



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
FACULTAD DE MEDICINA

**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES
DELETÉREAS EN MTIF3 ASOCIADAS A
ENFERMEDAD DE PARKINSON A
PROPÓSITO DE UN CASO CLÍNICO**

TRABAJO FIN DE GRADO
CURSO 2016-2017

AUTORAS:

Inés Santamaría Vicario

Raquel Torrillas López

TUTOR:

Juan José Tellería Orriols

ÍNDICE

1.	ABSTRACT	1
2.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.1.	CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO.....	1
2.2.	ANATOMÍA PATOLÓGICA	3
2.3.	PARKINSONISMO ATÍPICO Y SECUNDARIO	3
2.4.	ETIOLOGÍA Y PATOGENIA.....	4
3.	PACIENTE.....	10
4.	ESTUDIO GENÓMICO Y RESULTADOS.....	12
5.	DISCUSIÓN.....	13
6.	CONCLUSIONES.....	17
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	19

1. ABSTRACT

Several genes involved in mitochondrial function have been related to Parkinson's Disease (PD). Mutations in the mitochondrial serine-threonine kinase PINK1 have been described as causing early-onset autosomal recessive variant of PD. Here we have tested a candidate interactor protein of PINK1, the mitochondrial translation initiation factor 3 (MTIF3) for its potential involvement in PD pathogenesis. MTIF3 encodes a protein which triggers the initiation of complex formation on mitochondrial ribosomes. Dysfunction of MTIF3 leads to vulnerability to oxidative stress, related with neuronal degeneration in PD. We describe a patient affected of PD who carries both, a frameshift and a nonsense mutation in heterozygosis of the MTIF3 gene. We suggest that MTIF3 should be included in the panel of genes screened in PD patients with atypical phenotypes; especially in those with suspected autosomal recessive pattern.

2. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Parkinson (EP) se trata de un trastorno neurodegenerativo, crónico, progresivo con síntomas motores debilitantes (bradicinesia, temblor de reposo y rigidez) como consecuencia del agotamiento de la transmisión dopaminérgica en los ganglios basales. Hay una reducción de la calidad y esperanza de vida, con una evolución entre 10 y 25 años de enfermedad desde el momento del diagnóstico [1].

En torno a un 75% de los casos de parkinsonismo se deben a la EP, siendo el porcentaje restante otros casos de trastornos neurodegenerativos, enfermedades cerebro-vasculares y drogas [2].

La EP es, en frecuencia, el primer trastorno del movimiento y la segunda enfermedad neurodegenerativa por detrás del Alzheimer. Aproximadamente un 1% de la población mundial está afectada a los 65 años de edad, aumentando hasta un 4-5% a los 85 años [3] [4]. El rango de edad de inicio oscila aproximadamente desde los 35 hasta los 85 años y la prevalencia es igual en varones y en mujeres.

2.1. CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la EP puede ser clínico si presentan al menos dos de los tres signos esenciales: temblor de reposo, rigidez y bradicinesia. Suelen

comenzar con carácter asimétrico y empeoran con la ansiedad y con la actividad contralateral. El 85% presentan temblor de reposo, siendo uno de los signos más identificativos de la EP. El comienzo de la enfermedad puede presentarse en forma fatiga, debilidad, alteración de la coordinación y malestar general.

Otras manifestaciones motoras son: micrografía, temblor lento (de 4 a 6 ciclos por segundo) y rítmico, típicamente llamado " en cuenta de monedas", facies de máscara, disminución del parpadeo, voz apagada, lenguaje monótono, disfagia, bloqueo motor y deficiencias de la locomoción, marcha festinante con ausencia de braceo e inestabilidad postural. La actitud típica que adopta el paciente es con la cabeza y el tronco inclinados hacia delante, los codos flexionados y antebrazos en pronación.

Los pacientes también pueden presentar manifestaciones no motoras relacionadas con la disminución de dopamina (DA) en otras áreas del SNC tales como anosmia, alteraciones sensitivas, depresión, insomnio, alteraciones del sistema autónomo (hipotensión ortostática, alteraciones gastrointestinales, genitourinarias, disfunción sexual), deficiencias cognitivas y demencia. Algunas de estas se pueden ser previas a la aparición de síntomas motores.

En la EP también se asocian síntomas neuropsiquiátricos sobre todo en fases avanzadas como cambios en el talante, cognición y la conducta. La depresión es considerada una parte intrínseca de la enfermedad aunque también se puede inducir o agravar de forma iatrogénica por fármacos antiparkinsonianos y psicotrópicos. Las alteraciones de la cognición incluyen la bradifrenia, disfunción de la memoria operativa, función ejecutiva, atención, función visuoespacial y fluidez verbal. Además la incidencia de demencia puede llegar a ser cinco veces mayor a personas de la misma edad. Las manifestaciones psicóticas no son infrecuentes pudiendo presentar ilusiones visuales y alucinaciones con conservación de la introspección, ya sea por la propia enfermedad o por iatrogenia farmacológica.

2.2. ANATOMÍA PATOLÓGICA

Desde el punto de vista anatomopatológico se observa una degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la pars compacta de la sustancia negra; disminución de la cantidad de DA en los núcleos estriados e inclusiones citoplasmáticas de proteínas llamadas cuerpos de Lewy (cuyo principal componente es la sinucleína alfa, una proteína presináptica cuyas mutaciones son causa de EP familiar) en las células serotoninérgicas, noradrenérgicas del SNA y colinérgicas [5].

Se ha visto, sin embargo, que las zonas afectadas no se limitan únicamente a la sustancia negra, sino que pueden estar afectados el núcleo motor dorsal del vago, el *locus coeruleus* y el núcleo olfatorio también; en estadios avanzados pueden estar dañadas estructuras límbicas y del neocortex [6].

La mayoría de los casos se diagnostican por criterios clínicos, pero podemos emplear procedimientos de imagen del sistema dopaminérgico cerebral como el PET o SPECT, que muestran una menor captación de marcadores dopaminérgicos-estriatales, sobre todo en la zona posterior del putamen. Estos estudios son útiles en casos difíciles y en investigación.

