

Az örökletes Parkinson-kór mint a *POLG*-gén károsodásának új klinikai megjelenési formája

Illés Anett ▪ Balicza Péter dr. ▪ Gál Anikó dr.
Pentelényi Klára dr. ▪ Csabán Dóra ▪ Gézsi András dr.
Molnár Viktor dr. ▪ Molnár Mária Judit dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

A nukleárisan kódolt *POLG*-gén fehérjeterméke kulcsszerepet játszik a mitokondriális DNS replikációjának fenntartásában, és hibája különböző súlyosságú, több szervrendszert érintő betegségeket okoz. A klinikai spektrum rendkívül tág, a leggyakrabban előforduló tünetek közé tartozik többek között a ptosis, a myoclonus, az epilepszia, a myopathia, a szenzoros ataxia, a parkinsonizmus, a kognitív hanyatlás és az infertilitás is. Ma már ismert, hogy a Parkinson-kór kialakulása során a mitokondriális diszfunkció is nagy jelentőséggel bír a substantia nigra dopaminerg sejtjeinek elhalásában. Ezért a *POLG*-génben bekövetkező változások befolyásolhatják a különböző örökletes neurodegeneratív betegségeknél, így a monogén parkinsonizmus kialakulását is. A Parkinson-kór és a *POLG* kapcsolatáról azonban még kevés az elérhető információ, és ez idáig a magyar populációra vonatkozó adatok sem álltak rendelkezésünkre. Vizsgálatunk során 67 magyar, a parkinsonizmus tüneteit mutató páciens esetében újgenerációs szekvenálást végeztünk, és a *POLG*-génben található, potenciálisan káros variánsokat elemeztük. 3 beteg esetében azonosítottunk potenciálisan kóros eltérést. Közleményünkkel arra szeretnénk felhívni a figyelmet, hogy a parkinsonizmus differenciáldiagnóza során az esetleges *POLG* genetikai érintettségét is figyelembe kell venni. Különösen olyan plusztünetek jelenlétekor, mint az ophthalmoparesis, a nem vascularis típusú fehérállományi laesiók, a pszichiátriai komorbiditás és a tünetek viszonylag korai indulása. Korábbi irodalmi adatok és saját tapasztalataink alapján összefoglaltuk a *POLG*-asszociált parkinsonizmus lehetséges diagnosztikai megközelítését is. *Orv Hetil.* 2020; 161(20): 821–828.

Kulcsszavak: *POLG*, parkinsonizmus, Parkinson-kór, újgenerációs szekvenálás

Hereditary Parkinson's disease as a new clinical manifestation of the damaged *POLG* gene

The protein product of the nuclear-encoded *POLG* gene plays a key role in the maintenance of mitochondrial DNA replication, and its failure causes multi-system diseases with varying severity. The clinical spectrum is extremely wide, and the most common symptoms include ptosis, myoclonus, epilepsy, myopathy, sensory ataxia, parkinsonism, cognitive decline and infertility. Now, it is known that mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease plays a key role in the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra. Therefore, changes in the *POLG* gene may influence the development of various hereditary neurodegenerative diseases, including monogenic parkinsonism. However, only limited information is available on the relationship between Parkinson's disease and *POLG* gene and until now, there are no available data about the Hungarian population. In our study, we performed a next-generation sequencing study of 67 Hungarian patients with parkinsonism and analyzed the potentially damaging alterations in the *POLG* gene. 3 patients have been identified with a potential pathogen variant. In this study, we would like to call attention to the fact that during the differential diagnosis of parkinsonism, the possible involvement of *POLG* gene should be kept in mind. Especially in the presence of additional symptoms, such as ophthalmoparesis, non-vascular white matter lesions, psychiatric comorbidity, and relatively early age of onset, the *POLG* gene should be taken into consideration. Based on previous data from the literature and our own experience, we have summarized a possible diagnostic approach for *POLG*-associated parkinsonism.

Keywords: *POLG*, parkinsonism, Parkinson's disease, new-generation sequencing

Illés A, Balicza P, Gál A, Pentelényi K, Csabán D, Gézsi A, Molnár V, Molnár MJ. [Hereditary Parkinson's disease as a new clinical manifestation of the damaged *POLG* gene]. *Orv Hetil.* 2020; 161(20): 821–828.

(Beérkezett: 2020. január 7.; elfogadva: 2020. január 27.)

Rövidítések

IKGP = (1000 Genomes Project) 1000 Genom Projekt; ACMG = (American College of Medical Genetics and Genomics) Amerikai Orvosi Genetika és Genomika Testület; ANS = ataxiás neuropathia szindróma; AS = (Alpers syndrome) Alpers-szindróma; ClinVar = (clinical interpretation of genetic variants) a genetikai variánsok klinikai értelmezése; DATscan = (dopamine transporter scan) dopamintranszporter-vizsgálat; dbNSFP = database for nonsynonymous SNPs' functional predictions; DBS = (deep brain stimulation) mély agyi stimuláció; DNS = dezoxiribonukleinsav; ESP = (Exome Sequencing Project) Exomszekvenálás Projekt; exo = exonukleáz domén; GATK = (genome analysis toolkit) genomelemző eszközkészlet; gnomAD = (Exome Aggregation Consortium Database and Genome Aggregation Database) genomaggregációs adatbázis; LCIG = (levodopa-carbidopa intestinal gel) levodopa/karbidopa intestinalis gél; link = linker régió; MAF = minorallél-frekvencia; MD = (mitochondrial disorders) mitokondriális rendellenességek; MDS = (Movement Disorder Society) Nemzetközi Mozgászavar Társaság; MR = mágneses rezonancia; mtDNS = mitokondriális DNS; NEPSYBANK = (Neurological-Psychiatric Biobank) Neurológiai-Pszichiátriai Biobank; NGS = (next-generation sequencing) újgenerációs szekvenálás; *PARK7* = Parkinsonism-associated deglycase, protein deglycase DJ-1; PD = (Parkinson's disease) Parkinson-kór; PEO = (progressive external ophthalmoplegia) progresszív externális ophthalmoplegia; *PINK1* = PTEN-induced kinase-1; pol = polimeráz domén; *POLG* = mitokondriális DNS-polimeráz- γ katalitikus alegység; *PRKN* = parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase; VCF = (variant call format) variánskivonatoló formátum

