

# ENCEFALOMIOPATIAS MITOCONDRIAS

RITA ALMEIDA, ARMANDO SENA, MANUEL GONÇALVES

Serviço de Neurologia. Hospital de St.º António dos Capuchos. Departamento de Bioquímica. Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa. Lisboa.

## RESUMO

As Encefalomiopatias Mitocondriais são doenças primárias do metabolismo energético recentemente descritas. Resultam duma anomalia mitocondrial que se traduz, em termos práticos, por um quadro clínico de tipo variado, resultando de um compromisso multissistémico, no qual o envolvimento muscular e cerebral é predominante. São descritas as alterações bioquímicas, histológicas e imagiológicas, bem como os quadros clínicos das três principais síndromas neurológicas: Epilepsia Mioclónica e Fibras Vermelhas Rasgadas (MERRF), Encefalomiopatia Mitocondrial, Acidose Láctica e episódios tipo AVC (MELAS) e a Síndrome de Kearns-Sayre (KSS). São igualmente analisados os princípios da genética mitocondrial e o tipo de transmissão tão particular deste grupo heterogéneo de doenças: a hereditariedade materna.

## SUMMARY

### Mitochondrial Encephalomyopathies

Mitochondrial Encephalomyopathies are primary disorders of energy metabolism recently described. They are the result of mitochondrial abnormalities with a wide spectrum of syndromes implying a multisystemic but predominantly muscular and cerebral involvement. Biochemical, histological, imagiologic and clinical features of the three well known mitochondrial syndromes (MERRF, MELAS and KSS) are described, as well as the mitochondrial genetics and maternal inheritance pattern.

## INTRODUÇÃO

As Encefalomiopatias Mitocondriais são doenças primárias do metabolismo energético, recentemente descritas. Resultam duma anomalia mitocondrial que se traduz por um quadro clínico de tipo variado, resultando de um compromisso multissistémico, no qual o envolvimento muscular e cerebral é predominante<sup>1,2</sup>. Começaremos por abordar o conceito de metabolismo energético e a sua relação com a mitocôndria, para posteriormente descrevermos as principais síndromas neurológicas associadas a este tipo de patologia, bem como a sua forma particular de transmissão: a hereditariedade de tipo materno.

### O METABOLISMO ENERGÉTICO E A MITOCONDRIA

O metabolismo energético (fosforilação oxidativa) é, em termos gerais, o conjunto das vias pelas quais a glicose (entre outros substratos) é oxidada e o ATP produzido<sup>1</sup>.

Poder-se-á dizer que o ATP é a principal moeda energética, e o Sistema Nervoso apresenta uma dependência estrita da fosforilação oxidativa da glicose para a manutenção da sua estrutura e função.

A oxidação da glicose pode ser efectuada através de 2 vias: a aeróbia e a anaeróbia<sup>1,3</sup>. A via anaeróbia é predominantemente utilizada durante a realização de um esforço físico breve e intenso, no qual o glicogénio muscular dá origem ao lactato e apenas a 3 moléculas de ATP<sup>4,5</sup>. A via aeróbia é, sem dúvida, a mais importante, tendo em conta a sua rentabilidade em termos energéticos (38 moléculas de ATP/molécula de glicose), sendo utilizada, por exemplo, durante a realização dum esforço físico moderadamente intenso mas mantido.

O Sistema Nervoso Central, representando apenas 2% do peso corporal, consome cerca de 20 % do total de O<sub>2</sub> disponível para o metabolismo celular. Assim, O<sub>2</sub> e glicose são ambos substratos vitais para o bom funcionamento energético deste sistema.