2.3. PARKINSONISMO ATÍPICO Y SECUNDARIO

Parkinsonismo atípico

Constituyen un grupo de cuadros neurodegenerativos que se acompañan de una degeneración más extensa que la que se observa en la EP (las zonas más afectadas son las del SNC y los cuerpos estriado, pálido o ambos).

Inicialmente debuta como parkinsonismo con rigidez y bradicinesia, pero de manera típica tienen unas manifestaciones clínicas diferentes.

Los pacientes presentan deficiencias tempranas en el habla y la marcha, ausencia de temblor en reposo, no hay asimetría, la respuesta a la levodopa es deficiente o nula y la evolución es devastadora. Inicialmente la levodopa puede producir un beneficio moderado, dificultando la diferencia con el Parkinson clásico.

En los estudios anatomopatológicos cabe destacar la ausencia de cuerpos de Lewy. Para el diagnóstico pueden ser útiles técnicas de imagen con marcadores metabólicos de los ganglios basales/tálamo reflejando un perfil de menor actividad en Globo Pálido interno (GPi) con mayor actividad en el tálamo, situación contraria a la que suele suceder en la EP.

Dentro de este grupo de parkinsonismos atípicos se incluyen la Atrofia Multisistémica (MSA) que se acompaña de signos cerebelosos y trastornos autonómicos; Parálisis Supranuclear Progresiva (PSP) que cursa con parálisis de la mirada vertical, alteraciones de la locomoción y demencia tipo senil; y Degeneración Ganglionar Corticobasal con distonías asimétricas, alteraciones sensitivas corticales junto con demencia.

Parkinsonismo secundario

El parkinsonismo secundario puede deberse a drogas o fármacos, apoplejía, tumor, infección o exposición a tóxicos como el monóxido de carbono o el magnesio. La causa más común la constituyen los antagonistas dopaminérgicos como los neurolépticos (antipsicóticos), también metoclopramida y clorperazina usados para problemas digestivos produciendo parkinsonismo secundario y discinesias tardías. Otros fármacos: tetrabenazina, amiodarona y litio [2].

2.4. ETIOLOGÍA Y PATOGENIA

La base patogénica del EP está en la muerte de neuronas dopaminérgicas nigrales y otras células por acción de múltiples factores como la vulnerabilidad genética, estrés oxidativo, disfunción de proteosomas (alteración de la ubiquitinación y del sistema proteosómico), actividad anormal de cinasa y factores ambientales, muchos aún sin identificar.

La EP se presenta de forma esporádica en la mayor parte de los casos, siendo el resultado de la interacción de variantes genéticas (poligénicas) que aumenta la susceptibilidad, y de influencias ambientales. La presencia de uno aisladamente no desencadena el padecimiento de la EP [7].

Esta acción multifactorial conduce al procesamiento anormal de sinucleína alfa, acumulación de sustratos por disfunción de parkina y ubiquitinación, radicales libres del oxígeno (ROS), apoptosis, fosforilación inapropiada o al plegamiento anómalo de proteínas, produciendo la muerte neuronal.

Hasta la fecha la mayor parte de los casos idiopáticos de EP parecen esporádicos, aunque cada vez hay más datos a favor de la influencia de los factores genéticos sobre muchas formas de enfermedad. El papel de la herencia parece tener mayor influencia en los casos de EP precoz (menos de 45 años) y en mayor medida en los pacientes de menor edad [7] [8].

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

Un denominador común en la etiopatogenia de ambas formas de EP (esporádica y hereditaria) es la disfunción mitocondrial. La mitocondria juega un papel fundamental en los intercambios energéticos de la célula y en la regulación de su apoptosis. De esta forma, la disfunción mitocondrial y el Parkinson se asocian, teniendo ésta un papel decisivo en su patogénesis.

La hipótesis de que es la disfunción mitocondrial quien subyace al desarrollo de la EP, fue originalmente descrita a principio de 1980 por el Dr. William Langston y su equipo, al advertir en un grupo de drogodependientes que consumían heroína sintética o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), una destrucción de neuronas en la sustancia negra del cerebro [9].

Esta hipótesis a lo largo de los años ha ido cobrando más fuerza como etiopatogenia de la EP con los descubrimientos de disfunción del complejo mitocondrial I y daño del DNA mitocondrial por exceso de estrés oxidativo en las formas poligénicas de EP o la identificación de mutaciones en genes de la homeostasis mitocondrial en las formas de EP monogénicas.

El exceso de estrés oxidativo está implicado en las formas poligénicas de EP [10] encontrándose defectos en el complejo mitocondrial I de la cadena de fosforilación oxidativa. Este parece ser el motivo por el cual el MPTP (derivado de meperidina) y la rotenona (insecticida de uso común) inducían un cuadro neurológico indistinguible de la forma clásica de EP por toxicidad oxidativa y muerte de neuronas dopaminérgicas en los drogodependientes que consumían

heroína sintética. El DNA mitocondrial es uno de los más sensibles al estrés oxidativo.

Por otro lado se ha visto *in vitro* que el estrés oxidativo produce agregación de sinucleína alfa y disfunción proteasómica. En formas esporádicas de la EP a nivel de la sustancia negra se han descrito casos de anomalías del sistema proteosómico [11].

La importancia de la mitocondria en la etiopatogenia de la EP queda de manifiesto al observar que en las infrecuentes formas de EP monogénicas se ven implicados genes que mantienen la función mitocondrial; proteínas parkina y PINK1 parecen ser cruciales en la biogénesis, transporte y dinámica mitocondrial. También LRRK2 y sinucleína alfa participan en la homeostasis y dinámica mitocondrial. Todos estos procesos están conectados para mantener la salud mitocondrial y parecen muy importantes durante las condiciones de estrés a las que está sometida la célula. Las neuronas dopaminérgicas están continuamente sometidas a estrés oxidativo debido al metabolismo oxidativo de la dopamina acentuando la importancia que tiene el buen funcionamiento mitocondrial y su asociación al Parkinson.

GENES IMPLICADOS

Entre un 10-15% de los casos de EP son de origen familiar.