A mitokondriális DNS-polimeráz- γ (*polg*) egy olyan fehérje, mely a mitokondriális DNS (mtDNS) replikációjáért felel. Mivel minden sejtben több száz mitokondrium van, fontos, hogy a replikáció hibátlan legyen. A *POLG*-fehérje hibáiból fakadóan másodlagos mtDNS-mutációk (deletiók, duplicációk, depletiók, esetleg pontmutációk) jelenhetnek meg [1]. A mtDNS-ben bekövetkező deletiók és pontmutációk, illetve a mtDNS depletiója különböző súlyosságú mitokondriális betegségekkel mutatnak összefüggést, de az öregedés során is megfigyelhetők [2]. A *POLG*- (DNS-polimeráz- γ katalitikus alegység) génnek három doménje van: 1. exonukleáz domén (*exo*), 2. linker régió (*link*), 3. polimeráz domén (*pol*) [3]. Jelenlegi ismereteink alapján körülbelül 300 olyan eltérést azonosítottak a génben, amelyek különböző betegségekhez kapcsolhatók (Human DNA Polymerase Gamma Mutation Database) [4]. A *POLG*-gén hibájához társított betegségek közé tartozik többek között a progresszív externális ophthalmoplegia (PEO), az Alpers-szindróma (AS), az ataxiás neuropathia szindróma (ANS) és a myocerebrohepatopathia spektrum betegség. A klinikai spektrum nagyon széles, a leggyakrabban társított tünetek közül a myoclonus, az epilepszia, a myopathia, a szenzoros ataxia, a kognitív hanyatlás és az infertilitás emelendő ki [4]. Ezzel szemben a Parkinson-kór és a *POLG* társulásáról ritkábban olvashatunk.

A Parkinson-kór kialakulása során az oxidatív stressz, a mitokondriális diszfunkció és a fehérjeaggregáció is

szerepet játszik a dopaminerg neuronok pusztulásában a substantia nigra területén [5]. Ezt támasztja alá az is, hogy a parkinsonizmust okozó leggyakoribb gének közül a *PRKN*-, a *PINK1*- és a *PARK7*-gén mutációi is rendelkeznek a mitokondriumhoz kapcsolódó funkcióval [6]. A mitokondriális légzési lánc kémiai gátlása a dopaminerg neuronok pusztulásához és így parkinsonizmus kialakulásához vezet [7]. A dopaminerg neuronokban kimutathatóan magasabb a mitokondriális DNS mutációs rátája [8]. Mivel ez utóbbit a *POLG*-fehérje hibás működése is okozhatja, a *POLG*-génben bekövetkező változások fontos szerepet játszhatnak a különböző örökletes neurodegeneratív betegségek, így a monogénes parkinsonizmus kialakulásában is. *Luoma és mtsai* már 2004-ben hét családban igazolták feltételezésüket, miszerint a *POLG*-fehérje *pol* doménjét érintő mutációk bizonyos esetekben specifikusan parkinsonizmusként manifesztálódhatnak [1]. A dopaminerg neuronokban a *pol* doménben bekövetkező mutációk elsősorban az oxidatív stressz hatásának fokozásán keresztül vezethetnek parkinsonizmus kialakulásához, de ismertek olyan patogén eltérések is, melyek a gén más régióját érintik [3, 9]. Számos, képzakotással foglalkozó tanulmány szerint a *POLG*-eltéréssel rendelkező betegeknél a substantia nigrában súlyos és progresszív dopaminergneuron-pusztulás detektálható [1, 3, 10, 11]. Az újgenerációs szekvenálás térhódításával a heterogén genetikai háttérrel rendelkező betegségek vizsgálata során lehetőség van egyszerre sok gén analízisére, ami felgyorsíthatja a diagnosztikai utat, így a beteg is hamarabb juthat hozzá a számára legmegfelelőbb terápiához [12, 13].

A legtöbb esetben az azonosított *POLG*-mutációk összetett heterozigóta vagy homozigóta misszensz szubsztitúciók, melyek közül egyesek már heterozigóta formában is összefüggésbe hozhatók bizonyos neurodegeneratív betegségekkel, mint például a PEO, az AS és a mitokondriális recesszív ataxia szindróma. *Murgai és mtsai* szerint a heterozigóta mutációk szubklinikus vagy enyhébb fenotípussal és későbbi indulással manifesztálódhatnak [14]. Számos, korábban leírt *POLG*-variáns homozigóta, összetett heterozigóta és heterozigóta formában is leírtak olyan betegekben, akik a parkinsonizmus tüneteit mutatták akár PEO-val, akár a nélkül (*P587L*, *R722H*, *G737R*, *W748S*, *Y831C*, *R853W*, *E856K*, *R993C*, *E1143G*, *S1230F*, *Q1236H*) [3].

Célkitűzés

Kutatásunk célja a monogénes parkinsonizmus és a *POLG*-gén kapcsolatának vizsgálata volt a magyar populációban. Vizsgálataink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a parkinsonizmusban szenvedő betegek esetében milyen előfordulási gyakoriság jellemzi a *POLG*-gén mutációit. Korábbi irodalmi adatok alapján feltételeztük, hogy az érintett betegek körében azonosítható patogén kóroki eltérés [15].

Módszer

A tanulmányozott kohorsz

A vizsgált kohorszba 67 magyar páciens-t vontunk be, akik a Movement Disorder Society (MDS) kritérium-rendszere alapján a parkinsonizmus tüneteit mutatták (bradykinesia együttesen vagy tremorral, vagy rigiditással, vagy mindkettővel) [16]. A diagnózist minden esetben neurológus szakorvosok állították fel. Elsősorban olyan betegek genetikai vizsgálatára összpontosítottunk, akiknél nagyobb volt a valószínűsége a monogénes hátternek. Ezért a pozitív családi anamnézissel rendelkező betegek mellé ($n = 37$) korai indulású sporadikus ($n = 30$) betegeket válogattunk a kohorszba. A tünetek megjelenésének átlagos ideje $40,7 \pm 12,35$ év volt. A kontrollcsoportot nem rokon, egészséges alanyok alkották ($n = 55$, a tünetek megjelenésének átlagos ideje: $59,7 \pm 17,80$ év). A másodlagosan kialakult parkinsonizmust (vascularis, gyógyszer indukálta stb.) kizártuk vizsgálati csoportunkból.

