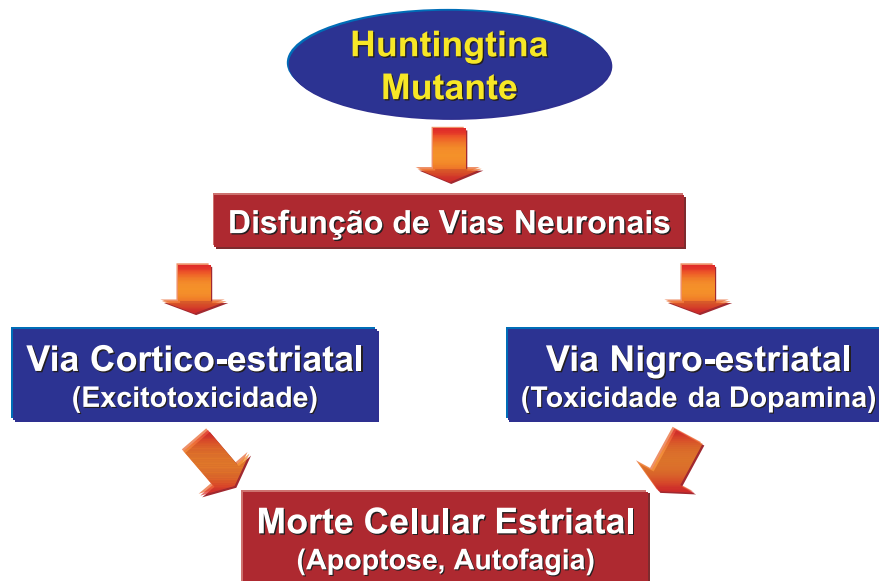


Figura 1. Degeneração progressiva de importantes circuitos neuronais na doença de Huntington.

A disfunção das vias cortico-estriatal e nigro-estriatal pode ter consequências devastadoras a nível da função do estriado. Assim, a excitotoxicidade causada por uma desregulação da transmissão cortical glutamatérgica e a desregulação da transmissão dopaminérgica da *substantia nigra* podem activar uma cascata de eventos que contribuem para a morte dos neurónios estriatais.

a nível pré- e pós-sináptico podem contribuir para a disfunção da via nigro-estriatal na DH, contribuindo para os défices motores e cognitivos que surgem nesta doença. De facto, a perda de marcadores pré- e pós-sinápticos da neurotransmissão dopaminérgica correlaciona-se com o desempenho cognitivo em portadores assintomáticos e sintomáticos da DH⁵³. Por outro lado, os estadios mais avançados da doença são normalmente caracterizados por bradicinésia e rigidez, dois sintomas que podem ser causados directamente por uma perda progressiva dos receptores dopaminérgicos no estriado.

Paralelamente, a dopamina pode constituir uma fonte de ROS após metabolização pela enzima monoamino oxidase e/ou através de um processo não-enzimático que origina quinonas de dopamina e peróxido de hidrogénio, podendo ainda formar-se o radical hidroxilo (HO[•]), o qual é extremamente reactivo⁵⁴.

Disfunção Metabólica e Mitocondrial & Stresse Oxidativo

Estudos realizados em pacientes de Huntington e em tecido *post-mortem* destes doentes permitiram evidenciar alterações metabólicas e mitocondriais, nomeadamente: **(1)** Uma diminuição significativa da captação de glucose no córtex e no estriado de indivíduos assintomá-