Los genes hoy conocidos implicados en EP hereditario son:

a) Genes con herencia autosómica recesiva:

PARK2:

Codifica para la proteína parkina, una ligasa de la ubiquitina E3 involucrada en la degradación de proteínas dependiente de proteosoma. Parkina es igualmente importante en el control de calidad mitocondrial degradando mediante lisosomas a aquellas mitocondrias dañadas [12].

La importancia de este gen radica en que disfunciones del mismo provocan alteraciones mitocondriales, degeneración muscular y pérdida de neuronas

dopaminérgicas en modelos animales [13]. La inactivación de PARK2 provoca formas juveniles de parkinsonismo autosómico recesivo [14].

PINK1:

Codifica para una cinasaserina/treonina con un dominio N-terminal cuya diana es la mitocondria [15].

Según modelos animales, fallos en PINK1 se manifiestan con fenotipos en los que hay esterilidad, degeneración muscular, pérdida de neuronas dopaminérgicas, alteración de la morfología mitocondrial e incrementos de la sensibilidad al estrés oxidativo. Este dato reviste gran importancia porque las alteraciones de PINK1 y su relación con EP evidencian la disfunción mitocondrial como causa patogénica de EP.

Su pérdida de función da lugar a una EP autosómica recesiva de inicio precoz. PARK6 que codifica para PTEN inducen kinasa 1 PINK1.

Al haberse hallado similitudes fenotípicas en los modelos animales con alteraciones en PINK1 y en parkina se cree que su ruta patogénica es común. [16] [17] [18].

Por otro lado, queda confirmada la relación funcional que se establece entre PINK1 y parkina en la regulación de la morfología y función mitocondrial. [19] [20] Esta ruta común PINK1/parkina está implicada en los procesos de fusión y fisión (remodelado) de la membrana mitocondrial y de distribución de organelas. Juegan un papel vital como punto de control de calidad mitocondrial, así, en las mitocondrias dañadas, PINK1 recluta a parkina desde el citoplasma para señalarlas como diana para la autofagia, llamada también mitofagia (figura 1).

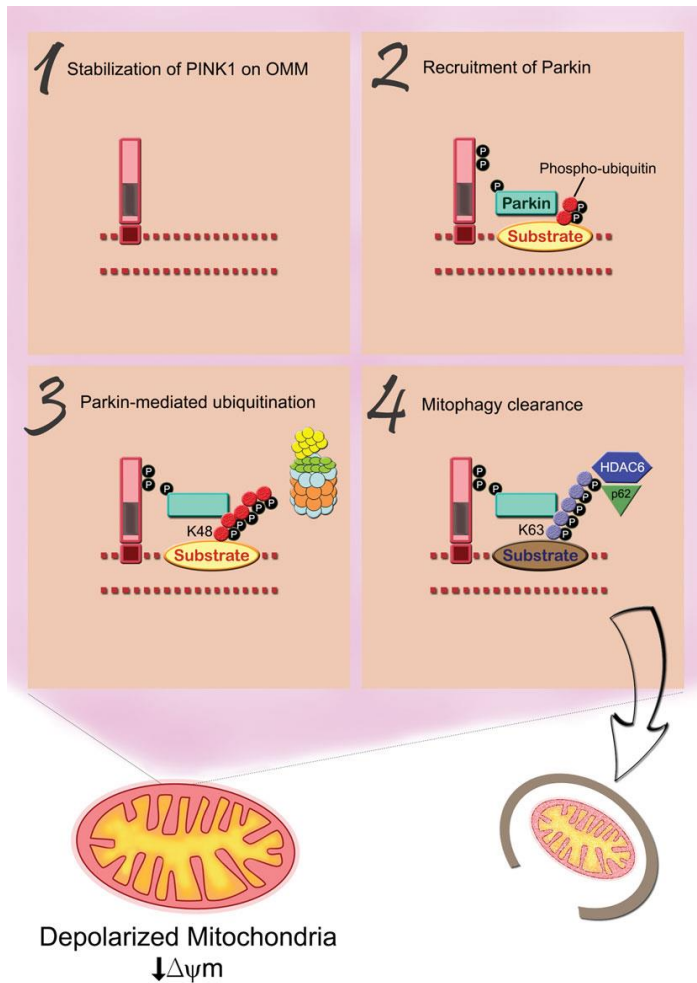


Figura 1: Modelo de mitofagia dirigido por PINK1/parkina. En la imagen se observa el proceso por el que tras la despolarización mitocondrial, PINK1, quien se encuentra en la membrana mitocondrial externa (MME) se autofosforila y se activa. PINK1 activado fosforila a parkina, generando una señal para la ubiquitinización y degradación de proteínas de la MME por el proteasoma [11].

PARK7

Codifica para la proteína DJ-1, responsable de igual manera de formas juveniles de EP [21].

Fallos en estos genes muestran una alteración del procesamiento del proteosoma que conlleva a la no degradación de proteínas, importante mecanismo implicado en algunas formas de EP.

b) Genes con herencia autosómico dominante:

PARK5

Codifica para la hidroxilasa carboxiterminal de la ubiquitina L1 (UCH-L1), otro componente del sistema proteosómico de la ubiquitina [22].

PARK1

Codifica para la proteína alfa-sinucleína-sncα. Se ha descrito como causa de EP de inicio precoz de muy rápida progresión (9.7 años de supervivencia estimada desde el diagnóstico). La clínica y la respuesta a levodopa en pacientes con mutaciones en PARK1 es típica [23].

PARK8

Codifica para LRRK2/ dardarina [24] LRRK2 es una proteína que contiene dominios ricos en leucina y un dominio quinasa. Las mutaciones en este gen están asociadas a formas genéticas de EP, tanto familiares como esporádicas [25].

La proteína LRRK2 interacciona con el microRNA (mi RNA) para regular la síntesis de proteínas [26]. Los hallazgos neuropatológicos en pacientes con mutaciones en el gen PARK8 son pleomórficos. Lo más común es encontrar positividad para alfa-sinucleína, cuerpos de Lewy, tau y ubiquitina.