A betegek és a kontrollszemélyek a Semmelweis Egyetem Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézetének NEPSYBANK biobankjából kerültek kiválogatásra [17]. Az írásos beleegyező nyilatkozatok a helsinki egyezmény értelmében aláírásra kerültek a betegek és a kontrollok esetében is, a vérvétel és a molekuláris genetikai analízis elvégzése előtt. A tanulmányt a Tudományos és Kutatásügyi Bizottság is elfogadta. A molekuláris genetikai analízis minden páciens esetében diagnosztikai célzattal készült el.

Molekuláris genetikai elemzés

A DNS-izolálás QIAamp DNA Blood Mini Kit segítségével történt a gyártói protokoll szerint (QIAGEN, Hilden, Germany). A vizsgálatba bevont 67 beteg közül teljesexom-analízis készült 16 esetben, célzott újgenerációs szekvenálás 51 esetben. Ez utóbbi esetben a neurodegeneratív betegségek hátterében a leggyakrabban érintett géneket szekvenáltuk. A genomiális DNS-könyvtárak készítéséhez Agilent SureSelectQXT Human All Exon v5 és SureSelectQXT Target Enrichment for Illumina Multiplexed Sequencing reagenseket használtunk a gyártói protokoll szerint (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Amerikai Egyesült Államok [USA]). A könyvtárkészítést követően az újgenerációs szekvenáláshoz az alábbi vegyszereket használtuk: Illumina HiSeq PE Cluster Kit v4-et a klasztergeneráláshoz cBot készüléken, HiSeq SBS Kit v4-et a szekvenáláshoz HiSeq2500 készüléken és MiSeq Reagent Kit v2-t (300-cycles) a szekvenáláshoz MiSeq készüléken (Illumina, San Diego, CA, USA).

Bioinformatikai elemzés

Az NGS-adatokból történő variánshívás GATK HaplotypeCaller (version 3.3-0) szoftverrel történt, a GATK

Best Practices iránymutatásai szerint [18]. Az ún. Variant Call Format (VCF-) fájlok az SnpEff szoftverrel [19], a ClinVar [20] és a dbNSFP [21] adatbázisok alapján kerültek annotálásra. A variánsok szűrése a szekvenálási adatokból a Budapesti Műszaki Egyetemen fejlesztett VariantAnalyzer szoftverrel történt. Az újonnan leírt variánsok klasszifikációja az American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) iránymutatásai szerint zajlottak [22, 23]. A variánsok minorallél-frekvenciáját (MAF) is figyelembe vettük, a ritka variánsokat az 1%-nál kisebb MAF mentén definiáltuk. A MAF értékét az alábbi adatbázisok felhasználásával becsültük meg: 1000 Genomes Project (1KGP), Exome Sequencing Project (ESP) és Exome Aggregation Consortium Database and Genome Aggregation Database (gnomAD v2.1), referenciaként a non-neuro (non-Finnish) populációt felhasználva.

Az analízis során a következő lépés az ismert betegséggel kapcsolt variánsok, valamint a fehérje funkciójára káros predikciós pontokkal rendelkező nem szinonim variánsok kiválasztása volt. A funkcióvesztéssel járó variánsokat (nonszensz, stop vesztes/nyerés, leolvasási kereteltolódás, kanonikus splice) és a misszensz eltéréseket, amelyeket párhuzamosan több predikciós algoritmus is károsnak jósolt, megőriztük a további elemzésre. Azokat a variánsokat, amelyek megfeleltek ezeknek a kritériumoknak, valamint hiányoztak a kontrollcsoportból, károsító mutációként jelöltük meg, és Sanger-szekvenálással validáltuk. Azokban az esetekben, amikor lehetőségünk volt rá, a családtagokat is megvizsgáltuk a detektált variánssra.

Eredmények

A *POLG*-gén teljes kódoló régióját 67, a parkinsonizmus tüneteivel kezelt beteg esetében elemeztük. Az analízis során 6, aminosavcserével járó eltérést azonosítottunk. A 6 különböző eltérés közül kettőt korábban polimorfizmusként írtak le (E1143G és Q1236H) [24, 25]. Az E1143G-aminosavcserével járó szubsztitúciót 5 betegben és 8 kontrollban, míg a Q1236H-variánst 16 betegben és 6 kontrollban azonosítottuk. A későbbiekben bemutatásra kerülő további 4 eltérést az 1. táblázatban foglaljuk össze. A korábbi irodalmi adatok alapján potenciálisan kóros eltérést találtunk két további betegben: a T251I + P587L összetett heterozigóta eltérést az 1. esetben, és a G737R-variánst a 3. esetben. Továbbá egy eddig még nem leírt aminosavcserét (H613D) azonosítottunk a 2. esetben.

Első eset

Az 57 éves férfi páciens betegsége 41 éves kora körül a bal kéz ügyetlenségével, merevségével kezdődött, később a bal lábát is nehezebben mozgatta. Vizsgálatokor aszimmetrikus kevert tónuszavart (rigor és spasticitas) és dysdiadochokinesist találtunk, tremor nem volt jelen.