ticos e sintomáticos, portadores da mutação para a DH⁵⁵⁻⁶⁰; **(2)** Uma diminuição significativa da actividade da aconitase no estriado e no córtex cerebral⁶¹, um indicador indirecto da formação de ROS; **(3)** Um decréscimo das actividades dos complexos mitocondriais II-III⁶²⁻⁶⁷ e IV no estriado (caudado e putamen)^{66,67}; **(4)** Um aumento da concentração de lactato no estriado e córtex cerebral, e um aumento da razão lactato/piruvato no líquido céfalo-raquidiano⁶⁸; **(5)** Um decréscimo da razão fosfocreatina/fosfato inorgânico no músculo esquelético⁶⁹ e um atraso na recuperação dos níveis de fosfocreatina após exercício físico (uma medida directa da síntese de ATP) em pacientes com DH e portadores (assintomáticos) da mutação da DH⁷⁰; **(6)** Um decréscimo da formação de ATP mitocondrial^{71,72}; **(7)** Alterações morfológicas e um decréscimo do potencial mitocondrial em linfoblastos derivados de pacientes de Huntington heterozigóticos^{73,74} e homozigóticos⁷⁴; e **(8)** Uma diminuição do DNA mitocondrial (mtDNA) em leucócitos de doentes de Huntington⁷⁵.

O stresse oxidativo exerce também um papel crucial no processo neurodegenerativo associado à DH. De facto, a disfunção mitocondrial, a activação da isoforma neuronal da NOS (nNOS) mediada por estímulos excitotóxicos e o metabolismo da dopamina podem resultar na formação de ROS e RNS. De acordo com esta hipó-

tese, vários estudos demonstraram uma alteração da expressão e actividade da NOS⁷⁶⁻⁷⁸, da enzima antioxidante superóxido dismutase⁷⁹ e de ascorbato⁸⁰ em ratinhos transgênicos para a DH.

Finalmente, várias evidências sugerem que o processo de envelhecimento está associado com uma incapacidade dos neurónios lidarem eficazmente com a formação basal de ROS⁸¹. Assim, o processo natural de envelhecimento poderá potenciar a toxicidade da huntingtina mutante através do agravamento da lesão oxidativa neuronal.

Morte Celular – Apoptose & Autofagia

A huntingtina mutante é um substrato de enzimas proteolíticas, nomeadamente de caspases e calpaínas. Para além disso, a actividade das calpaínas⁸², caspase-1⁸³, e caspase-8⁸⁴ encontra-se aumentada em cérebros de DH. Apesar de ser ainda controverso a ocorrência de um processo puramente apoptótico na morte celular associada à DH, a activação de determinadas vias apoptóticas poderá contribuir para esta patologia⁸⁵. As mitocôndrias desempenham um papel central durante o processo de activação de caspases e da apoptose. Fragmentos da huntingtina mutante podem induzir de forma directa a abertura do poro de permeabilidade transitória mitocondrial (MPTP, do inglês '*mitochondrial permeability transition pore*'), conduzindo à libertação de citocromo c⁸⁶. Uma vez no citosol, o citocromo c medeia a activação de caspases, que, por sua vez, podem clivar a huntingtina mutante e promover desta forma a sua translocação para o núcleo. Curiosamente, o núcleo é o local privilegiado para a clivagem da huntingtina no resíduo de aminoácido 586 pela caspase-6, enquanto a clivagem pelas caspases 2/3 gera fragmentos que se acumulam particularmente na região perinuclear⁸⁷. Estes dados corroboram a importância da proteólise da huntingtina mutante mediada pela caspase-6 nos processos de disfunção neuronal e neurodegeneração⁸⁸.

Algumas evidências sugerem ainda que a autofagia pode mediar a morte celular na DH. Cérebros de DH apresentam características reminiscentes do processo autofágico, tais como a acumulação de lipofuscina, organelos endossomais/lisossomais, e corpos multivesiculares^{34,89,90}. Vários estudos demonstraram também que

a expressão de huntingtina mutante induz a actividade endossomal/lisossomal⁹¹. Este evento pode conduzir a autofagia, promovendo a degradação da huntingtina e a remoção dos agregados proteicos⁹²⁻⁹⁴. Desta forma, o processo autofágico poderá representar uma tentativa inicial das células eliminarem a proteína mutada que, ao longo da progressão da doença, se torna disfuncional, eventualmente resultando na acumulação e agregação da proteína mutada e na degradação celular.