El fenotipo de degeneración neuronal es muy heterogéneo; pacientes con mutaciones en el gen PARK8 pueden ser clasificados como casos de demencia frontotemporal o demencia por cuerpos de Lewy [27].

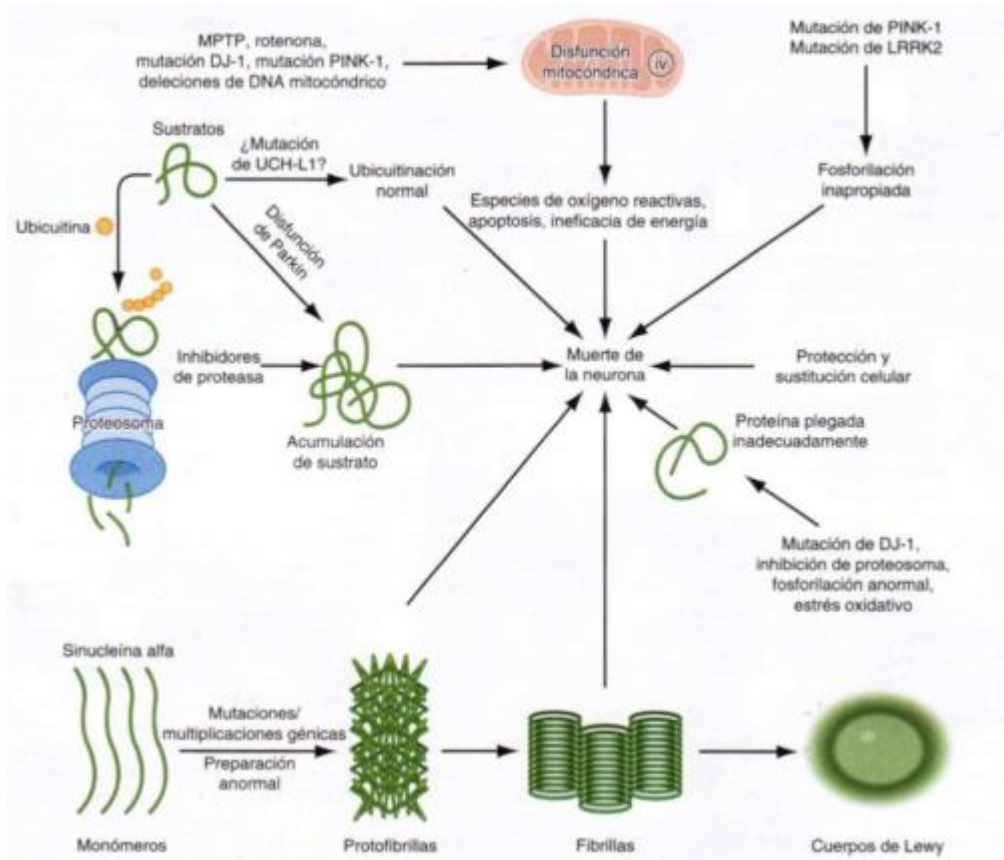


Figura 2: Patogénesis de la muerte de células dopaminérgicas en la EP. Los estudios sobre las formas hereditarias de PD han permitido identificar genes que si muestran mutación, ocasionan pérdida de neuronas dopaminérgicas. En esta imagen se ilustran los procesos celulares que incluyen la ubiquitinación y la degradación proteínica a través del sistema proteosómico; la respuesta al estrés oxidativo, función mitocondrial, fosforilación de proteínas y plegamiento de las mismas [2].

3. PACIENTE

Se presenta el caso de un paciente varón de 48 años remitido por su neurólogo al Servicio de Genética del IBGM para la valoración de un síndrome parkinsoniano de inicio a los 42 años.

Los antecedentes personales relevantes son: intervención de schwannoma en 1999. No alergias conocidas. En cuanto a los antecedentes familiares no se presenta historia de enfermedades neurológicas en familiares de primer grado.

En la evaluación inicial del paciente presentó flexión al caminar y leve temblor de reposo del miembro superior izquierdo con ausencia de braceo y rigidez, pesadez de hombro izquierdo, dolor y limitación a la movilidad con

pérdida de habilidad asociado a ligera incontinencia urinaria. Bradicinesia. Fuerza conservada en las cuatro extremidades.

Se le realizó un DAT-SCAN (SPECT domaminérgico presináptico con ioflupano) objetivándose hipocaptación en putámenes y caudado, predominio derecho.

En la actualidad está habiendo un rápido desarrollo de las tecnologías de la neuroimagen funcional tales como la RM, el PET-TC y el SPECT y éstas le proporcionan al profesional sanitario enfoques de alta precisión.

El tratamiento que se le pautó fue rasagilina, ropirinol, rotigotina.

En sucesivas visitas, la clínica hemicorporal izquierda empeoró progresivamente sin afectación clínica ni exploratoria derecha, siendo esta clínica sugestiva de parkinsonismo asimétrico. Comenzó a asociar cefalea, estreñimiento, dolores abdominales e insomnio con somnolencia diurna. Presentó también alteración del estado del ánimo con tristeza y astenia.

Se le añadió al tratamiento inicial levodopa 300 mg/día, carbidopa, entacapona con mejoría parcial. Con posterioridad el paciente comenzó a referir sintomatología hemiderecha, temblor y dificultad para escribir, urgencia miccional con incontinencia fecal y urinaria. El paciente sufrió de forma intercurrente una depresión reactiva que requirió tratamiento con escitalopram y bromazepam.

Dentro de los estudios neurológicos que se le realizaron está la Escala UPDRS III (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) obteniendo una puntuación de 20/68. Esta escala es usada para seguir el avance de la EP, valora el estado mental, las actividades de la vida diaria y las habilidades motoras.

Globalmente el paciente no presentó mejoría motora con el tratamiento, sin cambios positivos en el estado del ánimo. Progresó negativamente con distonías en uniones metacarpofalángicas, hipereflexia generalizada, *clonus*, discinesiascoréicas en hombro izquierdo. Igualmente el paciente sufrió inestabilidad ortostática con caídas en bipedestación.

