

사립체 질환

Mitochondrial disorders

이영목, 김흥동
연세대학교 의과대학 소아과학교실

Young-Mock Lee, M.D.,
Heung Dong Kim, M.D., Ph.D.
Department of Pediatrics, Yonsei University College
of Medicine
주소: 서울특별시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 소아과학교실
Tel: 02-2228-2061, Fax: 02-393-9118
Email: hdkimmd@yumc.yonsei.ac.kr

Abstract

Mitochondria contain the respiratory chain enzyme complexes that carry out oxidative phosphorylation and produce the majority of cellular energy in the form of ATP. Mitochondrial disorders are either due to sporadic or inherited mutations of genes located in nuclear or mitochondrial DNA or due to other exogenous factors. Although several proteins related with signalling, assembling, transporting, and enzymatic function can be impaired in mitochondrial disorders, most frequently however, the activity of the respiratory chain protein complexes is primarily or secondarily affected, leading to impaired oxygen utilization and reduced energy production. Mitochondrial disorders usually show a chronic slowly progressive course and present with multiorgan involvement with varying onset between birth and late adulthood. They represent a diagnostic challenge because of their wide variation in presentation and course. Systems frequently affected in mitochondrial disorders are peripheral

nervous system, brain, endocrine system, heart, eyes, ears, guts, kidney and bone marrow. Although there is no specific therapy and cure for mitochondrial disorders, the rapidly increasing understanding of the pathophysiological background of the disorders may further facilitate the diagnostic approach and open perspectives to, possibly causative therapies in future.

Key words: Mitochondria, Mitochondrial disorder, Energy metabolism, mtDNA

1. 서론

사립체 (mitochondria)는 100 여년 전 Altmann에 의해 처음 발견되어 'elementary organism'으로 불리어졌는데, 세포 내에 존재하는 'free-living organisms'으로 제안되었었다. 현재 까지도 대부분의 보고에서 제시된 증거들은 이 원래의 가설을 뒷받침하고 있으며, 사립체가 고대 박테리아로부터 유래되었다고 생각된다.¹

1962년 Luft 등이 과대사 환자에서 사립체 기능 이상에 대한 증거를 제시하면서 사립체는 최초로 인체 질환과 연관된 세포 소기관으로 알려졌다. 이후 뇌근병증 환자에서의 호흡 연쇄 (respiratory chain)의 기능 결핍과 형태학적인 변형에 대한 보고를 통해서 인체 질환에서 사립체의 역할이 확립되기 시작했다. 1963년 Nass 등은 사립체가 자신의 고유한 DNA (mtDNA)를 가지고 있다는 사실을 발견하였고, 1981년 인체와 쥐에서 mtDNA의 모든 염기서열이 알려졌다.^{2,4}

그러나, 사립체에 대한 유전학적 기초는 1988년 최초의 질병 유발 mtDNA 돌연변이가 발견되기 전까지는 확실하지 않았었다. 이 발견은 사립체 질환 연구에 기폭제가 되었고, 이후 인체 질환과 관련된 50개 이상의 mtDNA 돌연변이가 발견되었다. 더구나 어떤 간접적인 증거들은 사립체의 기능 이상이 노화나 심부전, 당뇨병, 신경퇴행성 질환 같은 흔한 질환에서도 중요한 역할을 한다고 제안하고 있다.^{5,7} 본고에서는 최근 들어 보다는 관심이 모아지고 있는 사립체 질환에 대해 지금까지 알려진 자료들을 바탕으로 특징과 중요성에 대해 기술하고자 한다.

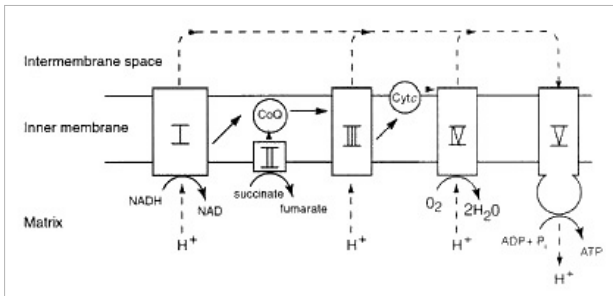


Figure 3. The organization and function of the respiratory chain.

dehydrogenase)의 7개, complex III (cytochrome c reductase)의 1개, complex IV (cytochrome oxidase)의 3개, complex V (ATP synthase)의 2개의 구성단위에 대해 역할을 한다. Complex II (succinate dehydrogenase)는 nuclear DNA에서 암호화된다.