1. táblázat | A *POLG* génben azonosított valószínűleg patogén, illetve bizonytalan jelentőségű misszensz variánsok

Variáns	Rs-azonosító	Fehérje domén	Zigotizás	Klinikai jelentőség	ACMG-klasszifikáció	MAF	Betegek	Kontrollok	Ref.
T251I/c.752C>T	rs113994094	exo	összetett het	P	LP	<0,01	P1	0	[4, 24]
P587L/c.1760C>T	rs113994096	linker		P	LP	<0,01	P1	0	
H613D/c.1837C>G	–	linker	het	VUS	LP	<0,01	P2	0	*
G737R/c.2209G>C	rs121918054	linker	het	P(AR)	LP	<0,01	P3	0	[25, 26]

*Ebben a tanulmányban került elsőként leírásra.

exo = exonukleáz domén; het = heterozigóta; LP = valószínűleg patogén; MAF = minorallél frekvencia; P = patogén; US = bizonytalan jelentőségű eltérés;

A koponya-MR nem talált eltérést. A DATscan-vizsgálat csökkent dopamintranszporter-szintet jelzett mindkét oldalon a putamenben és a nucleus caudatusban, jobb oldali túlsúllyal. A betegség előrehaladtával motoros és nem motoros fluktuáció jelentkezett, az OFF fázisokban a törzs izmaiban és a végtagokban fájdalmas dystoniával. Emellett pszichés tünetek, dysthymia és anxietas is megjelentek. A nem motoros tünetek közül obstipatio, alvászavar és krónikusfájdalom-szindróma volt jelen. Szemmozgászavart nem láttunk, de a beteg időszakos diplopiáról számolt be. A későbbiekben súlyosbodó dysarthria, vegetatív zavarok és dopamindiszregulációs szindróma is megjelent. A súlyos motoros fluktuáció miatt DBS-beültetésre került sor. Kognitív hanyatlás nem igazolódott, a beteg dysthymiás.

A családi anamnézisben apai ágon depresszió és suicidum szerepel. A genetikai analízis során a *POLG*-gén T251I és a P287L összetett heterozigóta eltérését azonosítottuk. Szegregációs elemzést nem állt módunkban végezni, de az irodalmi adatok alapján a két eltérés valószínűleg egy allélon van, ugyanis *Aitken és mtsai* egy 58 éves nő betegéről számoltak be, aki azonos mutációkkal rendelkezett, és klinikailag homályos látás, mindkét oldali ptosis, diplopia, nyugtalanláb-szindróma és végtagyengesség jellemezte [26].

Második eset

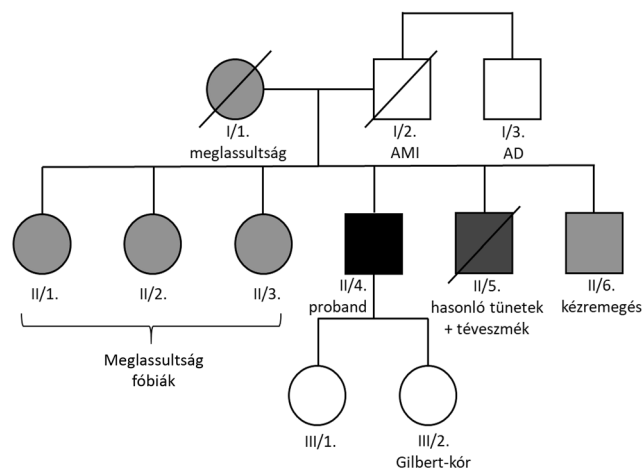
A 72 éves férfi betegsége 59 évesen, akinetikus-rigid tünetekkel és dominánsan járászavarral indult. A betegség lassan progrediált. Már a korai szakaszától jellemző volt az orthostaticus hypotensio. A koponya-MR nem vascularis jellegű fehérállományi jelzavart talált. A parkinsonizmus jelei mellett balra tekintéskor enyhe tekintésirányú nystagmust, valamint enyhe cervicalis dystoniát azonosítottunk.

Családi anamnéziséből kiemelendő, hogy egyik bátyjának is hasonló tünetei voltak, valamint súlyos téveszmékkel is küzdött (70 éves korában exitált). A probandnál 10 évvel idősebb másik bátyját tremor miatt vizsgálták. További három lánytestvérénél meglassultság és főbiás tünetek emelendő ki. A proband édesapja 63 éves korában exitált akut myocardialis infarctus követ-

kezében, az apja testvére Alzheimer-kóros volt. A proband édesanyja szintén meglassult volt, de nagyobb betegségről nem tudnak, 93 éves korában exitált. A proband egyik lányának Gilbert-kórja van (1. ábra). A genetikai vizsgálat a H613D/c.1837C>G eltérést azonosította, mely az irodalomban eddig még nem került leírásra, és a gnomAD adatbázisban sincs jelen; a predikációs pontszámok és az ACMG-besorolás szerint valószínűsíthetően patogén eltérés.

Harmadik eset

A 69 éves férfi páciensnek 58 éves korában kezdődött a betegsége akinetikus-rigid tünetekkel. A beteget 54 éves kora óta depresszióval kezelték, 64 éves korában paranoiditás, élénk álmok és pánikrohamok jelentkeztek. Később kognitív hanyatlás indult. 60 éves kora körül jelentős szubjektív panaszokat okozó sensoros neuropathia



1. ábra

A 2. esetet bemutató családfa

Az általunk azonosított mutációt a II/4. beteg hordozza. A II/5. testvérnek hasonló tünetei és súlyos téveszméi voltak. A II/6. testvérnek kézremegése van. A II/1., 2., 3. testvéreknél meglassultság és főbiás mechanizmusok jelentkeztek. Az I/2. édesapa AMI következtében exitált, az I/3. apai nagybátyja Alzheimer-kóros, és az I/1. édesanya meglassult volt. A III/2. gyermeknek Gilbert-kórja van