Ante la rápida progresión de la enfermedad, presentación a edad temprana y mala respuesta a la levodopa, se sospecha un posible parkinsonismo de causa genética heredado o de *novo*.

Se planteó en ese momento la realización de un estudio genómico.

4. ESTUDIO GENÓMICO Y RESULTADOS

Se obtienen las secuencias procedentes de los exones y uniones exón-intrón y se alinean contra el genoma humano de referencia, procediéndose a la detección selectiva de variantes en los genes candidatos descritos como causantes de la enfermedad de Parkinson SNCA, LRRK2, PARK2, VPS35, PINK1, PARK7 ATP13A2, FBX07, SLC6A3 y TAF1 (Tabla 1).

Para las variantes en genes candidatos según el modelo de herencia hicimos:

- 1- Para un modelo patogénico recesivo se filtraron las variantes eliminando aquellas con frecuencias observadas superiores a 1/500 en individuos de la base de datos de la Universidad de Washington (6.500 exomas) y de la de qGenomics (300 exomas). Se filtran también las variantes sinónimas no canónicas de splicing.
- 2- Para variantes heterocigotas dominantes, se filtraron las variantes presentes en la base de datos de la Universidad de Washington (6.500 exomas) y en de la de qGenomics (300 exomas).
- 3- Al no encontrarse mutaciones potencialmente patogénicas en los genes candidatos, se estudiaron variantes filtradas con los mismos criterios anteriores para patrones dominantes y recesivos en el resto de genes con entrada en OMIM y si el fenotipo asociado encajaba. Se identificaron 18 genes con mutaciones dominantes y 4 recesivos (2 ligados al X), pero los fenotipos asociados no encajaban con el observado en nuestro paciente.
- 4- Finalmente se estudiaron los genes no OMIM, empezando por aquellos con un posible modelo de herencia recesivo. Se identificaron 8 genes posibles dobles heterocigotos ya que tenían dos mutaciones diferentes. Al buscar información sobre ellos, centramos nuestra

atención en MTIF3 por su relación observada con el riesgo de EP y por interactuar con PINK1 [28] [29].

Cr.	Pos	Ref.	Obs.	Estado	N.Sec.	Gen	Tipo	Cambio	Frec. Controles
1	17312743	C	T	het	24	ATP13A2	missense	NM_001141974:exon27:c.G3214A:p.A1072T	42 % (rs3170740)
1	20972048	G	A	hom	16	PINK1	intronic	0	84 % (rs3131713)
1	20977000	A	C	het	22	PINK1	missense	NM_032409:exon8:c.A1562C:p.N521T	27 % (rs1043424)
12	40619082	G	A	hom	15	LRRK2	missense	NM_198578:exon1:c.G149A:p.R50H	96 % (rs2256408)
12	40713901	T	A	hom	13	LRRK2	missense	NM_198578:exon34:c.T4939A:p.S1647T	25 % (rs11564148)
12	40758652	T	C	hom	51	LRRK2	missense	NM_198578:exon49:c.T7190C:p.M2397T	61 % (rs3761863)

Cr.: Cromosoma; Pos.: Posición; Ref.: Referencia; Obs.: Observado; N.Sec.: Número de secuencias que contienen la posición reportada;
 Frec.: Frecuencia (dbSNP, 1.000 Genomes, Exome Variant Server, qGenomics).
 Coordenadas genómicas de acuerdo con la versión hg19 del genoma humano

Tabla 1: Los genes candidatos mostraron variantes presentes en individuos control con una elevada frecuencia y/o sin consecuencias en la proteína implicada y no se consideraron relevantes.

5. DISCUSIÓN

En nuestro paciente se han encontrado dos tipos de variantes heterocigotas potencialmente patogénicas.

Una de las variantes es de cambio de pauta de lectura. Estas mutaciones están causadas por la inserción o delección de un número de nucleótidos que no es múltiplo de tres en la secuencia de ADN (Figura 3). La otra variante consiste en una mutación sin sentido que provoca la aparición, de un codón de terminación (UAA, UGA, o UAG) prematuro.

Los dos cambios identificados en el gen MTIF3 son patogénicos porque tienen como consecuencia la producción de una proteína truncada.