호흡 연쇄는 사립체 내막에서 양자 (proton) 차이를 통해서 ATP를 생성한다. Complex I, III, IV는 양자를 기질 밖으로 보내고, 이때 생긴 전기화학적 차이로부터 발생한 에너지는 complex V에 의해서 ADP (adenosine diphosphate)에서 ATP로의 생성에 이용된다(Figure 3).

3) 사립체 질환의 유전학

산화적 인산화 능력은 배아 발생과 여러 다른 생리적 상황에서 엄격하게 조절되어지며, nuclear DNA 또는 mtDNA 돌연변이에 의한 산화적 인산화 능력의 손상은 다양한 종류의 사립체 질환을 유발하게 된다. 현재에는 사립체 질환을 유발하는 유전학적 원인의 대부분이 mtDNA 돌연변이 때문으로 알려져 있다.

mtDNA 돌연변이에는 두 가지 주요한 형태가 있는데, 결실 (deletion)과 중복 (duplication)을 포함하는 전위 (rearrangement)와 점돌연변이 (point mutations)이다. 돌연변이가 배아 단계에서 발생한 경우에는 모계유전을 나타낸다. 체성 세포에서도 돌연변이가 발생할 수 있는데, 이것은 산발성의 질병 발생 경우를 의미한다.

동일한 세포에 돌연변이와 정상 mtDNA가 같이 존재하는 상태인 heteroplasmy에서는 결함을 상쇄할 수 있는 정상 mtDNA가 충분하게 존재한다면 호흡 연쇄 기능 손상을 유발하지는 않는다. 그러나, 돌연변이와 정상 mtDNA 사이의 비가 어느 수준을 넘어가면, 호흡 연쇄의 결함이 발생한다. 증상을 유발하는 역치의 정도는 특정한 조직에서 요구되어지는 에너지의 요구에 따라 다르다. 중추신경계, 심장, 근육, 간, 신장 같은 조직은 높은 에너지 수준을 필요로 하기 때문에 아주 예민하다. 여러 조직 사이에 존재하는 mtDNA 돌연변이의 분포는 환자의 임상양상에 영향을 준다.

nuclear DNA와는 다르게 mtDNA는 세포분열에서 절대적으로 똑같이 복제되지 않으며, 다음 세대로의 mtDNA 분리는 정확하게 똑같은 분포로 진행되지 않는다. 결국, 하나의 낭세포가 모든 mtDNA 돌연변이를 유전받을 수 있고, 다른 낭세포는 mtDNA 돌연변이를 하나도 받지 않는 것이 가능하다.⁸

Heteroplasmy 정도는 체세포 분열을 하는 동안 꼭 일관되게 유지되지 않는다. 배아형성기 초기에 발생하는 mtDNA 돌연변이의 불균등한 분포는 여러 조직 간에 서로 다른 mtDNA 돌연변이 비율을 유발할 수 있으며, 같은 조직에서도 세포에 따라 서로 다른 mtDNA 돌연변이 비율을 나타낼 수 있다.¹⁰

분리 (segregation)에서의 이런 다양성은 배아기에서도 발생할 수 있기 때문에 mtDNA 돌연변이의 정도는 한 세대에서 다른 세대로 극적으로 변화될 수 있으며, 자손들은 때때로 아주 다양한 수준의 mtDNA 돌연변이 정도를 유전받을 수 있다. 그러나, 또한 여러 세대를 거치는 동안에도 heteroplasmy 정도가 비교적 일정하게 유지되는 가계도 있다.

