

(58)

# Mutacje mitochondrialnego DNA w chorobach narządu wzroku – dziedziczna neuropatia nerwu wzrokowego Lebera oraz zespół Kearnsa

## *Mutations in mitochondrial DNA in ocular diseases – Leber's hereditary optic neuropathy and Kearns' syndrome*

Małgorzata Rydzanicz<sup>1</sup>, Małgorzata Mrugacz<sup>2</sup>, Marzena Gajęcka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Z Zakładu Mutagenetyki Środowiskowej Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Szyfter

<sup>2</sup> Z Kliniki Okulistyki Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

**Summary:** Mitochondrial diseases are caused by mitochondrial structure aberrations and function deficiency. The clinical heterogeneity of mitochondrial diseases is associated with the type of causing mutations (de novo or maternally transmitted mutations), and several aspects of mitochondrial genetics and inheritance, including heteroplasmy. In this paper, we explain the basics of mitochondrial genetics and inheritance as well as genetic background of mitochondrial related disorders: Leber's hereditary optic neuropathy and Kearns' syndrome.

**Słowa kluczowe:** dziedziczenie mitochondrialne, mutacje mtDNA, heteroplazmia, dziedziczna neuropatia nerwu wzrokowego Lebera, zespół Kearnsa.

**Key words:** mitochondrial inheritance, mtDNA mutations, heteroplasmy, Leber's hereditary optic neuropathy, Kearns' syndrome.

### Wstęp

Choroby mitochondrialne są skutkiem zaburzeń struktury mitochondriów i ich funkcji. Pomimo że organelle te posiadają swój własny system replikacji, transkrypcji i translacji, to większość koniecznych w celu prawidłowego funkcjonowania mitochondriów białek (~ 1500) jest kodowanych przez genom jądrowy (1). Zatem rozpatrując pojęcie chorób mitochondrialnych, należy mieć na uwadze, że są one wynikiem mutacji zarówno w genomie mitochondrialnym, jak i jądrowym oraz mogą ujawniać się na skutek nieprawidłowej komunikacji obu tych genomów. W niniejszym opracowaniu uwaga autorów skupiona będzie wyłącznie na mutacjach w DNA mitochondrialnym i spowodowanych nimi chorobach narządu wzroku.

### Mitochondrialny DNA

Mitochondria są cytoplazmatycznymi organellami obecnymi w niemal wszystkich ludzkich komórkach. Ich funkcja polega głównie na dostarczeniu energii w formie wysokoenergetycznych wiązań chemicznych (ATP) oraz udziale w różnych procesach metabolicznych, takich jak np.: apoptoza, regulacja stanu redoks komórki czy wytwarzanie ciepła.

Jądro komórkowe oraz mitochondria to jedyne organelle komórkowe posiadające swój własny genom. Kolistą dwuniciową cząsteczką mitochondrialnego DNA (mtDNA) o długości 16569 par zasad niesie informację o 37 genach kodujących 2 rybosomalne RNA (rRNA, wchodzące w skład rybosomów mitochon-

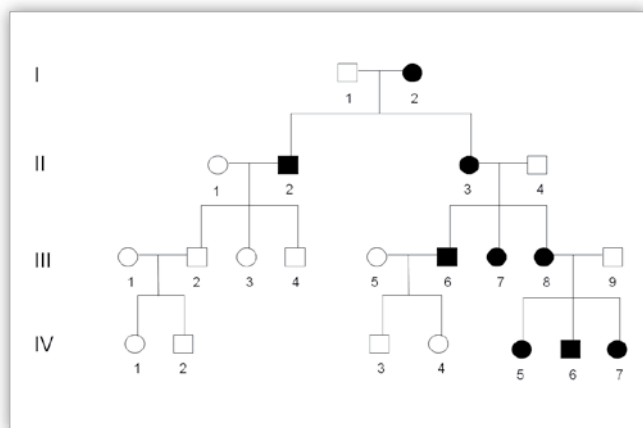
drialnych), 22 transporterowych RNA (tRNA) działających w mitochondrialnym układzie translacji białek oraz 13 polipeptydów wchodzących w skład mitochondrialnego systemu transportu elektronów i syntezy ATP.