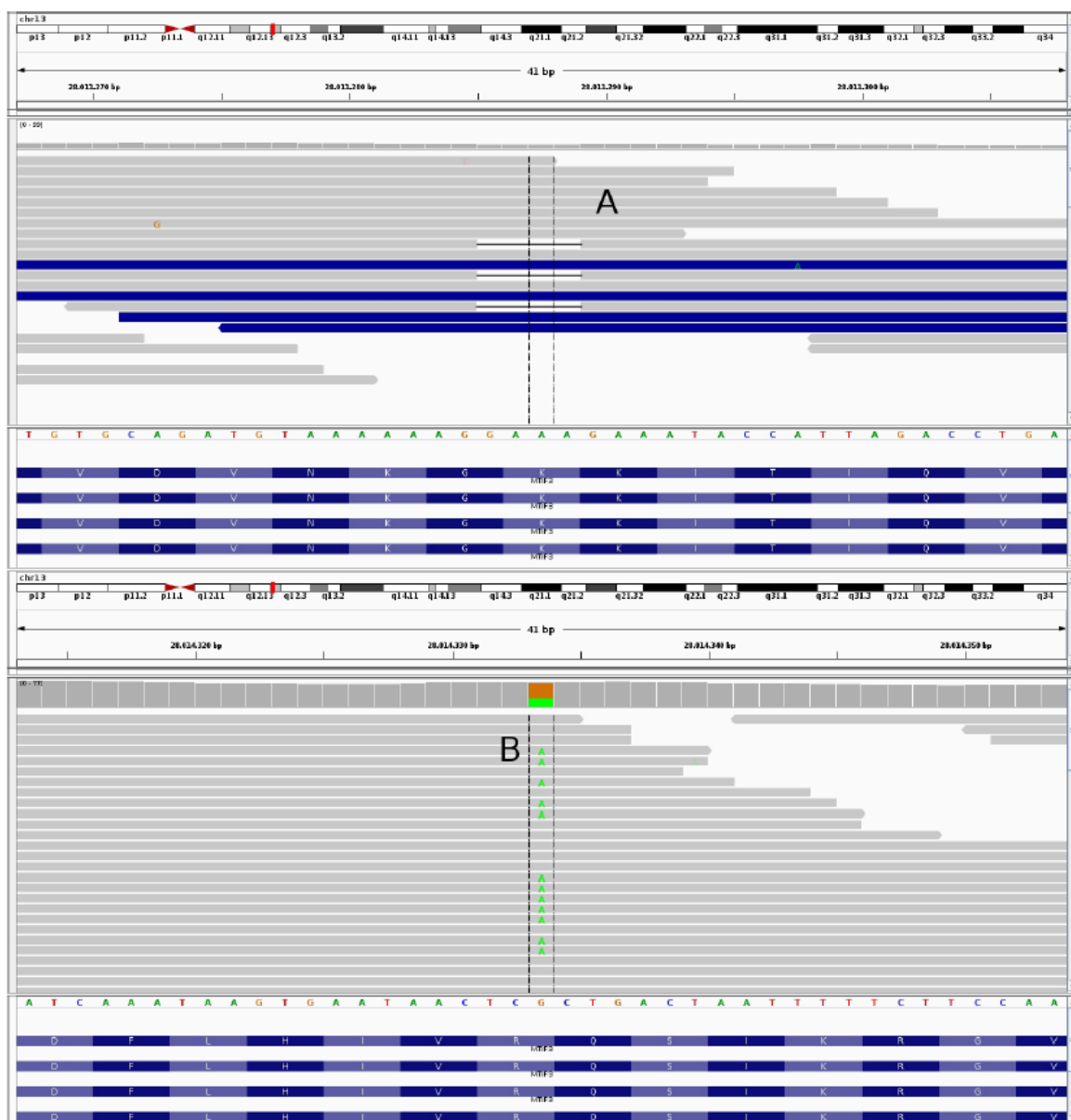
La variante de tipo cambio de pauta de lectura altera la pauta de lectura normal de los 4 transcritos codificados por el gen MTIF3 debido a la delección de 4 nucleótidos en las posiciones c.583-586. Esta alteración se traduce en la incorporación de 4 aminoácidos diferentes a los de la proteína y la aparición de una señal de parada prematura en el aminoácido en la posición 197. La proteína sintetizada a partir de transcritos sin alteraciones siempre es de 278 aminoácidos. Respecto al segundo cambio, la sustitución de un nucleótido guanina por una adenina provoca la aparición de un codón de parada

premature (sin sentido), en todos los transcritos, lo que se traduce en la síntesis de una proteína truncada de 84 aminoácidos (Tabla 2).

Cr.	Pos	Ref.	Obs.	Estado	N.Sec.	Gen	Tipo	Cambio	Frec.Controles
13	28011285	CTTT	-	het	17	MTIF3	exonic	NM_001166261:exon4:c.583_586del;p.K195fs	0
13	28014333	G	A	het	64	MTIF3	exonic	NM_001166261:exon3:c.C253T;p.R85X	0

Cr.: Cromosoma; Pos.: Posición; Ref.: Referencia; Obs.: Observado; N.Sec.: Número de secuencias que contienen la posición reportada; Frec.: Frecuencia (dbSNP, 1.000 Genomes, Exome Variant Server, qGenomics).
 Coordenadas genómicas de acuerdo con la versión hg19 del genoma humano

Tabla 2: Variantes patogénicas en el gen MTIF3.



GATTACCATAAAGAAAG

Figura 3: La imagen muestra la representación de los datos de secuenciación de las regiones que contienen las variantes identificadas de tipo cambio de pauta de lectura y sin sentido (frameshift y nonsense) en estado heterocigoto en el gen MTIF3. Las secuencias obtenidas en la región se representan en forma de barras grises en la parte central de la imagen. A) La delección de cuatro nucleótidos que causa la alteración se observa mediante una línea horizontal negra. B) En el caso de la nonsense el cambio consiste en el cambio de un nucleótido guanina por uno adenina, que se refleja por el cambio de color en el medio de las secuencias. En la parte inferior de la imagen se observa la secuencia nucleotídica del genoma de referencia y los exones e intrones de los posibles transcritos que incluye la región mostrada.

Se ha estudiado extensamente la asociación de factores mitocondriales implicados en la traducción, elongación y terminación del mRNA, habiéndose identificado varias de estas proteínas y su papel en la patogénesis de la EP en seres humanos [7].

Presentamos **MTIF3** como candidato a ser la causa de la enfermedad en el paciente descrito.

El gen MTIF3 está constituido por siete exones, tres de los cuales codifican la proteína (Figura 4). MTIF3 está localizado en el DNA nuclear, es esencial para la formación del complejo de iniciación en la subunidad 55S de los ribosomas mitocondriales y regula la translación de las proteínas en el interior de la mitocondria [29].

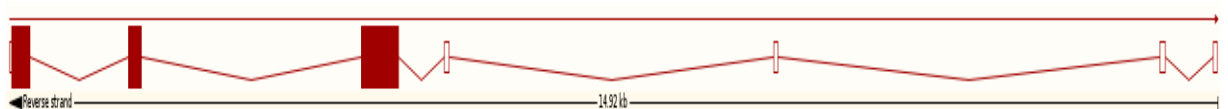


Figura 4: Gen MTIF3

Exones: 7

Exones codificantes: 3

Longitud del transcrito 1,104 pares de bases

Longitud de la proteína traducida: 278 residuos

MTIF3 interacciona con PINK1, cuya disfunción sí está descrita como gen causante de EP monogénico AR precoz [11]. Según estudios en modelos animales la proteína PINK1 se encuentra en la mitocondria e interacciona con

otras proteínas homólogas a MTIF3, apoyando la hipótesis que MTIF3 al interactuar con PINK1 tiene algún papel en la EP [28].