특정한 mtDNA 돌연변이가 유발하는 증상의 정도는 생식세포와 체세포분열 시의 돌연변이의 유발 정도와 각각의 조직에서의 에너지 요구 수준의 차이 (tissue-specific differences) 때문에 아주 다양하다.

4) 사립체 질환의 임상 양상

사립체 질환은 초기 배아형성기부터 성인기에 걸쳐 다양한 시기에 발병할 수 있다. 사립체 질환의 가장 중요한 특징은 하나의 기관부터 여러 기관에 걸쳐 증상을 나타내는 임상양상의 이질성이다. 이런 다양성은 heteroplasmy의 정도와 돌연변이나 각각의 조직마다의 생화학적 발현에 대한 역치의 차이, 그리고 핵 유전자와 사립체 유전자 사이의 조절 효과에 기인하는 것으로 추정되어진다.

사립체 질환을 규정지을 수 있는 특정한 단일 양상은 없으며, 대부분의 임상 환자들은 다양한 시기에 발생하는 뇌, 신경, 근육, 내분비, 심장, 눈, 귀, 장, 신장, 골수 등 여러 장기들에서 발생하는 여러 가지 증상들의 조합을 가지고 있다. 높은 산소 요구도와 에너지 요구량을 가진 조직이나 기관들이 우선적으로 영향을 받게 되는데, 근육, 뇌, 심장, 간 등이 대표적이다. 따라서, 사립체 질환의 가장 흔한 증상은 신경근 관련 증상이라고 할 수 있다. 대개 어떤 흔한 질환이 예전과 다르게 비전형적인 증상을 나타내고, 증상이 여러 장기에 걸쳐서 분포할 때 사립체 질환을 의심할 수 있다.^{11,12}

5) 특징적인 사립체 질환들

가장 최초로 보고된 사립체 질환은 전자 전달과 ATP 생성 사이에서의 기능 결함으로 보고된 Luft 병이다. 이 발견 이후에 에

너지 생성의 결함이 어떤 뇌근병증에서 원인이 될 수 있다는 여러 증거들이 보고되었다.

1988년에 이르러서야 질병 유발 mtDNA 돌연변이가 처음으로 보고되었고, 이 질환에 대한 분자 유전학적 기초가 마련되기 시작하였고, 오늘날까지 50개 이상의 서로 다른 mtDNA 돌연변이가 아주 다양한 임상적 양상을 유발하는 것으로 보고되었는데, MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes), MERRF (myoclonus epilepsy and ragged-red fibers), Kearns-Sayre 증후군 (retinitis pigmentosa, progressive external ophthalmoplegia, ataxia and heart conduction defects) 등이 대표적인 경우이다.^{5,13,14}

MELAS와 MERRF 증후군은 tRNA 유전자의 돌연변이로 발생하지만, Kearns-Sayre 증후군은 mtDNA의 대규모 결실로 발생한다.^{15,16} 특정 돌연변이와 연관된 임상적 증상은 아주 다양하게 나타날 수 있다. 예를 들어 tRNA^{Leu}(UUR) gene의 A3243G 돌연변이는 progressive external ophthalmoplegia (PEO), maternally inherited deafness and diabetes mellitus, MELAS 증후군과 연관되어 있다. 임상 양상에서 다양성을 나타내는 이유는 확실하지는 않다. 그러나, mtDNA 돌연변이의 분포와 다른 핵유전자와의 상호작용이 중요할 것으로 여겨지고 있다. tRNA 유전자의 돌연변이와 대규모 결실은 사립체 단백질의 생성에 손상을 유발하여 complex I, III, IV, V에 영향을 주는 심각한 사립체 호흡 연쇄 결함을 유발한다.