Ponieważ DNA w mitochondriach nie jest chroniony przez białka histonowe i jest nieustannie ekspozycyjny na działanie wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, mutacje w mtDNA obserwowane są stosunkowo często (2). Są to zarówno mutacje powstałe *de novo*, tzn. nieodziedziczone od rodziców, jak również mutacje dziedziczone, przekazywane z pokolenia na pokolenie.

Do najczęstszych mutacji *de novo* należą mutacje punktowe (zamiana jednego nukleotydu na drugi) oraz większe rearanżacje, takie jak delecje i amplifikacje materiału genetycznego. W przypadku zmian dziedzicznych obserwuje się głównie mutacje punktowe.

Mitochondrialny DNA dziedziczony jest w linii żeńskiej, co oznacza, że cechy kodowane przez mtDNA są przekazywane z pokolenia na pokolenie przez matkę (ryc. 1). Wynika to z faktu, że mitochondria przekazywane potomstwu pochodzą z komórki jajowej (3).

Charakterystycznym zjawiskiem związanym z dziedziczeniem mitochondrialnym jest heteroplazmia, która polega na tym, że tylko część mitochondriów zawiera mtDNA z daną mutacją, podczas gdy pozostała część ma niezmienny zapis genetyczny. Odsetek mitochondriów ze zmienioną sekwencją genu do



**Ryc. 1.** Rodowód rodziny obarczonej chorobą genetyczną dziedziczną w linii matczynej. Kwadrat oznacza mężczyznę, koło – kobietę; osoby oznaczone symbolem wypełnionym na czarno wykazują objawy chorobowe, podczas gdy pozostałe osoby nie są obciążone chorobą.

Chory mężczyzna II – 2 nie przekazał choroby swojemu potomstwu, natomiast chora kobieta II – 3 ma dzieci obciążone chorobą (III-6, III-7, III-8), co świadczy o dziedziczeniu choroby w linii żeńskiej.

**Fig. 1.** Pedigree of family presented with maternally pattern of inheritance. Square represents male, circle – female; filled symbols indicate affected individuals, while other symbols – unaffected individuals. The affected man II – 2 did not transmit the disease to his offspring, while the affected woman II – 3 has affected children (III-6, III-7, III-8), what is an evidence for maternally inherited disease.

mitochondriów z prawidłowym mtDNA może kształtować się w sposób liniowy od 0% do 100%. Krytyczny dla wystąpienia fenotypu klinicznego udział procentowy zmutowanego mtDNA, tzw. wartość progowa (threshold effect), jest różny dla różnych typów komórek. Wartość progowa będzie tym niższa, im wyższa jest aktywność metaboliczna, a tym samym zapotrzebowanie na energię danej tkanki.

Często obserwuje się, że potomstwo matki będącej nosicielką heteroplazmicznej mutacji ma różny poziom heteroplazmii, a co z tego wynika – inny stopień nasilenia się objawów klinicznych. Taki obraz jest konsekwencją zjawiska określanego jako „wąskie gardło” (bottleneck). Polega ono na tym, że podczas oogenezy ilość mtDNA z około 100 000 kopii jest redukowana do kilku na każdy oocyt („wąskie gardło”), a dystrybucja mitochondriów z prawidłową i zmienioną sekwencją mtDNA jest przypadkowa. W kolejnych etapach dojrzewania komórki jajowej dochodzi do podziałów i zwiększenia liczby mitochondriów, a poziom heteroplazmii będzie zależał od proporcji prawidłowego i zmutowanego mtDNA na etapie „wąskiego gardła” (segregacja mitotyczna).

W przypadku chorób, u podstawy których leżą mutacje w mtDNA, korelacja między genotypem a obserwowanym fenotypem jest skomplikowana. Niektóre rearanżacje mtDNA warunkują obraz kliniczny manifestujący się jako zespół chorobowy, np. zespół Kearnsa (do niedawna nazywany zespołem Kearnsa-Sayre’a; ang. Kearns-Sayre’s syndrome – KSS). Natomiast inne mutacje wpływają na wystąpienie objawów ograniczonych jedynie do specyficznej tkanki, np. nerwu wzrokowego w przypadku dziedzicznej neuropatii nerwu wzrokowego Lebera (Leber’s hereditary optic neuropathy – LHON). W niektórych

przypadkach różne mutacje (jak również mutacje w różnych genach mitochondrialnych) mogą powodować tę samą chorobę, jak to ma miejsce w przypadku LHON, z kolei w innych przypadkach te same mutacje warunkują różne choroby, np. zespół MELAS (encefalopatia mitochondrialna z kwasicą mleczanową i epizodami udaropodobnymi, ang. mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes – MELAS).