Se puede decir que los cambios en MTIF3 pueden causar una alteración de la función mitocondrial y en el metabolismo del RNA, aumentando de esta forma la susceptibilidad de sufrir EP.

En la literatura está descrito un SNP (rs7669) en el factor de traducción MTIF3 que codifica para una proteína que promueve la formación de un complejo de iniciación en el ribosoma 55S, tomando un papel activo en la iniciación de la traducción. Este ribosoma mitocondrial es responsable de la síntesis de 13 proteínas de membrana y su regulación es importante para la correcta producción de ATP o de los radicales libres de oxígeno [30].

El SNP consiste en un cambio de citosina por timina en la posición 798 del cDNA (exón I) (Figura 5). Los pacientes pueden presentar tres genotipos diferentes: CC, CT, TT.

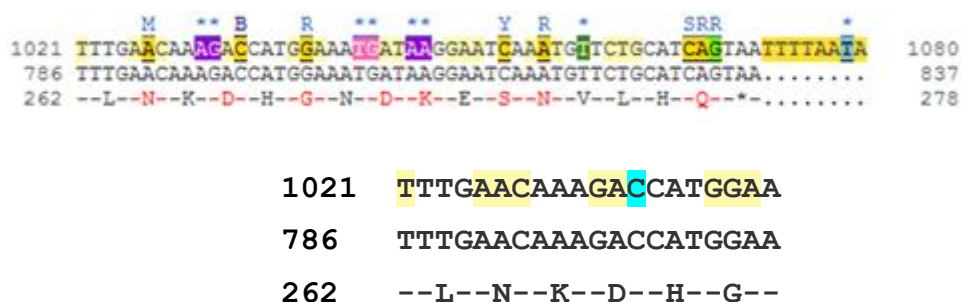


Figura 5: Se presenta un fragmento del gen MTIF3 con las variantes descritas. En la figura ampliada se observa el SNP (rs7669) de cambio de citosina por timina en la posición 798 del cDNA.

Este SNP es sinónimo, es decir, no cambia el aminoácido codificado: Aspartato (Asp), pero parece alterar la tasa de transcripción, modificando las cualidades del mRNA y de la proteína. En un estudio de casos y controles sueco se observó que el genotipo homocigoto para el alelo T en MTIF3 causa un descenso significativo en la expresión del mRNA comparado con el genotipo homocigoto C ($P=0.0163$) [31]. Por otro lado, en Alemania, en dos estudios independientes de casos y controles se observó que el polimorfismo c.798C>T del gen MTIF3 se asocia con EP, con una significación de $P=0.0073$. Según los

autores esta variante de MTIF3 podría perjudicar la capacidad de la mitocondria para responder rápida y dinámicamente al estrés o al daño, limitando el pool de proteínas codificadas por el mtDNA [28]. Las neuronas dopaminérgicas parecen ser especialmente vulnerables a este estrés oxidativo, relacionándose con su degeneración en EP [7].

A pesar de que nunca antes de este trabajo se han descrito mutaciones que puedan relacionar MTIF3 con la EP de causa monogénica, este gen reúne una serie de características funcionales que lo convierten en un excelente candidato.

Según todo lo antedicho, sugerimos que si la existencia de variantes hipofuncionantes de MTIF3 (genotipo TT) incrementan el riesgo de padecer EP; en nuestro paciente, la ausencia total de la proteína codificada por MTIF3 (debido a las mutaciones de tipo cambio de pauta de lectura y sin sentido) puede causar una disfunción mitocondrial que es un conocido factor patogénico de EP hereditario.

6. CONCLUSIONES

En resumen, se han identificado en este trabajo dos mutaciones deletéreas en MTIF3 en un paciente afecto de EP de inicio precoz. La proteína codificada por MTIF3 interacciona con la proteína mitocondrial PINK1, protegiendo las células de la disfunción mitocondrial inducida por estrés, todo ello sugiere el papel potencialmente patogénico de MTIF3 en casos de EP AR que no presentan mutaciones en los genes descritos hasta hoy.

Se debe considerar la inclusión de MTIF3 en la batería de genes a estudiar como causantes de EP autosómica recesiva en pacientes que hayan resultado negativos para los genes que actualmente sí se consideran patogénicos.

Para evaluar la potencial relación con el fenotipo, es preciso realizar estudios de validación y segregación de las mutaciones en el caso y progenitores, y en otros miembros de la genealogía.

La identificación de mutaciones en genes implicados en formas monogénicas de EP permite realizar el diagnóstico patogénico, establecer relaciones genotipo-fenotipo, estudiar la patogenia; identificar posibles dianas terapéuticas y, solo en ocasiones, estimar un pronóstico. Por otra parte, el diagnóstico genético es imprescindible para realizar un adecuado asesoramiento genético reproductivo que permita evitar la recurrencia de la enfermedad.