소아 환자들은 대개 mtDNA 결실이 광범위한 조직에서 분포되어 있고 빈혈, 체장 부전, 신병증, 간병증, 당뇨와 다른 내분비적인 이상 같은 여러 기관에서의 심각한 증상을 나타낸다. 성인 환자들은 보통 근육과 뇌 조직에서는 mtDNA 결실이 높은 수준으로 확인되지만, 혈액에서는 확인되지 않으며, 안검하수, 안구운동 장애, 근골격계 약화 등을 포함하는 PEO를 유발하거나 더 심한 형태의 Kearns-Sayre 증후군을 나타낸다. 어떤 소아 환자에서는 생명을 위협하는 소아기의 빈혈에서 회복되어 청소년기 동안에 신경근조직에서의 이상 소견만이 생기는 경우를 임상적으로 관찰할 수 있는데, 이 것은 연령의 변화에 따라서 서로 다른 조직에서 결실된 mtDNA 수준의 변화가 중요하다는 사실을 반증하고 있다. 골수 같이 빠르게 분화하는 조직은 clonal selection에 의해서 결실된 mtDNA를 소실할 수 있는 반면, 뇌나 근육 같은 조직들은 결실된 mtDNA가 시간이 지남에 따라서 축적되는 것이 가능하다.

Leber's hereditary optic neuropathy (LHON)은 젊은 성인에서 실명을 유발시키는 모계유전 질환으로 90% 이상의 환자에서 complex I 구성단위를 만드는 mtDNA 유전자의 서로 다른 점 돌연변이가 관찰된다.¹⁷

ATP synthase 구성단위를 암호화하는 유전자에서의 점돌연

변이는 neurogenic myopathy, ataxia and retinitis pigmentosa (NARP)와 Leigh 증후군을 유발한다. 이 돌연변이에서 mtDNA 돌연변이 정도와 증상의 심한 정도는 연관관계가 있다. 높은 수준의 mtDNA 돌연변이 정도는 소아기에 발생하는 심각한 Leigh 증후군을 일으키며, 낮은 수준의 mtDNA 돌연변이는 보다 더 높은 연령에서 발생하는 덜 심각한 NARP 증후군을 일으킨다.

산화적 인산화와 관련해서 가장 먼저 발견된 핵과 관련된 유전자 돌연변이는 Leigh 증후군과 complex II 결함을 가진 환자에서 발견되었다. 핵 유전자의 돌연변이로 발생하는 사립체 질환은 멘델 유전 법칙의 양상을 나타내지만, 여러 가지 임상적 양상은 mtDNA 돌연변이에 의한 사립체 질환과 유사한 점이 많다.¹⁸

Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE) 증후군은 사립체 호흡 연쇄의 효소 활성도의 감소, 여러 mtDNA의 이상 소견을 특징으로 하는데, 이 질환은 nuclear DNA에서 암호화하는 thymidine phosphorylase 유전자의 돌연변이와 연관되어 있다. 이것에 대한 설명으로는 thymidine phosphorylase의 불활성이 mtDNA의 유지에 중요한 세포내 thymidine pools을 변화시켜 발생한다는 가설이 있다.

6) 사립체 질환의 진단

진단적 접근은 다른 질환들과 마찬가지로 환자의 병력, 가족력의 확인, 일반적인 검진과 신경학적 검사가 시행되어야 하며 특수한 생화학적 검사, 근육조직검사, 분자유전학적 검사가 필수적이다.^{19,20}

가족력은 사립체 호흡 연쇄와 연관된 이종적인 유전학적 특성 때문에 세심한 주의를 기울여 확인되어야 한다. 임상적인 특성과 함께 모계쪽으로의 유전과 관련된 증거는 mtDNA 돌연변이를 시사한다. 반면 멘델 유전양식은 nDNA에서 유래된 단백질에 이상이 있을 가능성을 시사한다.

사립체는 여러 곳에 존재하기 때문에 mtDNA와 관련된 질환들이 신체의 모든 조직에 영향을 줄 수 있다는 사실은 자명하다. 사실 모든 경우는 아니더라도 대부분의 경우에서 mtDNA와 관련된 질환들은 여러 기관과 관련된 증상을 유발하기 때문에 이학적 검사를 세심하게 하여야 한다. 일반적으로 서로 연관성을 가지지 않은 두 개 이상의 조직을 침범하는 소견을 보이는 경우 사립체 질환의 가능성을 나타낸다고 볼 수 있다. mtDNA 관련 질환과 유사하게 멘델 유전양식을 보이는 사립체 질환들도 여러 장기에 걸쳐서 증상을 나타내기는 하지만, 그 다양한 정도가 적으며 발병 시기가 보다 빠르다. 사립체 질환의 발현이 출생 시기나 출생 직후에 나타나는 경우는 mtDNA와 관련된 질환보다는 nuclear DNA와 관련된 사립체 질환과 보다 연관되어 있다.