AMI = akut myocardialis infarctus; AD = Alzheimer-kór

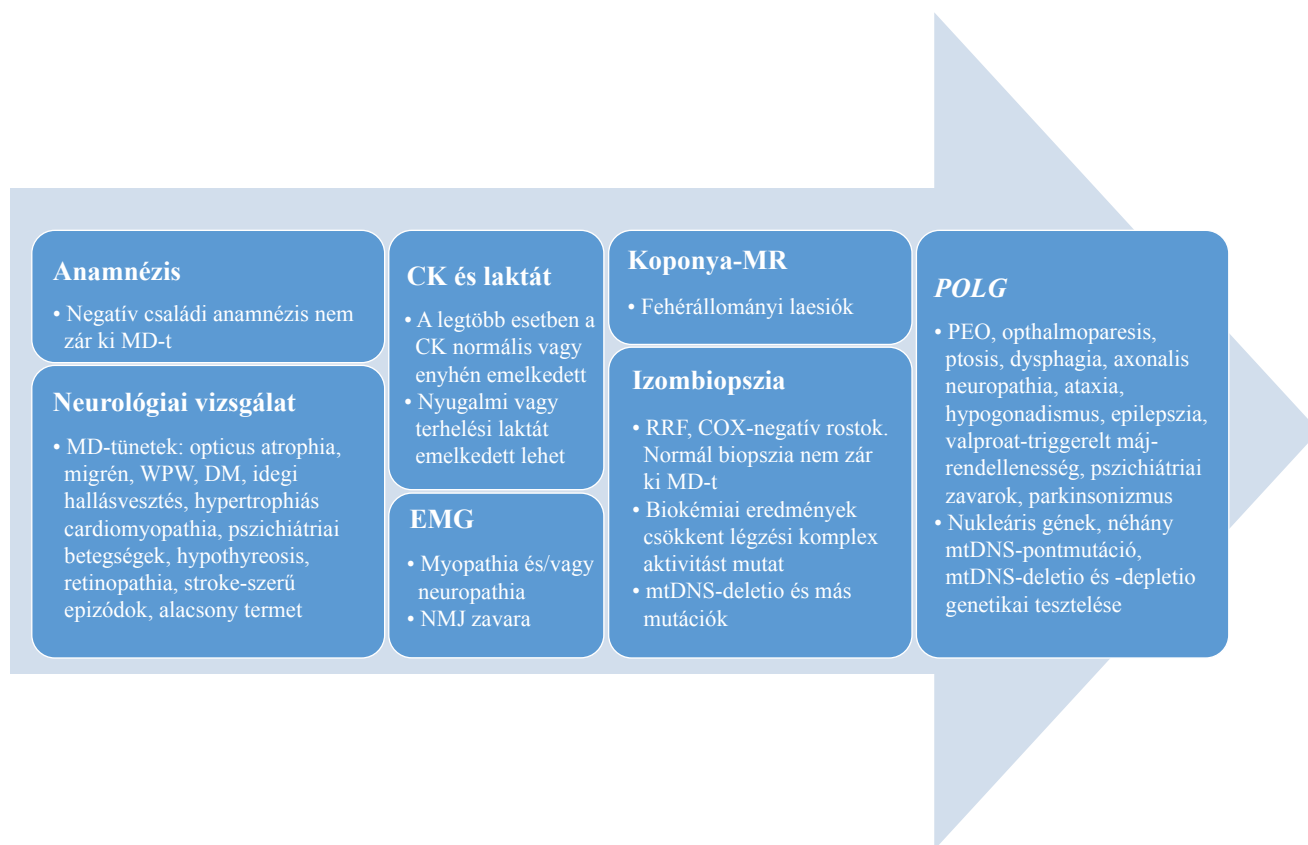
jelentkezett. A beteg 62 éves korában a proximális izmok gyengesége miatt elektrofiziológiai vizsgálat történt, mely a neuromuscularis junctio jelátviteli zavarát feltételezte, amely miatt piridosztigmin szedését javasolták. A koponya-MR-en mérsékelt cerebrális és cerebellaris atrophia és bizonytalan jelentőségű fehérállományi laesiók is ábrázolódtak. A DATscan egyértelmű dopaminerg károsodást igazolt. Kezdetben jól reagált a levodopakezelésre, de néhány év múlva motoros fluktuáció alakult ki, és a levodopaigény is jelentősen megnőtt. Később súlyos motoros fluktuáció, az OFF fázisban dystonia és neuropathiás fájdalom jelentkezett. A fentiek miatt LCIG- (levodopa/karbidopa intestinalis gél) kezelést kezdtek. Jelenleg a betegség előrehaladott stádiumban van, gyakori a lefagyás, a tartási instabilitás és a súlyos dysarthria.

A családi anamnéziséből kiemelendő, hogy mind anyai, mind apai ágon hasonló tünetek ismertek (édessanyja, anyai nagyanyja és édesapja is hasonló tünetekkel, többek között kézremegéssel küzdött). A detektált G737R-aminosavcserét eddig egy esetben írták le összetett heterozigóta formában, korai kezdetű parkinsonizmussal asszociálva [27].

Megbeszélés

A *POLG* diszfunkciója nagyon széles fenotípuspektrumot idézhet elő. Egyrésztől súlyos, progresszív, multisztémás betegséget okozhat, mint például az Alperszindróma. Más esetekben izolált progresszív ophthalmoplegia alakul ki, de nem ritkák a pszichiátriai betegségek sem. Ezekben a klasszikus *POLG* asszociált mendeli betegségekben sokszor autoszomális recesszív öröklésmentet írtak le, de olvashatunk autoszomális domináns öröklésmentről is [28]. Elképzelhető, hogy a heterozigóta *POLG*-mutáció nem klasszikus mitokondriális betegséget okoz, hanem enyhébb, később manifesztálódó kórképek alakulnak ki, mint például a parkinsonizmus vagy a korai menopauza [1].