É na mitocôndria que decorre a oxidação aeróbia da glicose, dos ácidos gordos não-esterificados e dos corpos cetónicos (acetoacetato e 3-hidroxi-butírico). As mitocôndrias são organelos citoplasmáticos, existindo em número variável por célula (várias centenas). São particularmente abundantes no músculo esquelético e no endotélio da barreira hemato-encefálica. Têm a revestidas 2 membranas (externa e interna), separadas por um espaço intermembranário<sup>3,6</sup>. A membrana interna apresenta múltiplas

invaginações (ou cristas), nas quais decorre a fosforilação oxidativa. Através de reacções sequenciais de tipo redox, da responsabilidade de um conjunto de 5 complexos enzimáticos membranários (I-V), são os substratos energéticos degradados, em resposta às necessidades fisiológicas<sup>5,7</sup>. Mitchell, em 1961, propôs a existência de uma cadeia de transporte de electrões, responsável pela criação dum potencial eléctrico e dum gradiente de pH transmembranário - The proton motive force - cujo objectivo final seria a síntese de ATP, a partir de ADP e P inorgânico<sup>5,7,8</sup>. Efectivamente, sabe-se hoje que é a cadeia mitocondrial de transporte de electrões que permite não apenas a formação de ATP, mas também a manutenção dum potencial oxidativo imprescindível para o bom funcionamento celular. Tudo se passa pois a nível da membrana mitocondrial interna, cuja função é primordial e lhe confere uma importância ímpar nas doenças do metabolismo energético.

Fácil será de entender que uma anomalia que interfira nesta sequência de reacções enzimáticas irá favorecer o metabolismo anaeróbio da glicose, com acumulação de lactato e/ou piruvato, nomeadamente no sangue e/ou líquor, característica bioquímica das encefalomiopatias mitocondriais. Contudo, a acumulação destes metabolitos na situação basal, pós-esforço (exercício isquémico) ou após sobrecarga metabólica (mais frequentemente a glicose) não é específica desta patologia, e pode encontrar-se numa variedade de situações neuropatológicas com alterações do metabolismo energético<sup>9</sup>.

Na experiência colhida no nosso Serviço de Neurologia, uma elevada percentagem de doentes com degenerescências cerebelosas, por exemplo, apresenta alterações sugestivas de deficiente metabolismo oxidativo. Esta constatação é compatível com o papel de uma disfunção mitocondrial, pelo menos na expressão de algumas destas síndromas, como se aludirá mais à frente.

Por outro lado, é de importância prática salientar que estes doentes podem ser beneficiados com regimes terapêuticos dirigidos à estimulação do metabolismo oxidativo. Estes incluem, em particular, a tiamina, a riboflavina, a biotina, a vitamina K3, o coenzima Q10 e a carnitina<sup>9</sup>. A nossa experiência aponta para uma melhoria clínica sintomática, associada a melhoria e até mesmo normalização dos parâmetros bioquímicos (lactato e piruvato) com a terapêutica.

## BIOGÉNESE MITOCONDRIAL

Durante a fecundação, apenas o núcleo do espermatozóide penetra no óvulo, pelo que as mitocondrias são todas herdadas da progenitora materna. Este facto leva à criação do conceito de transmissão ou hereditariedade de tipo materna, que é extremamente importante na compreensão das doenças mitocondriais.

A mitocondria possui um sistema genético próprio - o DNA mitocondrial - de origem exclusivamente materna. É formado por 16.569 pares de bases, que adoptam a forma de cadeia (hélice) dupla circular<sup>3,6,10,11,12</sup>. Esta particularidade das mitocondrias permite que as suas proteínas sejam codificadas pelo genoma nuclear e/ou pelo genoma mitocondrial (DNA mitocondrial)<sup>5,12</sup>. Assim, e no que respeita aos 5 complexos enzimáticos membranares atrás referidos, 13 das suas subunidades proteicas são da responsabilidade

única do genoma mitocondrial, sendo as restantes codificadas pelo DNA nuclear. Qualquer alteração na codificação destas 13 subunidades será transmitida apenas da mãe para os filhos (de ambos os sexos), contrariando pois a habitual hereditariedade de tipo Mendeliana, que aqui se aplicará apenas às restantes subunidades proteicas. O DNA mitocondrial tem a particularidade de ser mais sensível do que o DNA nuclear a mutações induzidas por factores endógenos ou exógenos.