가장 유용한 기본적인 진단 검사는 혈중 lactate의 측정이다.

Pyruvate dehydrogenase complex (PDHC), Krebs 회로 또는 전자전달계 등의 수준에서 사립체 내의 pyruvate 산화가 방해 받는 경우에 과량의 pyruvate는 alanine으로 전환되거나 lactate로 환원될 수 있다. 따라서 이들 물질들은 사립체 질환을 가진 환자들에게서 증가 소견을 보인다. 조직에서의 산화·환원의 정도에 따라서 lactate:pyruvate 비율이 유지될 수도 있고 증가될 수도 있다. 사립체 호흡기 연쇄의 결합이 있는 경우에는 lactate:pyruvate 비율이 현저하게 증가하나, PDHC의 결합이 있는 경우에는 이 비율이 대체적으로 유지된다. 이는 감별 진단에 있어 유용하다. 사립체 뇌병증 환자에서는 혈중 lactate가 정상 내지 증가 소견이 뚜렷하지 않을 수 있기 때문에 뇌척수액에서의 측정이 이뤄져야 한다.

혈중 creatine kinase 수치는 대개 중등도의 상승 소견을 보이는 경우가 많으며, MNGIE 증후군 환자에서는 특징적인 thymidine phosphorylase 결핍이 있기 때문에 혈중 thymidine의 측정이 진단에 유용하다.

사립체 질환 환자는 특징적인 뇌 자기공명영상 양상을 보이는데, Leigh 증후군의 경우에는 기저핵과 뇌간에서 양측성의 고음영강도 신호를 나타낸다. 또, MELAS의 경우에는 stroke-like 병변이 주로 뇌의 후방 부위, 특히 후두엽에서 관찰된다. Kearns-Sayre 증후군에서는 중심부 뇌백질의 이상음영이 관찰되며, 기저핵의 석회화 소견은 Kearns-Sayre 증후군과 MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes)에서 관찰된다. Magnetic resonance spectroscopy (MRS) 검사에서의 lactate peak의 관찰도 진단에 도움이 된다.

사립체 질환에 대한 대부분의 진단적 접근은 사립체 호흡 연쇄의 효소 기능과 mtDNA나 nuclear DNA 돌연변이를 검사하는 형태학적 방법과 생화학적 방법을 이용한다.

Succinate dehydrogenase (SDH), cytochrome c oxidase (COX), ATP synthase의 활성도에 대한 효소 조직화학 염색법 (enzyme histochemical staining)은 일반적으로 신뢰도를 가지고 있는 형태학적 검사방법이다.^{20,22} 반면에 NADH-dehydrogenase의 활성도 측정은 이 방법을 쓰기에 어렵다고 알려져 있다. 그러나, 이러한 효소 조직화학 검사에 의해서 측정되려면 상당한 정도의 기능적 결합이 있어야 된다는 사실에 주의하여야 한다.

효소 결핍의 특징적인 모자이크 형태는 tRNA 유전자와 연관된 mtDNA 돌연변이 환자에서 나타난다. 이런 섬유들은 Gomori trichrome에 붉게 염색되며, ragged-red fibers (RRF)라고 불린다. RRF를 볼 수 있는 다른 방법은 SDH와 COX 염색법이다. 그러나, 여기서는 RRF는 푸르게 보이고, 정상 섬유는 갈색으로 보인다. 특정 호흡 연쇄를 찾아내는 면역조직화학 검사 (immunohistochemical test)도 진단에 이용되어왔다.