A sporadikus és idiopathiás Parkinson-kór patogenezisének hátterében már régóta ismert a mitokondriális diszfunkció szerepe [29]. Bizonyos esetekben a mtDNS elsődleges genetikai hibája, míg jóval gyakoribb esetben a *POLG*-gén mutációjának következményeként másodlagosan keletkezett átrendeződések direkt módon okozhatnak parkinsonizmust [29]. Parkinson-kórban szenvedő



2. ábra

A *POLG*-asszociált parkinsonizmus diagnosztikai megközelítése

A mitokondriális rendellenességek (MD) diagnosztikai megközelítése parkinsonizmusban szenvedő betegekben. Ezt az ábrát folyamatábrának tekintjük, de a valódi diagnosztikai folyamat a beteg konkrét klinikai megjelenésétől függ, és nem egy mereven definiált folyamat. A *POLG*-val kapcsolatos rendellenességek esetében piros zászló lehet a Parkinson-kórban szenvedő betegek/családok esetében, ha a fent felsorolt tünetek közül is azonosítható valamelyik [29]

COX = citokrom-c-oxidáz; DM = diabetes mellitus; EMG = elektromiográfia; mtDNS = mitokondriális DNS; NMJ = neuromuscularis junctio; RRF = ragged red fiber; WPW = Wolff-Parkinson-White-szindróma

dő pácienseknél ritkán előfordulhatnak olyan tünetek, amelyek *POLG*-asszociált mitokondriális betegségre utalhatnak, mint például a ptosis, a myopathia és a neuropathia [29]. Ugyanakkor *Davidzon és mtsai* olyan korai indulású parkinsonizmus hátterében azonosítottak kóroki variánsokat, amelyeknél a tünetek között nem volt jelen PEO [27]. Kérdés továbbá, hogy a heterozigóta *POLG*-gén mutációja major vagy minor hatású a parkinsonizmus patogenezisében. *Murgai és mtsai* szerint a heterozigóta mutációk szubklinikai vagy enyhébb fenotípussal és későbbi indulással manifesztálódhatnak, feltételezhetően a különböző epigenetikai mechanizmusok következtében [14].

A mitokondriális parkinsonizmusnak, jelenlegi tudásunk szerint, nincs egyértelmű megkülönböztető jele, amely lehetővé tenné az azonnali diagnózist. Továbbá a negatív családi anamnézist sem tekinthetjük kizáró kritériumnak [29]. Az egyes jellemzők azonban segítséget nyújthatnak. A *POLG*-asszociált parkinsonizmusról általánosságban elmondható, hogy a tünetek 50 éves kor körül jelennek meg, csökken a dopaminfelvétel a striatumban, és általában jól reagálnak levodopára vagy dopaminagonistákra [30]; ez a mi betegeink esetében is igaz volt. Ezenkívül sok esetben a levodopa indukálta dyskinesia és a motoros fluktuáció is jellemző, amelyek szintén azonosíthatók voltak betegeinkben is [31]. A szemmozgás zavara, a koponya-MR, a pszichiátriai komorbiditás, a neuromuscularis junctio zavara, a neuropathia és a fehérállományi laesio is felvetheti a *POLG* szerepét a betegség patomechanizmusában. A parkinsonizmus és a *POLG*-mutációk együttes jelenléte az általunk vizsgált betegekben arra utalhat, hogy a *POLG* hibája a parkinsonizmus monogénes oka is lehet egyes esetekben. Ennek az összefüggésnek a hangsúlyozása klinikai szempontból is jelentőséggel bírhat. Amennyiben felvetődik a genetikai érintettség lehetősége a parkinsonizmus tüneteit mutató betegnél, a *POLG*-gén szekvenálását is meg kell fontolni. A *POLG*-asszociált parkinsonizmus esetében az izomgyengeséggel járó PEO, a neuromuscularis junctio zavara és a neuropathia a parkinsonizmus tüneteivel keverten jelentkezhet, amelyek a beteg gyógyszeres kezelésének módosítását tehetik szükségessé. A *POLG*-gén mutációjával érintett mitokondriális betegek esetében jelen pillanatban a mitokondriális koktél a bevált terápia, mely a mitokondriális oxidatív foszforilációt támogató koenzim-Q10-ből, a DNS-replikációt és -transzlációt támogató folsavból, valamint szabadgyök-fogókból áll, mint például a nagy dóziszú C-vitamin. Ezt egészíti ki a mitokondriális biogenezist fokozó, aerob jellegű tréning. A jelenleg fejlesztés alatt álló, a mitokondriális funkció javítását célzó készítmények is nagy valószínűséggel hatásosak lesznek ebben a betegcsoportban. A 2. ábrán a *POLG*-asszociált parkinsonizmus lehetséges diagnosztikai megközelítését foglaltuk össze.

A 67, parkinsonizmusban szenvedő beteg vizsgálata során három, familiáris esetben azonosítottunk potenciális kóroki variánst a *POLG*-gén esetében (8,11% a fami-

liáris esetekben és 4,48% a teljes vizsgált kohorszban). Itt fontos megjegyezni, hogy az erősen szelektált kohorsz miatt ez az előfordulási gyakoriság a teljes PD-vel érintett populációban jelentősen eltérhet, ami nehezíti az összehasonlítást más populációkban tapasztalt gyakorisági mutatókkal. Emiatt különösen fontos a *POLG*-gén további vizsgálata egy nagyobb magyar kohorszban is. Mindazonáltal már ebből a korlátozott esetszámú tanulmányból látható, hogy a *POLG*-mutáció gyakorisága a parkinsonizmusban szenvedő páciensek körében összehasonlítható az egyéb, Parkinson-kórral asszociált gének mutációs gyakoriságával [32, 33]. Ezt különösen azért fontos hangsúlyozni, mert egyre nagyobb figyelem irányul a primer mitokondriális génhibából fakadó Parkinson-kórra (*PRKN/PINK1/PARK7*). Ennek ellenére a többarcú mitokondriális diszfunkciót okozó *POLG*-gén mutációja csak ritkán merül fel a parkinsonizmus hátterében.