CONCLUSÃO

Durante as últimas décadas, a DH tem recebido bastante atenção por parte da comunidade científica, particularmente após a identificação do gene e da mutação responsáveis pela doença e da subsequente produção de vários modelos genéticos para a DH. Apesar dos mecanismos responsáveis pela neurodegeneração observada na DH não se encontrarem completamente esclarecidos, estudos recentes sugerem que a disfunção mitocondrial e metabólica, o stresse oxidativo, a apoptose e a alteração do processo autofágico desempenham um papel crucial na disfunção e morte neuronais na DH. Esta disfunção neuronal tem como resultado a disfunção dos circuitos cortico-estriatais e nigro-estriatais, levando assim à neurodegeneração progressiva do estriado e ao desenvolvimento dos défices motores característicos desta doença neurodegenerativa. Desta forma, a disfunção neuronal precoce induzida pela huntingtina mutante em regiões não-estriatais (nomeadamente o córtex e a *substantia nigra*) poderá desempenhar um papel crucial durante as fases iniciais da DH.

Existem atualmente mais de 3000 publicações científicas sobre a eficácia de inúmeras estratégias terapêuticas no tratamento da DH. No entanto, ainda não existe um tratamento satisfatório para esta doença devastadora. Acreditamos que a complexidade dos múltiplos mecanismos que levam à neurodegeneração observada na DH contribuem para esta falta de sucesso na busca de um tratamento eficaz, uma vez que a grande maioria das estratégias terapêuticas que têm vindo a ser testadas tem um mecanismo de acção restrito. Deste modo, e com base na literatura discutida no presente artigo de revisão, acreditamos que de modo a criar uma estratégia terapêutica eficaz, será necessário atuar simultaneamente ao nível dos

vários mecanismos discutidos acima (disfunção mitocondrial e metabólica, stresse oxidativo, apoptose e autofagia). Para além disso, as estratégias terapêuticas com uma ação neuroprotetora ao nível das vias cortico-estriatal e nigro-estriatal terão relevância clínica, pois atuarão durante uma fase precoce da doença, ajudando a prevenir a neurodegeneração do estriado (e consequentemente o desenvolvimento dos sintomas motores da doença). Desse modo, um conhecimento mais profundo dos mecanismos de neurodegeneração envolvidos na patofisiologia da DH permitirá desenvolver uma combinação de estratégias terapêuticas eficaz no tratamento desta doença genética neurodegenerativa.

AGRADECIMENTOS

J.M.G.-M. agradece o financiamento do pós-doutoramento pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), Portugal, e pelo *Natural Sciences and Engineering Research Council* no Canada (NSERC). A.C.R. agradece o financiamento dos projetos de investigação pela FCT, referências PTDC/SAU-FCF/66421/2006 e PTDC/SAU-FCF/108056/2008.