W niniejszej pracy opisano molekularne podłoże dziedzicznej neuropatii nerwu wzrokowego Lebera i zespołu Kearnsa, u podstawy których leżą zmiany w mitochondrialnym DNA.

### Dziedziczna neuropatia nerwu wzrokowego Lebera (LHON)

Początek choroby występuje w postaci jednostronnej, bezbolesnej, ostrej i znacznej utraty widzenia. W oku towarzyszącym do spadku ostrości wzroku dochodzi w ciągu kilku dni lub tygodni (nie później niż po 2 miesiącach) od wystąpienia objawów w pierwszym oku. Objawy w czasie ostrej fazy choroby są często subtelne i łatwe do przecoczenia. U niektórych pacjentów tarcza nerwu wzrokowego może być całkowicie prawidłowa. W typowych przypadkach obserwuje się przekrwienie tarczy nerwu wzrokowego i jej obrzęk, poszerzenie naczyń włosowatych na powierzchni tarczy nerwu wzrokowego, które może również dotyczyć przylegającej siatkówki (teleangiektazje), krętość naczyń siatkówki oraz obrzęk okołotarczowej warstwy włókien nerwowych. Z czasem teleangiektazje ustępują, natomiast dochodzi do postępującego zaniku nerwów wzrokowych (4,5). W badaniu pola widzenia można stwierdzić ubytek centrocekalny, natomiast angiografia fluoresceinowa i odruchy źreniczne nie wykazują odchyżeń od normy (4). LHON występuje zwykle u chłopców i młodych mężczyzn; typowy przedział wiekowy dla wystąpienia pierwszych objawów to 15.-30. rok życia. W przypadkach atypowych choroba może występować u kobiet i rozpoczynać się między 10. a 60. rokiem życia. Rozpoznanie powinno być zatem rozważane u każdego pacjenta z obustronnym zapaleniem nerwów wzrokowych, niezależnie od płci i wieku.

Schorzenie to dziedziczy się w linii żeńskiej i jest warunkowane mutacjami w mtDNA (6). Dotychczas opisano ponad 30 mutacji punktowych zidentyfikowanych u pacjentów z LHON. Wszystkie zmiany sekwencji mtDNA stwierdzone były w genach kodujących enzymy wchodzące w skład mitochondrialnego systemu transportu elektronów i syntezy ATP, przede wszystkim podjednostki dehydrogenazy NADH, podjednostki oksydazy cytochromu C czy syntazy ATP. Zidentyfikowane zmiany opisywane są zarówno jako homo- i heteroplazmiczne, a część z nich może występować w obydwu formach. Charakterystykę najczęstszych mutacji (tzw. mutacji pierwotnych) przedstawia tabela I (pełen opis wszystkich zidentyfikowanych mutacji pierwotnych znajduje się w bazie danych genomu mitochondrialnego – MITOMAP, <http://www.mitomap.org/rimtab1.html>).

W 96% wszystkich przypadków LHON identyfikowana jest jedna z trzech zmian w mtDNA: G11778A/ND4, G3460A/ND1, T14484C/ND6. Badania funkcjonalne wykazały, że w liniach komórkowych z tymi mutacjami obserwuje się upośledzenie funkcji łańcucha oddechowego, przy czym największe – w przypadku zmiany G3460A, a najmniejsze – w przypadku mutacji T14484C (7). Porównanie upośledzenia funkcji łańcucha oddechowego z obrazem klinicznym LHON nie przyniosło bezpośredniej korelacji. U pacjentów z mutacją G11778A obserwuje się dużo cięższe objawy przebiegu choroby (w porównaniu z dwie-