Az azonosított variánsok közül a T251I/P587L mutáció a negyedik leggyakoribb humán *POLG*-eltérés [34]. Habár a biokémiai vizsgálatok igazolták, hogy a P587L-variáns károsabban hat a fehérje szerkezetére, a T251I ezt szinergisztikusan befolyásolja, súlyosan károsítva a katalitikus aktivitást [4]. *Scuderi és mtsai* 2015-ben részletes listát tettek közzé a klinikai fenotípusról és a genetikai eltérésekről, amelyekben korábban a T251I/P587L aminosavcserék együttes jelenlétét is detektálták [35]. A fő klinikai képet a PEO uralja, ptosisal vagy a nélkül, és a másodlagos klinikai tünetek közé tartozik az ataxia, a myopathia, az epilepszia, a neuropathia, a májbetegségek és a parkinsonizmus. A tünetek megjelenésének ideje is nagyon változatos, és nem figyeltek meg a nemmel összefüggő mintázatot sem. A T251I-eltérés az exonukleáz, a P587L-eltérés pedig a linker régióban található [4]. Több korábbi esetben felmerült ennek az összetett heterozigóta mutációnak az autoszomális domináns jellege [26, 36–38]. A 2. esetben leírt H613D/c.1837C>G eltérés az irodalomban eddig még nem került leírásra, és a gnomAD adatbázisban sincs jelen. A variánst 8 predikciós algoritmus is károsnak ítélte, és az ACMG-klasszifikáció alapján valószínűsíthetően patogén besorolást kapott. Az azonos pozícióban korábban leírt H613Y-aminosavcserét heterozigóta formában azonosították egy férfi betegben, akinek a főbb tünetei a ptosis, a myopathia, a súlyos cerebellaris atrophia, a dysarthria és az enyhe kognitív hanyatlás volt [39]. A 3. esetben detektált G737R-aminosavcserét eddig egy esetben írták le összetett heterozigóta formában korai kezdetű parkinsonizmussal asszociálva [27]. Ezenkívül leírásra került korai kezdetű axonális Charcot–Marie–Tooth-betegséggel [40], epilepsiával és májelégtelenséggel [41] összetett heterozigóta formában. Megjegyzendő, hogy az eddig közölt esetekben jóval korábbi indulású volt a betegség, mint a mi páciensünk esetében. A korábbi irodalmi adatok és a magyar populációban kapott eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a parkinsonizmus differenciáldiagnózisa során az esetleges *POLG*

genetikai érintettségét figyelembe kell venni. Különösen olyan plusztünetek jelenlétekor, mint az ophthalmoparesis, a nem vascularis típusú fehérállományi laesiók, a pszichiátriai komorbiditás és a korai betegségkezdés.

Továbbá fontos figyelembe venni azt a lehetőséget is, hogy a többszörös *POLG*-mutáción kívül egyéb tényezők is hozzájárulhatnak a klinikai kép manifesztálódásához, a betegség súlyosságát és a tünetek megjelenésének idejét befolyásolva. Ilyen befolyásoló tényezők lehetnek egyéb nukleáris mitokondriális génekben bekövetkező mutációk, a megváltozó interakciók más mtDNS-replikációban szerepet játszó fehérjékkel, a mtDNS-heteroplazmia, az epigenetikai faktorok és a gén-környezet interakciók is.

Anyagi támogatás: A közlemény megírását a Nemzeti Kutatási Program KTIA_NAP_2017-1.2.1-NKP-2017-00002. számú pályázata és a Semmelweis Egyetem „Az orvos-, egészségtudományi- és gyógyszerészképzés tudományos műhelyeinek fejlesztése” EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009. számú pályázata támogatta.

Szerzői munkamegosztás: I. A.: A genetikai vizsgálatok laboratóriumi elvégzése, az exomszekvenálási adatok értékelése, irodalomkutatás, a közlemény megírása. B. P.: Betegvizsgálat, a kézirat kritikus átolvasása. Gál A., P. K.: A kézirat kritikus átolvasása. Cs. D.: A genetikai vizsgálatok elvégzése, a kézirat kritikus átolvasása. Gézsi A., M. V.: Az exomszekvenálási adatok értékelése. M. M. J.: Betegvizsgálat, a közlemény megírása, irodalomkutatás, a kézirat kritikus átolvasása. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk valamennyi neurológuskollégának, akik beteget delegáltak a vizsgálatba: *Bereznai Benjámin* (Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Semmelweis Egyetem, Budapest), *Kovács Tibor*, *Takáts Annamária* és *Tamás Gertrúd* (Semmelweis Egyetem, Neurológiai Klinika, Budapest), *Hidasi Eszter* (Debreceni Egyetem, Neurológiai Klinika, Debrecen), *Diószeghy Péter* (Jósa András Oktatókórház, Nyíregyháza), *Klivényi Péter* (Szegedi Tudományegyetem, Neurológiai Klinika, Szeged). Továbbá köszönettel tartozunk az esetközlésben szereplő betegeknek és családjaiknak a vizsgálatban történő részvételért. A Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete az ERN-RND hálózat tagja.