REFERÊNCIAS

- Vonsattel JP, DiFiglia M. Huntington disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998;57:369-84.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005072-199805000-00001>
- Ho LW, Carmichael J, Swart J, Wyttenbach A, Rankin J, Rubinsztein DC. The molecular biology of Huntington's disease. *Psychol Med* 2001;31:3-14.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0033291799002871>
- 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;72:971-83.
- Brandt J, Strauss ME, Larus J, Jensen B, Folstein SE, Folstein MF. Clinical correlates of dementia and disability in Huntington's disease. *J Clin Neuropsychol* 1984;6:401-12.
<http://dx.doi.org/10.1080/01688638408401231>
- Folstein SE, Chase GA, Wahl WE, McDonnell AM, Folstein MF. Huntington disease in Maryland: clinical aspects of racial variation. *Am J Hum Genet* 1987;41:168-79.
- Penney JBJ, Young AB, Shoulson I, Starosta-Rubenstein S, Snodgrass SR, Sanchez-Ramos J, et al. Huntington's disease in Venezuela: 7 years of follow-up on symptomatic and asymptomatic individuals. *Mov Disord* 1990;5:93-9.
<http://dx.doi.org/10.1002/mds.870050202>
- García-Ruiz PJ, Gomez Tortosa E, Sanchez Bernados V, Rojo A, Fontán A, García de Yébenes J. Bradykinesia in Huntington's disease. *Clin Neuropharmacol* 2000;23:50-2.
- Sánchez-Pernaute R, Küinig G, del Barrio Alba A, de Yébenes JG, Vontobel P, Leenders KL. Bradykinesia in early Huntington's disease. *Neurology* 2000;54:119-25.
- Thompson PD, Berardelli A, Rothwell JC, Day BL, Dick JP, Benecke R, et al. The coexistence of bradykinesia and chorea in Huntington's disease and its implications for theories of basal ganglia control of movement. *Brain* 1988;111:223-44.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/111.2.223>
- Chiu E, Alexander L. Causes of death in Huntington's disease. *Med J Aust* 1982;1:153.
- van Dijk, JG, van der Velde EA, Roos RA, Bruyn GW. Juvenile Huntington disease. *Hum. Genet* 1986;73:235-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00401235>
- Sanberg PR, Fibiger HC, Mark RF. Body weight and dietary factors in Huntington's disease patients compared with matched controls. *Med J Aust* 1981;1:407-9.
- Djousse L, Knowlton B, Cupples LA, Marder K, Shoulson I, Myers RH. Weight loss in early stage of Huntington's disease. *Neurology* 2002;59:1325-30.
- Heuser IJ, Chase TN, Mouradian MM. The limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis in Huntington's disease. *Biol Psychiatry* 1991;30:943-52.
[http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223\(91\)90007-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223(91)90007-9)
- Björkqvist M, Petersén Å, Bacos K, Isaacs J, Norlén P, Gil J, et al. Progressive alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the R6/2 transgenic mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 2006;15:1713-21.
- Markianos M, Panas M, Kalfakis N, Vassilopoulos D. Plasma testosterone in male patients with Huntington's disease: relations to severity of illness and dementia. *Ann Neurol* 2005;57:520-5.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.20428>
- Podolsky S, Leopold NA, Sax DS. Increased frequency of diabetes mellitus in patients with Huntington's chorea. *Lancet* 1972;1:1356-8.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(72\)91092-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(72)91092-6)
- Farrer LA. Diabetes mellitus in Huntington disease. *Clin Genet* 1985;27:162-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.1985.tb00185.x>
- Folstein S, Abbott MH, Chase GA, Jensen BA, Folstein MF. The association of affective disorder with Huntington's disease in a case series and in families. *Psychol Med* 1983;13:537-42.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0033291700047966>
- Dewhurst K, Oliver JE, McKnight AL. Socio-psychiatric consequences of Huntington's disease. *Br J Psychiatry* 1970;116:255-8.
<http://dx.doi.org/10.1192/bjp.116.532.255>
- Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP Jr. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985;44:559-77.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005072-198511000-00003>
- Kassubek J, Gaus W, Landwehrmeyer GB. Evidence for more widespread cerebral pathology in early HD: an MRI-based morphometric analysis. *Neurology* 2004;62:523-4.
- Gusella JF. Huntington Disease. Online library. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2001, doi: 10.1038/ngp.els.0000147.
- Albin RL, Young AB, Penney JB. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 1989;12:366-75.
[http://dx.doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90074-X](http://dx.doi.org/10.1016/0166-2236(89)90074-X)
- Joel D, Weiner I. The connections of the primate subthalamic nucleus: indirect pathways and the open-interconnected scheme of basal ganglia-thalamocortical circuitry. *Brain Res Brain Res Rev* 1997;23:62-78.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0165-0173\(96\)00018-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-0173(96)00018-5)