La causa y el tratamiento curativo del Parkinson son desconocidas, pero el avance en el conocimiento de los genes, las mutaciones y las variantes genéticas asociadas, así como una unificación en el conocimiento de la disfunción neuronal y degeneración mitocondrial que tienen lugar, permitirán una aproximación racional con novedosas dianas y estrategias terapéuticas para este trastorno tan debilitante.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] S. Fahn, Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome, *Annals of the New York Academy of Sciences* 991. 2003. 1–14.
- [2] C.Warren Olanow, Anthony H.V. Schapira, José A. Obeso. Enfermedad de Parkinson y otras discinesias. En: Harrison. Principios de Medicina Interna. Mexico D.F; McGraw Hill; 2015, 2609-2613.
- [3] Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. *N Engl J Med.* 1998a; 339:1044–1053.
- [4] Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. Second of two parts. *N Engl J Med.* 1998b; 339:1130–1143.
- [5] Matthew P.Frosch, MD, PhD, Sistema Nervioso. En: Robbins, Patología Humana. Barcelona. Ed. Elsevier Saunders 8ª ed.;2009, 908-909.
- [6] Braak, H. *et al.* 2003. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging.* 24: 197–211.
- [7] Bingwei Lu, Stephan Gehrke, and Zhihao Wu. RNA Metabolism in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Brain Res.* 2014 Oct 10;1584:105-15.
- [8] Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science.* 2003; 302:819–822.
- [9] J.W. Langston, E.B. Langston, I. Irwin, MPTP-induced parkinsonism in human and non-human primates—clinical and experimental aspects, *Acta Neurologica Scandinavica* 100.1984.
- [10] D.J. Moore, A.B. West, V.L. Dawson, T. M. Dawson, Molecular pathophysiology of Parkinson's disease, *Annu. Rev. Neurosci.* 28 (2005) 57-87.
- [11] Liting Hang; John Thundyil; and Kah-Leong Lim. Mitochondrial dysfunction and Parkinson disease: a Parkin–AMPK alliance in neuroprotection. *Ann N Y Acad Sci.* 2015 Sep;1350:37-47.
- [12] Yoshii, S. R., Kishi, C., Ishihara, N., Mizushima, N. Parkin mediates proteasome-dependent protein degradation and rupture of the outer mitochondrial membrane. *J. Biol. Chem.* 286: 19630-19640, 2011.
- [13] Whitworth AJ, Theodore DA, Greene JC, Benes H, Wes PD, Pallanck LJ. Increased glutathione Stransferase activity rescues dopaminergic neuron loss in a Drosophila model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102:8024–8029.
- [14] Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature.* 1998; 392:605–608.
- [15] Unoki M, Nakamura Y. Growth-suppressive effects of BPOZ and EGR2, two genes involved in the PTEN signaling pathway. *Oncogene.* 2001; 20:4457–4465.
- [16] Park J, Lee SB, Lee S, Kim Y, Song S, Kim S, Bae E, Kim J, Shong M, Kim JM, et al. Mitochondrial dysfunction in Drosophila PINK1 mutants is complemented by parkin. *Nature.* 2006; 441:1157– 1161.
- [17] Clark IE, Dodson MW, Jiang C, Cao JH, Huh JR, Seol JH, Yoo SJ, Hay BA, Guo M. Drosophila pink1 is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature.* 2006; 441:1162–1166.
- [18] Yang Y, Gehrke S, Imai Y, Huang Z, Ouyang Y, Wang JW, Yang L, Beal MF, Vogel H, Lu B. Mitochondrial pathology and muscle and dopaminergic neuron degeneration caused by inactivation of Drosophila Pink1 is rescued by Parkin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:10793–10798.
- [19] Exner N, Treske B, Paquet D, Holmstrom K, Schiesling C, Gispert S, Carballo-Carbajal I, Berg D, Hoepken HH, Gasser T, et al. Loss-of-function of human PINK1 results in mitochondrial pathology and can be rescued by parkin. *J Neurosci.* 2007; 27:12413–12418.
- [20] Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, Suen DF, Gautier CA, Shen J, Cookson MR, Youle RJ. PINK1 Is Selectively Stabilized on Impaired Mitochondria to Activate Parkin. *PLoS Biol.* 2010; 8:e1000298.
- [21] van Duijn, C. M., Dekker, M. C. J., Bonifati, V., Galjaard, R. J., Houwing-Duistermaat, J. J., Snijders, P. J. L. M., Testers, L., Breedveld, G. J., Horstink, M., Sandkuijl, L. A., van Swieten,

- J. C., Oostra, B. A., Heutink, P. PARK7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am. J. Hum. Genet.* 69: 629-634, 2001.
- [22] Leroy, E., Boyer, R., Auburger, G., Leube, B., Ulm, G., Mezey, E., Harta, G., Brownstein, M. J., Jonnalagada, S., Chernova, T., Dehejia, A., Lavedan, C., Gasser, T., Steinbach, P. J., Wilkinson, K. D., Polymeropoulos, M. H. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. (Letter) *Nature* 395: 451-452, 1998.
- [23] Golbe, L. I., Di Iorio, G., Bonavita, V., Miller, D. C., Duvoisin, R. C. A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 27: 276-282, 1990.
- [24] Dachsel, J. C., Farrer, M. J. LRRK2 and Parkinson disease. *Arch. Neurol.* 67: 542-547, 2010.
- [25] Taylor JP, Mata IF, Farrer MJ. LRRK2: a common pathway for parkinsonism, pathogenesis and prevention? *Trends Mol Med.* 2006; 12:76–82.
- [26] Gehrke S, Imai Y, Sokol N, Lu B. Pathogenic LRRK2 negatively regulates microRNA-mediated translational repression. *Nature.* 2010; 466:637–641
- [27] Chen-Plotkin, A. S., Yuan, W., Anderson, C., Wood, E. M., Hurtig, H. I., Clark, C. M., Miller, B. L., Lee, V. M.-Y., Trojanowski, J. Q., Grossman, M., Van Deerlin, V. M. Corticobasal syndrome and primary progressive aphasia as manifestations of LRRK2 gene mutations. *Neurology* 70: 521-527, 2008.
- [28] Abahuni N, Gispert S, Bauer P, Riess O, Kruger R, Becker T, Auburger G. Mitochondrial translation initiation factor 3 gene polymorphism associated with Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2007; 414:126–129.
- [29] Behrouz, B.; Vilarino-Guell, C.; Heckman, M.G.; Soto-Ortolaza, A.I.; Aasly, J.O.; Sando, S.; Lynch, T.; Craig, D.; Uitti, R.J.; Wszolek, Z.K.; Ross, O.A.; Farrer, M.J. Mitochondrial translation initiation factor 3 polymorphism and Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.*, 2010, 486, 228-230.
- [30] E.C. Koc, L.L. Spemulli Identification of mammalian mitochondrial translational initiation factor 3 and examination of its role in initiation complex formation with natural mRNAs *J. Biol. Chem.*, 277 (2002), pp. 35541–35549
- [31] Anvret, A.; Ran, C.; Westerlund, M.; Thelander, A.C.; Sydow, O.; Lind, C.; Hakansson, A.; Nissbrandt, H.; Galter, D.; Belin, A.C. Possible involvement of a mitochondrial translation initiation factor 3 variant causing decreased mRNA levels in Parkinson's disease. *Parkinsons. Dis.*, 2010, 2010, 491751.