Irodalom

- [1] Luoma P, Melberg A, Rinne JO, et al. Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase γ mutations: clinical and molecular genetic study. *Lancet* 2004; 364: 875–882.
- [2] Reeve AK, Krishnan KJ, Elson JL, et al. Nature of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons. *Am J Hum Genet*. 2008; 82: 228–235.
- [3] Hsieh PC, Wang CC, Tsai CL, et al. *POLG* R964C and *GBA* L444P mutations in familial Parkinson's disease: case report and literature review. *Brain Behav*. 2019; 9: e01281.
- [4] DeBalsi KL, Longley MJ, Hoff KE, et al. Synergistic effects of the in *cis* T251I and P587L mitochondrial DNA polymerase γ disease mutations. *J Biol Chem*. 2017; 292: 4198–4209.
- [5] Chen C, Turnbull DM, Reeve AK. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease – cause or consequence? *Biology (Basel)* 2019; 8: 38.
- [6] Tan SH, Karri V, Tay NW, et al. Emerging pathways to neurodegeneration: dissecting the critical molecular mechanisms in Alzheimer's disease, Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother*. 2019; 111: 765–777.
- [7] Luoma PT, Eerola J, Ahola S, et al. Mitochondrial DNA polymerase gamma variants in idiopathic sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2007; 69: 1152–1159.
- [8] Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, et al. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet*. 2006; 38: 515–517.
- [9] Schapira AH, Gegg M. Mitochondrial contribution to Parkinson's disease pathogenesis. *Parkinsons Dis*. 2011; 2011: 159160.
- [10] Delgado-Alvarado M, de la Riva P, Jiménez-Urbieto H, et al. Parkinsonism, cognitive deficit and behavioural disturbance caused by a novel mutation in the polymerase gamma gene. *J Neurol Sci*. 2015; 350: 93–97.
- [11] Tzoulis C, Tran GT, Schwarzmüller T, et al. Severe nigrostriatal degeneration without clinical parkinsonism in patients with polymerase gamma mutations. *Brain* 2013; 136: 2393–2404.
- [12] Balicza P, Grosz Z, Bencsik R, et al. Significance of whole exome sequencing in the diagnostics of rare neurological diseases – own experiences through a case presenting with ataxia. [A teljes exomszekvenálás jelentősége a ritka neurológiai betegségek diagnosztikájában – saját tapasztalatok egy ataxiás eset kapcsán.] *Orv Hetil*. 2018; 159: 1163–1169. [Hungarian]
- [13] Mihály Zs, Gyórfy B. Next generation sequencing technologies (NGST) development and applications. [Következő generációs szekvenálási technológiák kifejlesztése és alkalmazásai.] *Orv Hetil*. 2011; 152: 55–62. [Hungarian]
- [14] Murgai AA, Jog MS. Can heterozygotes of autosomal recessive disorders have clinical manifestations? *Mov Disord*. 2018; 33: 1368–1369.
- [15] Ylönen S, Ylikotila P, Siitonen A, et al. Variations of mitochondrial DNA polymerase γ in patients with Parkinson's disease. *J Neurol*. 2013; 260: 3144–3149.
- [16] Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015; 30: 1591–1601.
- [17] Molnár MJ, Bencsik P. Establishing a Neurological-Psychiatric Biobank: Banking, informatics, ethics. *Cell Immunol*. 2006; 244: 101–104.
- [18] Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, et al. From FastQ data to high-confidence variant calls: the genome analysis toolkit best practices pipeline. *Curr Protoc Bioinform*. 2013; 43: 11.10.1–11.10.33.
- [19] Cingolani P, Platts A, Wang LL, et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w¹¹¹⁸; iso-2; iso-3. *Fly (Austin)* 2012; 6: 80–92.
- [20] Landrum MJ, Lee JM, Benson M, et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res*. 2016; 44: D862–D868.
- [21] Liu X, Jian X, Boerwinkle E. dbNSFP v2.0: a database of human non-synonymous SNVs and their functional predictions and annotations. *Hum Mutat*. 2013; 34: E2393–E2402.
- [22] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genom-

- ics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17: 405–423.
- [23] Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med.* 2011; 13: 680–685.
- [24] Zabalza R, Nurminen A, Kaguni LS, et al. Co-occurrence of four nucleotide changes associated with an adult mitochondrial ataxia phenotype. *BMC Res Notes* 2014; 7: 883.
- [25] Hynynen J, Pokka T, Komulainen-Ebrahim J, et al. Variants p.Q1236H and p.E1143G in mitochondrial DNA polymerase gamma *POLG1* are not associated with increased risk for valproate-induced hepatotoxicity or pancreatic toxicity: a retrospective cohort study of patients with epilepsy. *Epilepsia* 2018; 59: 2125–2136.
- [26] Aitken H, Gorman G, McFarland R, et al. Clinical reasoning: blurred vision and dancing feet: restless legs syndrome presenting in mitochondrial disease. *Neurology* 2009; 72: e86–e90.
- [27] Davidzon G, Greene P, Mancuso M, et al. Early-onset familial parkinsonism due to *POLG* mutations. *Ann Neurol.* 2006; 59: 859–862.
- [28] Young MJ, Copeland WC. Human mitochondrial DNA replication machinery and disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2016; 38: 52–62.
- [29] Orsucci D, Caldarazzo Ienco E, Mancuso M, et al. *POLG1*-related and other “mitochondrial Parkinsonisms”: an overview. *J Mol Neurosci.* 2011; 44: 17–24.
- [30] Synofzik M, Asmus F, Reimold M, et al. Sustained dopaminergic response of parkinsonism and depression in *POLG*-associated parkinsonism. *Mov Disord.* 2010; 25: 243–245.
- [31] Wilcox RA, Churchyard A, Dahl HH, et al. Levodopa response in Parkinsonism with multiple mitochondrial DNA deletions. *Mov Disord.* 2007; 22: 1020–1023.
- [32] Lill CM. Genetics of Parkinson’s disease. *Mol Cell Probes* 2016; 30: 386–396.
- [33] Lunati A, Lesage S, Brice A. The genetic landscape of Parkinson’s disease. *Rev Neurol (Paris).* 2018; 174: 628–643.
- [34] Tang S, Wang J, Lee NC, et al. Mitochondrial DNA polymerase mutations: an ever expanding molecular and clinical spectrum. *J Med Genet.* 2011; 48: 669–681.
- [35] Scuderi C, Borgione E, Castello F, et al. The in cis T251I and P587L *POLG1* base changes: description of a new family and literature review. *Neuromuscul Disord.* 2015; 25: 333–339.
- [36] Burusnukul P, de los Reyes EC. Phenotypic variations in 3 children with *POLG1* mutations. *J Child Neurol.* 2009; 24: 482–486.
- [37] Blok MJ, van den Bosch BJ, Jongen E, et al. The unfolding clinical spectrum of *POLG* mutations. *J Med Genet.* 2009; 46: 776–785.
- [38] Harris MO, Walsh LE, Hattab EM, et al. Is it ADEM, *POLG*, or both? *Arch Neurol.* 2010; 67: 493–496.
- [39] Da Pozzo P, Cardaioli E, Rubegni A, et al. Novel *POLG* mutations and variable clinical phenotypes in 13 Italian patients. *Neurol Sci.* 2017; 38: 563–570.
- [40] Phillips J, Courel S, Rebelo AP, et al. *POLG* mutations presenting as Charcot–Marie–Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst.* 2019; 24: 213–218.
- [41] Horvath R, Hudson G, Ferrari G, et al. Phenotypic spectrum associated with mutations of the mitochondrial polymerase gene. *Brain* 2006; 129: 1674–1684.

(Molnár Mária Judit dr.,
Budapest, Üllői út 78., 1083
e-mail: molnar.mariajudit@med.semmelweis-univ.hu)

„*Nemo immature moritur qui moritur miser.*”
(A szerencsétlen sosem hal korán.)