## CONCEITO ACTUAL DE ENCEFALOMIOPATIA MITOCONDRIAL

O interesse pelas doenças mitocondriais remonta ao século XIX, época em que von Gräeffe, na Alemanha (1868), e Hutchinson, na Inglaterra (1879) descreveram pela primeira vez alguns casos de oftalmoplegia progressiva, associada a ptose<sup>13,14</sup>. Posteriormente, vários outros casos foram descritos (Beaumont, 1890; Mobius, 1892; Kiloh et Nevin, 1951; Luft, 1962, etc), nos quais, para além da oftalmoplegia, era igualmente evidente uma miopatia generalizada, um compromisso do SNC e até mesmo de outros órgãos e sistemas (rim, fígado, glândulas endócrinas, etc). As biópsias dos músculos afectados destes doentes mostravam fibras de aparência rasgada, que coravam de vermelho pelo tricrómio de Gomori (Ragged Red Fibres). Com o advento da microscopia electrónica, da neuroquímica e, mais recentemente, da biologia e genética moleculares, foi possível associar estes dados clínicos e responsabilizar a mitocondria pela sua etiologia. Conjugou-se pois o dado inicial - a lesão muscular primária - com as alterações microscópicas e com o padrão peculiar de hereditariedade destas doenças, criando um novo conceito: o de Encefalomiopatia Mitocondrial.

Numa tentativa de classificar este grupo de novas doenças, surgiram 2 escolas: a sintética e a analítica<sup>2,3</sup>. Para a escola sintética (*Des Lumpers*, Petty, 1986) as doenças mitocondriais constituem um *continuum* de quadros clínicos, impossíveis de individualizar, quer na forma de apresentação exclusivamente miopática, quer na forma de doença multissistémica (com envolvimento cerebral predominante). São doenças que partilham características comuns e derivam todas duma mesma lesão, neste caso uma mitocondriopatia. Para a escola analítica (*Des Splitters*, Pavlakis, 1984) existem, pelo contrário, características próprias dos diferentes possíveis quadros neuro-lógicos, que permitem a sua individualização em síndromas distintas, sendo as mais conhecidas o MERRF, o MELAS e o KSS. Os progressos a nível da genética molecular irão inevitavelmente esclarecer as disputas entre as duas escolas<sup>2</sup>.

O conceito actual de Encefalomiopatia Mitocondrial é o de uma doença multissistémica, com características clínicas heterogéneas, cujas múltiplas apresentações partilham duma lesão histológica comum (fibras vermelhas rasgadas) e cuja etiologia é uma anomalia do metabolismo energético mitocondrial<sup>6,15,16</sup>. Este conceito, sem dúvida mais amplo, permite a existência das síndromas ditas de sobreposição (*overlapping*). Nestas últimas, as manifestações clínicas podem ser comuns a 2 síndromas (exemplo: MERRF e MELAS), mas a anomalia genética detectável é típica apenas de uma delas.

É importante chamar a atenção para o seguinte: para além das síndromas aqui referidas, da Neuropatia Óptica Hereditária de Leber e de algumas outras doenças, devidas primariamente a alterações do DNA mitocondrial, existem outras situações nas quais as disfunções mitocondriais poderão estar implicadas, ou pelo menos fornecer um factor de alto risco para a sua expressão clínica. Além disso, existe evidência de alterações funcionais e ultra-estruturais das mitocondrias com o envelhecimento, que poderão facilitar a expressão clínica de determinadas doenças neuro-degenerativas. Doenças para as quais as disfunções mitocondriais poderão ter um papel causal, ou pelo menos proeminente no processo degenerativo, incluem a doença de Parkinson, a doença de Alzheimer, a doença de Huntington, as degenerescências cerebelosas e as doenças do neurónio motor<sup>9,12,17</sup>.

## SÍNDROMAS MITOCONDRIAIS

Descrevem-se em seguida as principais síndromas mitocondriais: MERRF, MELAS e KSS.