전자현미경으로는 사립체에서의 기질에서 disorganized cristae와 crystalline structures를 가진 이상 소견을 확인할 수 있다. 사립체의 축적은 산화적 인산화 결핍에 대한 보상성의 반응으로 생각된다.²³

근육이나 다른 조직에서 사립체를 분리하여 polarographic (oxygraphic) methods로 사립체 호흡 연쇄의 기능을 측정하는 것이 가능하다.¹⁹ 이 방법은 서로 다른 시점에서 서로 다른 기질을 호흡 연쇄로 들어가게 하고, 산소 소모를 측정하는 방법으로, complex I-IV을 통한 전자전달에서의 결합과 complex V에 의한 ATP 생성도 측정할 수 있다. 또한, 분광광도계 (spectrophotometer)를 이용하여 각각의 호흡 연쇄 효소 복합체 활성도도 측정될 수 있다. Complex I과 IV의 결합이 같이 있는 경우가 mtDNA 돌연변이를 가지고 있는 환자에서 흔하게 볼 수 있다.

분자유전학적 방법은 특정한 mtDNA와 nuclear DNA의 돌연변이를 찾는 방법으로 사용된다.²⁴

PCR 산물의 직접적인 염기서열 분석은 기존의 알려진 돌연변이 또는 새로운 mtDNA 돌연변이를 찾는 데 이용된다. mtDNA 염기서열 분석을 이용한 유전자 chip arrays의 발달은 미래에 분자유전학적 진단을 단순화시키고, 대량의 검사를 가능하게 할 것이다. 하지만, 진단적 접근에 있어서 하나의 함정은 조직에 따라서 돌연변이가 나타나는 정도가 다를 수 있다는 점인데, 예를 들어 돌연변이가 근육에서는 높은 수준으로 나타나지만, 혈액에서는 나타나지 않을 수도 있다는 사실을 유념하여야 한다.

7) 사립체 질환의 치료

현재까지 사립체 질환의 병인에 대해서는 많은 발전이 있었지만, 아직 이 질환에 대한 효과적인 치료는 없다. 다양한 약물적 치료가 시도되고 있으나, 그 약물의 효과에 대한 공통적인 합의는 없다.²⁵ 사립체는 유리기 (free radical)의 중요한 공급처이고 이 증가된 free radical이 사립체 질환의 병인에 중요한 역할을 하기 때문에 항산화제가 사립체 질환 환자들에서 효과적일 것이라는 제안이 제시되어왔다.²⁶

Coenzyme Q는 사립체 호흡 연쇄에서 전자 전달의 기능과 scavenger molecule로서의 두 가지 기능을 하는 것으로 보고되었는데, MELAS나 Kearns-Sayre 증후군 같은 질환에서 효과가 있다는 보고가 있다.

또한 riboflavin, tocopherol (vitamin E), succinate, ascorbate (vitamin C), menadione, nicotinamide 등이 특정 사립체 호흡 연쇄 효소의 결핍을 가진 사립체 질환에 사용되어져 왔다. Peptide nucleic acids (PNA) therapy나 satellite cell activation therapy 등도 시도되고 있으나, 결국은 손상된 유전자에 대한 유전자 치료가 궁극적인 치료법으로 생각된다.^{27,28}

3. 결론

사립체 질환은 현재 아주 드문 질환만은 아닌 것으로 여겨지고 있으며, 다양하게 산재해 있는 사립체의 존재와 호흡 연쇄의 이중적인 유전학적 조절 그리고, 멘델유전을 따르지 않는 고유한 사립체 유전 양식 등의 원인으로 여러 가지 증상과 징후, 유전 양상, 분자유전학적인 소견을 나타내고 있다. 최근 들어 사립체 질환의 진단 필요성이 강조되고 사립체에 대한 관심이 증대되면서 여러 가지 방법들을 이용한 다양한 분야에서의 연구들이 진행되고 있는데 사립체 질환에 대한 보다 많은 이해와 연구 결과들이 사립체 질환의 정확한 진단 뿐만 아니라 치료의 응용에까지 이바지할 것으로 생각한다.