26. Joel D. Open interconnected model of basal ganglia-thalamocortical circuitry and its relevance to the clinical syndrome of Huntington's disease. *Mov Disord* 2001;16:407-23.
<http://dx.doi.org/10.1002/mds.1096>
27. Albin RL, Reiner A, Anderson KD, Dure LS 4th, Handelin B, Balfour R, et al. Preferential loss of striato-external pallidal projection neurons in presymptomatic Huntington's disease. *Ann Neurol* 1992;31:425-30.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410310412>
28. Deng YP, Albin RL, Penney JB, Young AB, Anderson KD, Reiner A. Differential loss of striatal projection systems in Huntington's disease: a quantitative immunohistochemical study. *J Chem Neuroanat* 2004;27:143-64.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jchemneu.2004.02.005>
29. Reiner A, Albin RL, Anderson KD, D'Amato CJ, Penney JB, Young AB. Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:5733-7.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.85.15.5733>
30. Ferrante RJ, Kowall NW, Beal MF, Richardson EP Jr, Bird ED, Martin JB. Selective sparing of a class of striatal neurons in Huntington's disease. *Science* 1985;230:561-3.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.2931802>
31. Ferrante RJ, Beal MF, Kowall NW, Richardson EP Jr, Martin JB. Sparing of acetylcholinesterase-containing striatal neurons in Huntington's disease. *Brain Res* 1987;411:162-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)90694-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(87)90694-9)
32. Ferrante RJ, Gutekunst CA, Persichetti F, McNeil SM, Kowall NW, Gusella JF, et al. Heterogeneous topographic and cellular distribution of huntingtin expression in the normal human neostriatum. *J Neurosci* 1997;17:3052-63.
33. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 1997;277:1990-3.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.277.5334.1990>
34. Sapp E, Penney J, Young A, Aronin N, Vonsattel JP, DiFiglia M. Axonal transport of N-terminal huntingtin suggests early pathology of corticostriatal projections in Huntington disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999;58:165-73.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005072-199902000-00006>
35. Kuemmerle S, Gutekunst CA, Klein AM, Li XJ, Li SH, Beal MF, et al. Huntington aggregates may not predict neuronal death in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1999;46:842-9.
[http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249\(199912\)46:6<842::AID-ANA6>3.3.CO;2-F](http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249(199912)46:6<842::AID-ANA6>3.3.CO;2-F)
36. Becher MW, Kotzok JA, Sharp AH, Davies SW, Bates GP, Price DL, et al. Intranuclear neuronal inclusions in Huntington's disease and dentatorubral and pallidolusian atrophy: correlation between the density of inclusions and IT15 CAG triplet repeat length. *Neurobiol Dis* 1998;4:387-97.
<http://dx.doi.org/10.1006/nbdi.1998.0168>
37. Wexler NS, Lorimer J, Porter J, Gomez F, Moskowitz C, Shackell E, et al. Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:3498-503.
38. Sieradzan KA, Mann DM. The selective vulnerability of nerve cells in Huntington's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2001;27:1-21.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.0305-1846.2001.00299.x>
39. Tang TS, Tu H, Chan EY, Maximov A, Wang Z, Wellington CL, et al. Huntingtin and huntingtin-associated protein 1 influence neuronal calcium signaling mediated by inositol-(1,4,5) triphosphate receptor type 1. *Neuron* 2003;39:227-39.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00366-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00366-0)
40. Rego AC, Oliveira CR. Mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species in excitotoxicity and apoptosis: implications for the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Neurochem Res* 2003;28:1563-74.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1025682611389>
41. Stack EC, Dedeoglu A, Smith KM, Cormier K, Kubilus JK, Bogdanov M, et al. Neuroprotective effects of synaptic modulation in Huntington's disease R6/2 mice. *J Neurosci* 2007;27:12908-15.
<http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4318-07.2007>
42. Rosas HD, Liu AK, Hersch S, Glessner M, Ferrante RJ, Salat DH, et al. Regional and progressive thinning of the cortical ribbon in Huntington's disease. *Neurology* 2002;58:695-701.
43. Rosas HD, Hevelone ND, Zaleta AK, Greve DN, Salat DH, Fischl B. Regional cortical thinning in preclinical Huntington disease and its relationship to cognition. *Neurology* 2005;65:745-7.
<http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000174432.87383.87>
44. Ferrante RJ, Kowall NW. Tyrosine hydroxylase-like immunoreactivity is distributed in the matrix compartment of normal human and Huntington's disease striatum. *Brain Res* 1987;416:141-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)91506-X](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(87)91506-X)
45. Ginovart N, Lundin A, Farde L, Halldin C, Backman L, Swahn CG, et al. PET study of the pre- and post-synaptic dopaminergic markers for the neurodegenerative process in Huntington's disease. *Brain* 1997;120:503-14.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/120.3.503>
46. Bohnen NI, Koeppe RA, Meyer P, Fieco E, Wernette K, Kilbourn MR, et al. Decreased striatal monoaminergic terminals in Huntington disease. *Neurology* 2000;54:1753-9.
47. Oyanagi K, Takeda S, Takahashi H, Ohama E, Ikuta F. A quantitative investigation of the substantia nigra in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1989;26:13-19.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410260103>
48. Yohrling GJ 4th, Jiang GC, DeJohn MM, Miller DW, Young AB, Vrana KE, et al. Analysis of cellular, transgenic and human models of Huntington's disease reveals tyrosine hydroxylase alterations and substantia nigra neuropathology. *Brain Res Mol Brain Res* 2003;119:28-36.
49. Huot P, Lévesque M, Parent A. The fate of striatal dopaminergic neurons in Parkinson's disease and Huntington's chorea. *Brain* 2007;130:222-32.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/awl332>
50. Gutekunst CA, Li SH, Yi H, Mulroy JS, Kuemmerle S, Jones R, et al. Nuclear and neuropil aggregates in Huntington's disease: relationship to neuropathology. *J Neurosci* 1999;19:2522-34.
51. Augood SJ, Faull RL, Emson PC. Dopamine D1 and D2 receptor gene expression in the striatum in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1997;42:215-21.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410420213>
52. Cha JH, Kosinski CM, Kerner JA, Alsdorf SA, Mangiarini L, Davies SW, et al. Altered brain neurotransmitter receptors in transgenic mice expressing a portion of an abnormal human huntington disease gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:6480-5.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.95.11.6480>
53. Bäckman L, Farde L. Dopamine and cognitive functioning: brain imaging findings in Huntington's disease and normal aging. *Scand J Psychol* 2001;42:287-96.
54. Sulzer D, Zecca L. Intra-neuronal dopamine-quinone synthesis: a review. *Neurotox Res* 2000;1:181-95.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF03033289>
55. Kuhl DE, Phelps ME, Markham CH, Metter EJ, Riege WH, Winter J. Cerebral metabolism and atrophy in Huntington's disease determined by 18FDG and computed tomographic scan. *Ann Neurol* 1982;12:425-34.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410120504>
56. Garnett ES, Firnau G, Nahmias C, Carbotte R, Bartolucci G. Reduced