### Epilepsia Mioclónica e Fibras Vermelhas Rasgadas (MERRF)

[Myoclonic Epilepsy and Ragged Red Fibres]

Esta síndrome é considerada o modelo para a compreensão dos princípios da genética mitocondrial. Foi descrita por Fukuara (Japão) em 1980<sup>18,19</sup>. Resulta duma mutação pontual (adenina por guanina, na posição 8344) do DNA mitocondrial, descoberta por Schoffner et al (1990). Esta mutação é responsável por anomalias na síntese de proteínas mitocondriais, nomeadamente de algumas subunidades dos complexos enzimáticos I e IV (citocromo C oxidase). O estudo desta síndrome levou à elaboração dos 3 princípios básicos da genética mitocondrial:

#### 1 - Princípio da Heteroplasmia

Numa célula existem os 2 tipos de DNA mitocondrial: o normal e o mutante.

#### 2 - Princípio da Segregação Replicativa

Quando as células se dividem, os 2 tipos de DNA mitocondrial são distribuídos de forma aleatória pelas células filhas.

#### 3 - Princípio do Efeito Limiar (Threshold)

O fenótipo celular, resultante do fenómeno da segregação replicativa, depende da percentagem de cada um dos tipos de DNA mitocondrial. Para que surja um compromisso metabólico é necessário que a percentagem de DNA mutante atinja um determinado valor ou limiar. Por exemplo, se 90 % do DNA mitocondrial for mutante, a função mitocondrial estará gravemente afectada. Ou seja, o metabolismo energético dependerá directamente do número de mitocondrias comprometidas e das reservas energéticas do órgão a que pertencem<sup>18</sup>.

Estes três princípios explicam quer a multiplicidade de manifestações clínicas quer o compromisso preferencial (a nível muscular e cerebral) desta síndrome. São ambos sistemas com reduzidas reservas de ATP e grandes necessidades energéticas, pelo que serão afectados de forma mais precoce e grave.

## QUADRO CLÍNICO

Idade de início: habitualmente depois dos 10 anos (média 17 anos)<sup>18</sup>. A síndrome MERRF caracteriza-se pela existência invariável de uma epilepsia mioclónica (habitualmente é a manifestação inicial), associada a uma síndrome cerebelosa (ataxia) e ao quadro miopático. Concomitantemente, e porque se trata de uma doença degenerativa multissistémica, podem existir outros tipos de sinais ou sintomas, tais como crises convulsivas de tipo grande mal, surdez progressiva, demência, atrofia óptica, baixa estatura, neuropatia periférica, etc<sup>18,19</sup>.

## NEUROATOLOGIA

São particularmente afectados os núcleos dentados do cerebelo, os pedúnculos cerebelosos superiores, os globos pallidus, os cordões posteriores da medula e os músculos esqueléticos. É visível uma grave e extensa perda neuronal, associada a gliose, muito marcada a nível do cerebelo e pedúnculos cerebelosos. Quanto ao compromisso muscular, este é evidenciado pela presença de fibras vermelhas de aparência rasgada, que correspondem à presença de mitocondrias anormais. A microscopia electrónica confirma a sua forma e tamanho gigantes e a configuração anómala das cristas membranárias<sup>15,18,19</sup>.

## NEUROIMAGIOLOGIA

Em termos de imagem, é visível na TAC e RMN CE uma atrofia cortico-subcortical generalizada (cerebelo, tronco cerebral, hemisférios cerebrais)<sup>20,21</sup>.

### Encefalomiopatia Mitocondrial, Acidose Láctica e Episódios Tipo AVC (MELAS)

[Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes ]

A síndrome MELAS foi descrita por Pavlakis *et al*, em 1984. À semelhança da MERRF, resulta duma mutação pontual do DNA mitocondrial (adenina por guanina na posição 3243), comprometendo a síntese de proteínas do complexo enzimático mitocondrial I<sup>17</sup>.

## QUADRO CLÍNICO

Idade de início: habitualmente antes dos 10 anos, embora o desenvolvimento precoce seja normal. O quadro clínico é variável, mas inclui, para além da miopatia (ocular ou dos membros), episódios tipo AVC (início súbito de hemiparésia, afasia, hemianópsia, cegueira cortical, etc), ataxia cerebelosa, cefaleias e/ou vômitos paroxísticos, epilepsia não mioclónica (pelo menos no início), etc. A evolução é no sentido do agravamento progressivo, quer a nível muscular quer a nível cerebral, sendo frequentes os quadros demenciais<sup>16,22,23,24,25</sup>.