참고문헌

- Lang BF, Burger G, O' Kelly CJ *et al.* An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. *Nature* 1997; 387: 493-7.
- Nass MM, Nass S. Intramitochondrial fibers with DNA characteristics. I. Fixation and electron staining reactions. *J Cell Biol* 1963; 19: 593-611.
- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290: 457-65.
- Bibb MJ, Van Etten RA, Wright CT, Walberg MW, Clayton DA. Sequence and organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell* 1981; 26: 167-80.
- Larsson NG, Clayton DA. Molecular genetic aspects of human mitochondrial disorders. *Annu Rev Genet* 1995; 29: 151-78.
- Wallace DC. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases? *Science* 1992; 256: 628-32.
- Luft R. The development of mitochondrial medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8731-8.
- Clayton DA. Replication and transcription of vertebrate mitochondrial DNA. *Annu Rev Cell Biol* 1991; 7: 453-78.
- Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 6715-9.
- Lightowlers RN, Chinnery PF, Turnbull DM, Howell N. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *Trends Genet* 1997; 13: 450-5.
- Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 1988; 331: 717-9.
- Wallace DC, Singh G, Lott MT *et al.* Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 1988; 242: 1427-30.
- Zeviani M, Moraes CT, DiMauro S *et al.* Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology* 1988; 38: 1339-46.
- Lestienne P, Ponsot G. Kearns-Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion. *Lancet* 1988; 1: 885.
- Goto YI, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA^{Leu}(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 1990; 348: 651-3.
- Shoffner JM, Lott MT, Lezza AM, Seibel P, Ballinger SW, Wallace DC. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. *Cell* 1990; 61: 931-7.
- Nikoskelainen EK, Savontaus ML, Wanne OP, Katila MJ, Nummdin KU. Leber's hereditary optic neuroretinopathy, a maternally inherited disease. A genealogic study in four pedigrees. *Arch Ophthalmol* 1987; 105: 665-71.
- Holt IJ, Harding AE, Petty RK, Morgan-Hughes JA. A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 428-33.
- Rustin P, Chretien D, Bourgeron T *et al.* Assessment of the mitochondrial respiratory chain. *Lancet* 1991; 338: 60.
- Oldfors A, Holme E, Kristiansson B *et al.* The correlation between pathology, biochemistry and molecular genetics in mitochondrial encephalomyopathies. In: Gorrod JW, Albano O, Ferrari E, Papa S, eds. *Molecular Basis of Neurological Disorders and Their Treatment*. London, UK: Chapman & Hall 1991: 243-54.

21. Engel WK, Cunningham GG. Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. *Neurology* 1963; 13: 919-23.
22. Sciacco M, Bonilla E, Schon EA, Mauros D, Moraes CT. Distribution of wild-type and common deletion forms of mtDNA in normal and respiratory-deficient muscle fibers from patients with mitochondrial myopathy. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 13-9.
23. Larsson NG, Wang J, Wilhelmsson H *et al.* Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet* 1998; 18: 231-36.
24. Chee M, Yang R, Hubbell E *et al.* Accessing genetic information with high-density DNA arrays. *Science* 1996; 274: 610-4.
25. Shoffner JM, Wallace DC. Oxidative phosphorylation diseases and mitochondrial DNA mutations: diagnosis and treatment. *Annu Rev Nutr* 1994; 14: 535-68.
26. Fadic R, Johns DR. Treatment of the mitochondrial encephalomyopathies. In: Beal MF, Bodis-Wollner I, Howell N (eds.): "Mitochondria and Free Radicals in Neurodegenerative Diseases." New York, USA: Wiley-Liss, 1997; 537-55.
27. Taylor RW, Chinnery PF, Turnbull DM, Lightowers RN. Selective inhibition of mutant human mitochondrial DNA replication in vitro by peptide nucleic acids. *Nat Genet* 1997; 15: 212-5.
28. Clark KM, Bindoff LA, Lightowers RN *et al.* Reversal of a mitochondrial DNA defect in human skeletal muscle *Nat Genet* 1997; 16: 222-4.