- striatal glucose consumption and prolonged reaction time are early features in Huntington's disease. *J Neurol Sci* 1984;65:231-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-510X\(84\)90087-X](http://dx.doi.org/10.1016/0022-510X(84)90087-X)
57. Mazziotta JC, Phelps ME, Pahl JJ, Huang SC, Baxter LR, Riege WH, et al. Reduced cerebral glucose metabolism in asymptomatic subjects at risk for Huntington's disease. *N Engl J Med* 1987;316:357-62.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198702123160701>
58. Kuwert T, Lange HW, Langen KJ, Herzog H, Aulich A, Feinendegen LE. Cortical and subcortical glucose consumption measured by PET in patients with Huntington's disease. *Brain* 1990;113:1405-23.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/113.5.1405>
59. Kuwert T, Lange HW, Boecker H, Titz H, Herzog H, Aulich A, et al. Striatal glucose consumption in chorea-free subjects at risk of Huntington's disease. *J Neurol* 1993;241:31-6.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00870669>
60. Ciarmiello A, Cannella M, Lastoria S, Simonelli M, Frati L, Rubinsztein DC, et al. Brain white-matter volume loss and glucose hypometabolism precede the clinical symptoms of Huntington's disease. *J Nucl Med* 2006;47:215-22.
61. Tabrizi SJ, Cleeter MW, Xuereb J, Taanman JW, Cooper JM, Schapira AH. Biochemical abnormalities and excitotoxicity in Huntington's disease brain. *Ann Neurol* 1999;45:25-32.
[http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249\(199901\)45:1<25::AID-ART6>3.0.CO;2-E](http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249(199901)45:1<25::AID-ART6>3.0.CO;2-E)
62. Stahl WL, Swanson PH. Biochemical abnormalities in Huntington's chorea brains. *Neurology* 1974;24:813-9.
63. Brennan WAJ, Bird ED, Aprille JR. Regional mitochondrial respiratory activity in Huntington's disease brain. *J Neurochem* 1985;44:1948-50.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.1985.tb07192.x>
64. Butterworth J, Yates CM, Reynolds GP. Distribution of phosphate-activated glutaminase, succinic dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase and gamma-glutamyl transpeptidase in post-mortem brain from Huntington's disease and agonal cases. *J Neurol Sci* 1985;67:161-71.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-510X\(85\)90112-1](http://dx.doi.org/10.1016/0022-510X(85)90112-1)
65. Mann VM, Cooper JM, Javoy-Agid F, Agid Y, Jenner P, Schapira AH. Mitochondrial function and parental sex effect in Huntington's disease. *Lancet* 1990;336:749.
[http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)92242-A](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(90)92242-A)
66. 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.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410390317>
67. Browne SE, Bowling AC, MacGarvey U, Baik MJ, Berger SC, Muqit MM, et al. Oxidative damage and metabolic dysfunction in Huntington's disease: selective vulnerability of the basal ganglia. *Ann Neurol* 1997;41:646-53.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410410514>
68. Koroshetz WJ, Jenkins BG, Rosen BR, Beal MF. Energy metabolism defects in Huntington's disease and effects of coenzyme Q10. *Ann Neurol* 1997;41:160-5.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410410206>
69. Lodi R, Schapira AH, Manners D, Styles P, Wood NW, Taylor DJ, et al. Abnormal in vivo skeletal muscle energy metabolism in Huntington's disease and dentatorubropallidolysian atrophy. *Ann Neurol* 2000;48:72-6.
[http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249\(200007\)48:1<72::AID-ANA11>3.0.CO;2-I](http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249(200007)48:1<72::AID-ANA11>3.0.CO;2-I)
70. Saft C, Zange J, Andrich J, Müller K, Lindenberg K, Landwehrmeyer B, et al. Mitochondrial impairment in patients and asymptomatic mutation carriers of Huntington's disease. *Mov Disord* 2005;20:674-9.
<http://dx.doi.org/10.1002/mds.20373>