Gen/ Gene	Mutacja/ Mutation	Zmiana Nukleotydu/ Nucleotide change	Zmiana Aminokwasu/ Amino acid change	Częstość/ Frequency [%]	Homoplazmia/ Homoplasmy <sup>b</sup>	Heteroplazmia/ Heteroplasmy <sup>c</sup>	Poziom Penetracji/ Penetrance [%]	Poziom penetracji u mężczyzn/ Penetrance in males [%]
<i>MTND4</i>	<b>LHON11778Aa</b>	G → A	<b>R340H</b>	<b>69</b>	+	+	<b>33-60</b>	<b>82</b>
<i>MTND1</i>	<b>LHON3460A</b>	G → A	<b>A52T</b>	<b>13</b>	+	+	<b>14-75</b>	<b>40-80</b>
<i>MTND6</i>	<b>LHON14484C</b>	T → C	<b>M64V</b>	<b>14</b>	+	+	<b>27-80</b>	<b>68</b>
<i>MTND1</i>	LHON3733A	G → A	E143K	Rzadko	+	+	58	66
<i>MTND1</i>	LHON4171A	C → A	L289M	Rzadko	+	+	29	43
<i>MTND4L</i>	LHON10663C	T → C	V65A	Rzadko	+	-	56	60
<i>MTND6</i>	LHON14459A	G → A	A72V	Rzadko	-	+	NA <sup>d</sup>	NA
<i>MTND6</i>	LHON14482G	C → G	M64I	Rzadko	+	-	UN <sup>e</sup>	89
<i>MTND6</i>	LHON14482A	C → A	M64I	Rzadko	+	+	UN	89
<i>MTND6</i>	LHON14495G	A → G	L60S	Rzadko	-	+	NA	NA
<i>MTND6</i>	LHON14568T	C → T	G36S	Rzadko	+	-	NA	NA

**Tab. I.** Najczęstsze mutacje mtDNA identyfikowane w LHON.

Źródło: MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database, <http://www.mitomap.org>

<sup>a</sup> Mutacje zaznaczone pogrubioną czcionką to najczęstsze zmiany w mtDNA zidentyfikowane u pacjentów z LHON. <sup>b</sup> Homoplazmia; „+” = zidentyfikowana; „-” = niezidentyfikowana; <sup>c</sup> Heteroplazmia; „+” = zidentyfikowana; „-” = niezidentyfikowana; <sup>d</sup> NA = niezbadany; e UN = niemożliwy do określenia

**Tab. I.** The most frequent mtDNA LHON mutations.

Source: MITOMAP, A Human Mitochondrial Genome Database, <http://www.mitomap.org>

<sup>a</sup> Mutations listed in bold are the most frequent mtDNA variants identified in LHON cases; <sup>b</sup> Homoplasmly; „+” = detected; „-” = not detected; <sup>c</sup> Heteroplasmly; „+” = detected; „-” = not detected; <sup>d</sup> NA = not applicable; <sup>e</sup> UN = unknown

ma pozostałymi zmianami), a spontaniczną poprawę wzroku w przypadku tego wariantu obserwowano w 2-17% rodzin z LHON. W przypadkach G3460A i T14484 poprawa wzroku obserwowana była odpowiednio w 20-40% i 37-71% rodzin (8). Jednakże ze wszystkich opisanych dotychczas mutacji związanych z LHON najcięższe objawy obserwuje się w przypadku rzadkiego wariantu G14459A/ND6. Zmiana ta jest odpowiedzialna nie tylko za występowanie LHON, ale również innych chorób neurologicznych, takich jak dystonia (9).

U pacjentów z LHON, oprócz mutacji pierwotnych, zidentyfikowano również cały szereg innych zmian w mtDNA, tzw. mutacji wtórnych. Te warianty sekwencji, współwystępują ze sobą (w odróżnieniu od mutacji pierwotnych, które identyfikowane są tylko pojedynczo) i z mutacjami pierwotnymi, rzadko są identyfikowane w grupie osób zdrowych, ale tylko i wyłącznie wtedy, gdy nie współwystępują z mutacjami pierwotnymi. Prawdopodobnie występowanie jedynie mutacji wtórnych nie jest wystarczającym czynnikiem powodującym powstanie objawów klinicznych. Ponadto mutacje te mogą modulować fenotyp warunkowany przez mutacje pierwotne.