## NEUROATOLOGIA

Trata-se de uma doença vascular secundária a uma angiopatia mitocondrial. Isto significa que não são os vasos sanguíneos propriamente ditos que estão lesados, mas sim as mitocondrias das células que os constituem. A

explicação para os episódios tipo AVC parece residir na presença de grandes quantidades de DNA mitocondrial mutante nos vasos sanguíneos cerebrais, confirmada por técnicas de hibridização *in situ*<sup>26</sup>. Nestes doentes são visíveis múltiplos focos isquémicos (necrose essencialmente cortical) recentes e/ou antigos, associado a edema das células endoteliais<sup>23,27</sup>.

## NEUROIMAGIOLOGIA

A TAC e a RMN CE revelam a presença de enfartes isquémicos em diferentes fases evolutivas, cuja distribuição não corresponde à dos territórios arteriais habitualmente envolvidos nos AVC's. Na verdade, o fluxo sanguíneo cerebral nestas zonas isquémicas é normal, conforme demonstrado por estudos funcionais, nomeadamente pela tomografia de emissão de positões<sup>20,21,27</sup>.

### Síndrome de Kearns-Sayre (KSS)

[ Kearns-Sayre Syndrome ]

Foi descrito em 1968 por Kearns e Sayre. Resulta duma deleção do DNA mitocondrial, responsável pela síntese de proteínas do complexo enzimático IV. A grande maioria das deleções do DNA mitocondrial são espontâneas (esporádicas), não existindo praticamente história familiar. Este facto sugere que a maioria das deleções são mutações novas que ocorrem durante o desenvolvimento<sup>12,28,19</sup>.

## QUADRO CLÍNICO

Esta síndrome define-se com base em 2 tipos de critérios: primários (ou obrigatórios) e secundários<sup>15</sup>:

### Critérios primários

- \* início antes dos 20 anos
- \* ptose e oftalmoplegia
- \* retinopatia pigmentar

### Critérios secundários

- \* bloqueio da condução cardíaca
- \* proteinorráquia superior a 100 mg/dl
- \* síndrome cerebelosa

A síndrome KSS completa implica a presença dos 3 critérios primários associados a pelo menos 1 dos critérios secundários. Existem, no entanto, formas ditas incompletas: as oftalmoplegias externas crónicas progressivas. Sabe-se que todos os doentes com deleções do DNA mitocondrial apresentam oftalmoplegia, sendo conhecidas, à data presente, mais de 100 diferentes deleções<sup>12</sup>.

## NEUROPATOLOGIA

Trata-se de uma doença degenerativa da substância branca cerebral, na qual existe um aumento do conteúdo em água, com degenerescência esponjosa da mesma<sup>15</sup>.

## NEUROIMAGIOLOGIA

Na TAC CE observa-se uma hipodensidade difusa da substância branca. Na RMN CE existe um hipossinal na ponderação T1 e um hipersinal na ponderação T2, a nível da substância branca<sup>21</sup>.

## COMENTÁRIOS FINAIS

As Encefalomiopatias Mitocondriais constituem um grupo particular de doenças primárias do metabolismo energético. É cada vez mais frequente a atribuição da responsabilidade mitocondrial a diferentes quadros clínicos do foro neurológico. Citamos, a título de exemplo, o caso da Neuropatia Óptica Hereditária de Leber, causa de grave compromisso visual central, levando progressivamente à cegueira. Compromete particularmente adultos jovens do sexo masculino (8M:1F)<sup>31</sup>. Várias mutações do DNA mitocondrial foram já descritas nesta neuropatia, sendo a mais frequente a da posição 11778 (arginina/histidina)<sup>12,31</sup>. O número destas mutações tem vindo a aumentar com o número de pedigrees estudados, afectando os complexos enzimáticos I e III, podendo ser múltiplas num doente. A perda de visão parece resultar de um efeito cumulativo ou sinérgico das mutações, ou seja, a sua gravidade é proporcional ao grau de disfunção enzimática induzida<sup>12,31,32</sup>.