71. Milakovic T, Johnson GV. Mitochondrial respiration and ATP production are significantly impaired in striatal cells expressing mutant huntingtin. *J Biol Chem* 2005;280:30773-82.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M504749200>
72. Seong IS, Ivanova E, Lee JM, Choo YS, Fossale E, Anderson M, et al. HD CAG repeat implicates a dominant property of huntingtin in mitochondrial energy metabolism. *Hum Mol Genet* 2005;14:2871-80.
<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddi319>
73. Panov AV, Gutekunst CA, Leavitt BR, Hayden MR, Burke JR, Strittmatter WJ, et al. Early mitochondrial calcium defects in Huntington's disease are a direct effect of polyglutamines. *Nat Neurosci* 2002;5:731-6.
74. Squitieri F, Cannella M, Sgarbi G, Maglione V, Falleni A, Lenzi P, et al. Severe ultrastructural mitochondrial changes in lymphoblasts homozygous for Huntington disease mutation. *Mech Ageing Dev* 2006;127:217-20.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2005.09.010>
75. Liu CS, Cheng WL, Kuo SJ, Li JY, Soong BW, Wei YH. Depletion of mitochondrial DNA in leukocytes of patients with poly-Q diseases. *J Neurol Sci* 2008;264:18-21.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2007.07.016>
76. Tabrizi SJ, Workman J, Hart PE, Mangiarini L, Mahal A, Bates G, et al. Mitochondrial dysfunction and free radical damage in the Huntington R6/2 transgenic mouse. *Ann Neurol* 2000;47:80-6.
[http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249\(200001\)47:1<80::AID-ANA13>3.0.CO;2-K](http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249(200001)47:1<80::AID-ANA13>3.0.CO;2-K)
[http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249\(200001\)47:1<80::AID-ANA13>3.3.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/1531-8249(200001)47:1<80::AID-ANA13>3.3.CO;2-B)
77. Deckel AW, Gordinier A, Nuttal D, Tang V, Kuwada C, Freitas R, et al. Reduced activity and protein expression of NOS in R6/2 HD transgenic mice: effects of L-NAME on symptom progression. *Brain Res* 2001;919:70-81.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03000-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03000-1)
78. Perez-Severiano F, Escalante B, Vergara P, Rios C, Segovia J. Age-dependent changes in nitric oxide synthase activity and protein expression in striata of mice transgenic for the Huntington's disease mutation. *Brain Res* 2002;951:36-42.
79. Santamaria A, Perez-Severiano F, Rodriguez-Martinez E, Maldonado PD, Pedraza-Chaverri J, Rios C, et al. Comparative analysis of superoxide dismutase activity between acute pharmacological models and a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurochem Res* 2001;26:419-24.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1010911417383>
80. Rebec GV, Barton SJ, Ennis MD. Dysregulation of ascorbate release in the striatum of behaving mice expressing the Huntington's disease gene. *J Neurosci* 2002;22:RC202.
81. Lu T, Pan Y, Kao SY, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 2004;429:883-91.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature02661>
82. Gafni J, Ellerby LM. Calpain activation in Huntington's disease. *J Neurosci* 2002;22:4842-9.
83. Ona VO, Li M, Vonsattel JP, Andrews LJ, Khan SQ, Chung WM, et al. Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature* 1999;399:263-7.
<http://dx.doi.org/10.1038/20446>
84. Sanchez I, Xu CJ, Juo P, Kakizaka A, Blenis J, Yuan J. Caspase-8 is required for cell death induced by expanded polyglutamine repeats. *Neuron* 1999;22:623-33.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80716-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80716-3)
85. Hickey MA, Chesselet MF. Apoptosis in Huntington's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27:255-65.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0278-5846\(03\)00021-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00021-6)
86. Choo YS, Johnson GV, MacDonald M, Detloff PJ, Lesort M. Mutant