Ciekawym, aczkolwiek wciąż niewyjaśnionym, zjawiskiem związanym z LHON jest częstsze występowanie choroby i znacznie cięższy jej przebieg u mężczyzn niż u kobiet. Przyczyn upatruje się poza genomem mitochondrialnym, wskazując na dodatko-

we regulacje warunkowane przez geny kodowane w genomie jądrowym oraz czynniki środowiskowe. Jednakże dotychczasowe wyniki badań nie przyniosły jednoznacznych odpowiedzi, które wyjaśniałyby obserwowane różnice (10,11).

### Zespół Kearnsa

Zespół Kearnsa cechuje się przede wszystkim postępującą zewnętrzną oftalmoplegią, zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki oraz wystąpieniem objawów przed 20. rokiem życia. Ponadto zespołowi towarzyszy przynajmniej jeden z następujących symptomów: zaburzenia przewodzenia w sercu, zespół mózdkowy lub większa niż 1,0 g/l zawartość białka w płynie mózgowo-rdzeniowym. Większość autorów podkreśla, że pierwszym objawem zespołu Kearnsa jest występujące symetrycznie obustronne opadanie powiek oraz oftalmoplegia zewnętrzna (12). Dopiero w późniejszym okresie choroby, po około 20 latach, następują zmiany zwyrodnieniowe siatkówki. Opisano również przypadki bez zmian siatkówkowych, ze współistniejącą jaskrą pierwotną otwartego kąta, jaskrą normalnego ciśnienia i zmniejszoną gęstością komórek śródbłonna rogówki. Badanie histologiczne wykazuje typowe dla zespołu Kearnsa występowanie tzw. włókien szmatowatych w mięśniach, a badanie w mikroskopie elektronowym wskazuje na obecność w mięśniach charakterystycznych nieprawidłowych mitochondriów.

Zespół Kearnsa powodowany jest dużymi rearanżacjami mtDNA. Najczęściej opisuje się powstałe *de novo*, pojedyncze, duże delekcje mtDNA obserwowane w komórkach mięśni poprzecznie prążkowanych pacjenta oraz rzadziej w limfocytach krwi obwodowej czy fibroblastach. W kilku przypadkach obserwowano identyczne delekcje mtDNA u matki i jej dziecka/ dzieci, co wskazywałoby na możliwość dziedziczenia rearanżacji wywołujących zespół Kearnsa (13,14), niemniej jednak dziedziczenie matczyne nie zostało do końca potwierdzone i wciąż za przyczynę powstania zespołu Kearnsa uważa się zmiany powstałe *de novo*.

Rozmiary delekcji zazwyczaj mieszczą się w przedziale od 1,3 kpz do 8 kpz (kpz – tysiąc par zasad). Ich zakres jest często charakterystyczny dla poszczególnych przypadków, choć zdarzają się identyczne delekcje u niespokrewnionych ze sobą pacjentów (15). Utrata materiału genetycznego najczęściej mapowana jest w obrębie sekwencji genów kodujących podjednostki dehydrogenazy NADH, oksydazy cytochromu C oraz syntazy ATP. Delekcje obejmujące 5 do 8 genów kodujących tRNA są również identyfikowane (16).

W niektórych przypadkach zespołu Kearnsa, oprócz charakterystycznych dużych delekcji materiału genetycznego, opisywane są również bardziej złożone rearanżacje mtDNA. Najczęściej obserwowane jest współwystępowanie delekcji i duplikacji fragmentów sekwencji mtDNA, które prowadzą do pojawienia się objawów choroby w dużo wcześniejszym wieku niż w większości przypadków (17).

Dziedziczna neuropatia nerwu wzrokowego Lebera oraz zespół Kearnsa ukazują złożoność chorób mitochondrialnych. Chociaż wciąż trwają badania nad pełnym zrozumieniem ich patogenyzy, dzisiejsza wiedza dotycząca genetycznego podłoża tych chorób oraz narzędzia genetyki molekularnej pozwalają zarówno na postawienie właściwej diagnozy w przypadkach z atypowym obrazem klinicznym, jak i identyfikację nowych mutacji mtDNA związanych z danym schorzeniem.