O conhecimento actual das Encefalomiopatias Mitocondriais resulta dum fascinante trabalho multidisciplinar, do fora das ciências neurológicas e da biologia e genética moleculares. Para melhor as caracterizar existem vários meios de diagnóstico ao nosso dispor:

- \* estudos neurofisiológicos;
- \* imagiologia convencional e funcional;
- \* anatomopatologia e bioquímica;
- \* ressonância magnética espectroscópica muscular (determinação do metabolismo muscular *in vivo*: níveis de P, ADP, ATP pré e pós esforço físico);
- \* genética molecular (estudo do DNA mitocondrial e nuclear por endonucleases de restrição, hibridização *in situ*, PCR, análise de Southern Blot, etc)<sup>1,6,16,30,31</sup>.
- \* sistemas de cultura de tecidos (mitocondrias provenientes de doentes heteroplásmicos para uma determinada mutação do DNA mitocondrial)<sup>32</sup>.

Partindo-se pois da clínica (heterogénea mas sugestiva) encontram-se alterações bioquímicas particulares, da responsabilidade indirecta duma anomalia genética. Ou seja, com base num variado leque de síndromas chegou-se à mitocondria, a principal responsável por este importante capítulo da patologia neurológica. Porque a clínica é variável e, por vezes, sobreponível (*overlapping syndromes*), caberá à genética molecular um papel primordial na diferenciação das Encefalomiopatias Mitocondriais. Muito provavelmente, e num futuro que esperamos próximo, a classificação destas doenças será feita com base em critérios exclusivamente moleculares.

Dois grandes desafios permanecem: através de que mecanismos a alteração molecular leva à expressão clínica da doença? e como tratar eficazmente estes doentes?<sup>2</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

1. KARPATI G, ARNOLD D, MATTHEWS P *et al*: Abord Correlatif et Pluridisciplinaire de l'Étude des Encephalomyopathies Mitochondriales. *Revue Neurol* 1991; 147: 455-461.
2. ROWLAND PL: The First Decade of Molecular Genetics in Neurology: Changing Clinical Thought and Practice. *Ann Neurol* 1992; 32: 207-214.
3. ZEVIANI M, BONILLA E, DEVIVO CD, DIMAURO S: Mitochondriales Diseases. in *Neurogenetic Diseases*, *Neurol Clinics* 1989, vol7, nº1, 123-155.