huntingtin directly increases susceptibility of mitochondria to the calcium-induced permeability transition and cytochrome c release. *Hum Mol Genet* 2004;13:1407-20.

<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddh162>

87. Warby SC, Doty CN, Graham RK, Carroll JB, Yang YZ, Singaraja RR, et al. Activated caspase-6 and caspase-6-cleaved fragments of huntingtin specifically colocalize in the nucleus. *Hum Mol Genet* 2008;17:2390-404.

<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddn139>

88. Graham RK, Deng Y, Slow EJ, Haigh B, Bissada N, Lu G, et al. Cleavage at the caspase-6 site is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant huntingtin. *Cell* 2006;125:1179-91.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.04.026>

89. Tellez-Nagel I, Johnson AB, Terry RD. Studies on brain biopsies of patients with Huntington's chorea. *J Neuropathol Exp Neurol* 1974;33:308-32.

<http://dx.doi.org/10.1097/00005072-197404000-00008>

90. Roizin L, Stellar S, Liu LC. Neuronal nuclear-cytoplasmic changes in Huntington's chorea: Electron microscope investigations. *Adv Neurol*

1979;23:93-122.

91. Kegel KB, Kim M, Sapp E, McIntyre C, Castano JG, Aronin N, et al. Huntingtin expression stimulates endosomal-lysosomal activity, endosome tubulation, and autophagy. *J Neurosci* 2000;20:7268-78.

92. Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy. *Hum Mol Genet* 2002;11:1107-17.

<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/11.9.1107>

93. Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004;36:585-95.

<http://dx.doi.org/10.1038/ng1362>

94. Qin ZH, Wang Y, Kegel KB, Kazantsev A, Apostol BL, Thompson LM, et al. Autophagy regulates the processing of amino terminal huntingtin fragments. *Hum Mol Genet* 2003;12:3231-44.

<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddg346>