#### Piśmiennictwo:

- Attardi G, Schatz G: *Biogenesis of mitochondria*. Annu Rev Cell Biol 1988, 4, 289-333.
- Richter C, Park JW, Ames BN: *Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive*. Proc Natl Acad Sci USA 1988, 85(17), 6465-6457.
- Taylor RW, McDonnell MT, Blakely EL, Chinnery PF, Taylor GA, Howell N, Zeviani M, Briem E, Carrara F, Turnbull DM: *Genotypes from patients indicate no paternal mitochondrial DNA contribution*. Ann Neurol 2003, 54(4), 521-524.
- Sadun F, De Negri AM, Carelli V, Salomao SR, Berezovsky A, Andrade R: *Ophthalmologic findings in a large pedigree of 11778/Haplogroup J Leber hereditary optic neuropathy*. Am J Ophthalmol 2004, 137, 271-277.
- Newman-Toker DE, Horton JC, Lessell S: *Recurrent visual loss in Leber hereditary optic neuropathy*. Arch Ophthalmol 2003, 121, 288-291.
- Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, Elsas LJ 2nd, Nikoskelainen EK: *Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy*. Science 1988, 242(4884), 1427-1430.
- Brown MD, Trounce IA, Jun AS, Allen JC, Wallace DC: *Functional analysis of lymphoblast and cybrid mitochondria containing the 3460,11778, or 14484 Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutation*. Biol Chem 2000, 275(51), 39831-39836.
- Oostra RJ, Bolhuis PA, Wijburg FA, Zorn-Ende G, Bleeker-Wagemakers EM: *Leber's hereditary optic neuropathy: correlations between mitochondrial genotype and visual outcome*. J Med Genet 1994, 31(4), 280-286.
- Gropman A, Chen TJ, Perng CL, Krasnewich D, Chernoff E, Tiffit C, Wong LJ: *Variable clinical manifestation of homoplasmic G14459A mitochondrial DNA mutation*. American Journal of Medical Genetics 2004, 124A(4), 377-382.
- Vilkki J, Ott J, Savontaus ML, Aula P, Nikoskelainen EK: *Optic atrophy in Leber hereditary optic neuroretinopathy is probably determined by an X-chromosomal gene closely linked to DXS7*. Am J Hum Genet 1991, 48(3), 486-491.
- Tsao K, Aitken PA, Johns DR: *Smoking as an aetiological factor in a pedigree with Leber's hereditary optic neuropathy*. Br J Ophthalmol 1999 May, 83(5), 577-581.
- Kearns TP, Sayre GP: *Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia and complete heart block*. AMA Arch Ophthalmol 1958, 60, 280-289.
- Poulton J, Deadman ME, Ramacharan S, Gardiner RM: *Germ-line deletions of mtDNA in mitochondrial myopathy*. Am J Hum Genet 1991, 48(4), 649-653.
- Puoti G, Carrara F, Sampaolo S, De Caro M, Vincitorio CM, Invernizzi F, Zeviani M: *Identical large scale rearrangement of mitochondrial DNA causes Kearns-Sayre syndrome in a mother and her son*. J Med Genet 2003, 40(11), 858-863.
- Lertrit P, Imsumran A, Karnkirawattana P, Devahasdin V, Sangruchi T, Atchaneeyasakul L, Mungkornkam C, Neungton N: *A unique 3.5-kb deletion of the mitochondrial genome in Thai patients with Kearns-Sayre syndrome*. Hum Genet 1999, 105(1-2), 127-131.
- Lestienne P, Ponsot G: *Kearns-Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion*. Lancet 1988, 1(8590), 885.
- Odoardi F, Rana M, Broccolini A, Mirabella M, Modoni A, D'Amico A, Papacci M, Tonali P, Servidei S, Silvestri G: *Pathogenic role of mtDNA duplications in mitochondrial diseases associated with mtDNA deletions*. Am J Med Genet A 2003, 118(3), 247-254.

Praca wylęta do redakcji 19.03.2008 r. (1037)

Zakwalifikowano do druku 12.08.2008 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
mgr Małgorzata Rydzanicz  
Instytut Genetyki Człowieka PAN  
ul. Strzeszyńska 32  
60-479 Poznań  
e-mail: [marydz@man.poznan.pl](mailto:marydz@man.poznan.pl)