4. BLASS PJ, SHEU K-F R, CEDAR BAUM MJ: Energy Metabolism in Disorders of the Nervous System. *Revue Neurol* 1988; 144: 543-563.
5. SHERRAT A: Mitochondria: Structure and Function. *Revue Neurol*, 1991; 147: 417-430.
6. PONSOT G: Maladies Mitochondriales. *Médecine et Hygiène*, 1993; 1967: 353-357.
7. KADENBACH B, SCHNEIDER B, MELL O *et al*: Les Protéines de la Chaîne Respiratoire. *Revue Neurol* 1991; 147: 436-442.
8. MORGAN-HUGHES A, COOPER MJ, SCHAPIRO V *et al*: The Molecular Pathology of Human Respiratory Chain Defects. *Revue Neurol* 1991; 147: 450-454.
9. BEAL MF: Does Impairment of Energy Metabolism Result in Excitotoxic Neuronal Death in Neurodegenerative Illness? *Ann Neurol* 1992; 31: 119-130.
10. NELSON I: Étude de l'organisation de l'ADN Mitochondrial dans les Pathologies Neuromusculaires; Thèses; Rennes 1991.
11. ZEVIANI M, GELLERA C, ANTOZZI C *et al*: Maternally Inherited Myopathy and Cardiomyopathy: Association with Mutation in Mitochondrial DNA tRNA. *Lancet*, 1991; 338: 143-147.
12. WALLACE CD: Diseases of the Mitochondrial DNA. *Ann Rev Biochem* 1992; 61: 1175-1212.
13. BAUMANN C, BONNEFONT J, COLONNA M *et al*: Les Cytopathies Mitochondriales: de Nouvelles Maladies de Système? Journées Parisiennes de Pédiatrie; Flammarion, Médecine-Science, Paris 1989: 225-235.
14. SERRATRICE G, BAUMANN N: Du Muscle au Système Nerveux Central. Naissance et Devenir du Concept d'Encephalomyopathie Mitochondriale. *Revue Neurol* 1991; 147: 413-416.
15. ROWLAND PL, BLAKE MD, HIRANO M *et al*: Clinical Syndromes Associated with Ragged Red Fibres. *Revue Neurol* 1991; 147: 467-473.
16. CHEN R, HUANG C, LEE C *et al*: Overlapping Syndromes of MERRF and MELAS: Molecular and Neuroradiological Studies. *Acta Neurol Scand* 1993; 87: 494-498.
17. TRITSCHLER J, MEDORI R: Mitochondrial DNA Alterations as a Source of Human Disorders. *Neurology* 1993; 43: 280-288.
18. SHOFFNER M, LOTT D, WALLACE D: MERRF, une Maladie Modèle pour la Compréhension des Principes de la Génétique Mitochondriale. *Revue Neurol* 1991; 147: 431-435.
19. CIAFALONI E, RICCI E, SHANSKE S: MELAS: Clinical Features, Biochemistry and Molecular Genetics. *Ann Neurol* 1992; 31: 391-398.
20. EGGER J, KENDALL B: Computed Tomography in Mitochondrial Cytopathy. *Neuroradiology* 1981; 22: 73-78.
21. LEE H, RAO G, ZIMMERMAN A: Cranial MRI and CT. McGraw Hill. Inc. 3<sup>rd</sup> Edition, 1992.
22. PAVLAKIS S, PHILLIPS P, DIMAURO S *et al*: Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes: A Distinctive Clinical Syndrome. *Ann Neurol* 1984; 16: 481-488.
23. ROGER J, BUREAU M, DRAVET C *et al*: La Place des Encephalopathies Mitochondriales dans les Epilépsies-Myoclonies Progressives. *Revue Neurol* 1991; 147: 480-490.
24. GOTO Y, NONAKA I, HORAI S: A Mutation in tRNA leu Gene Associated with MELAS Subgroup of Mitochondrial Encephalomyopathies. *Nature* 1990; 348: 651-653.
25. KOBAYASHI Y, MOMOI M, TOMINAGA K *et al*: Respiration-Deficient Cells are Caused by Single Point Mutation in the Mitochondrial tRNA leu (UUR) Gene in Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes (MELAS). *Am J Hum Genet* 1991; 49: 590-599.
26. TOKUNAGA M, MITTA S, SAKUTA R *et al*: Increased Mitochondrial DNA in Blood Vessels and Ragged Red Fibres in MELAS. *Ann Neurol* 1993; 33: 275-280.
27. ALLARD J, TILAK S, CARTER A: CT and MR of MELAS Syndrome. *AJNR*, 1988; 9: 1234-1238.
28. ZEVIANI M, MORAES C, DIMAURO S *et al*: Deletions of Mitochondrial DNA in Kearns-Sayre Syndrome. *Neurology* 1988; 38: 1339-1346.
29. LESTIENNE P, PONSOT G: Kearns-Sayre Syndrome with Muscle Mitochondrial DNA Deletion. *Lancet* 1988; 1: 885.
30. MORGAN-HUGUES J, HAYES D, CLARK J *et al*: Mitochondrial Encephalomyopathies: Biochemical Studies in Two Cases Revealing Defects in the Respiratory Chain. *Brain* 1982; 105: 553-582.
31. HARDING A: Mitochondrial Diseases: Genetic Aspects. Queen Square Lecture; December 1993.
32. SCHÖN AE: Mitochondrial Disorders in Muscle. *Current Opinion in Neurol and Neurosurg* 1993; 6: 19-26.