

# Una mutación en el gen *PARK2* causa enfermedad de Parkinson juvenil en una extensa familia colombiana

Nicolás Pineda-Trujillo<sup>1</sup>, Andrés Dulcey Cepeda<sup>2</sup>, William Arias Pérez<sup>3</sup>, Sonia Moreno Masmela<sup>4</sup>, Amanda Saldarriaga Henao<sup>4</sup>, Diego Sepúlveda Falla<sup>4</sup>, Gabriel Bedoya Berrío<sup>3</sup>, Francisco Lopera Restrepo<sup>4</sup>, Andrés Ruiz-Linares<sup>3,5</sup>

## Resumen

La enfermedad de Parkinson (EP) es común y se debe a degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra y en otras áreas del cerebro. Varios genes y mutaciones han sido implicados en ella y la mayoría de estas últimas han sido identificadas en el gen *PARK2*. Reportamos la evaluación de este gen *PARK2* y de su región flanqueante en una gran familia de origen caucano, al suroccidente de Colombia. Los padres son primos hermanos y cuatro de sus diez hijos resultaron afectados en edad juvenil.

La evaluación molecular incluyó tipificación de microsatélites (STR) y la secuencia directa de los exones del gen. Nuestros hallazgos evidenciaron la presencia en condición homocigota de la mutación c.255delA, en el exón 2 de *PARK2*. Además, se pudo identificar un haplotipo portado por ambos padres y presente en condición homocigota en los hijos afectados. Del mismo modo se observó una alta tasa de recombinantes en la extensión de la región cromosómica analizada. La mutación c.255delA en *PARK2* ya había sido reportada previamente en familias tanto de Francia como de España.

Nuestros resultados reafirman la participación del gen *PARK2* en la etiología de la enfermedad de Parkinson, en particular de la forma juvenil. Además, considerando que la mutación identificada en la familia que presentamos ya había sido previamente encontrada en poblaciones europeas, es probable que haya llegado a Colombia desde allí. Alternativamente, esta mutación pudo ocurrir de manera recurrente en un ancestro más cercano de la familia estudiada; para verificar ambas posibilidades sería necesario evaluar marcadores flanqueantes de la mutación, en los cromosomas europeos y colombianos portadores de la mutación. Tales marcadores pueden ser STR (como se reporta en este estudio) o alternativamente, SNP.

---

<sup>1</sup> Grupo Mapeo Genético, Departamento de Pediatría y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.

<sup>3</sup> Grupo Genética Molecular –GENMOL– Corporación de Patologías Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Grupo de Neurociencias de Antioquia, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

<sup>5</sup> Galton Laboratory, Universidad de Londres, Londres, Inglaterra.

Direcciones: nicolas.pineda@yahoo.com, flopera@epm.net.co, whariasp@yahoo.com, gbedoya@quimbaya.udea.edu.co, a.ruizlin@ucl.ac.uk

Este trabajo se llevó a cabo gracias a la financiación de Colciencias y la Universidad de Antioquia. Proyecto "Caracterización epidemiológica, clínica y molecular de la enfermedad de Parkinson juvenil"

Código: 111504 16385. Contrato # 314-2004.

Recibido: mayo 23 de 2008

Aceptado: octubre 13 de 2008

## Palabras clave

Enfermedad de Párkinson juvenil, Gen *Park2*, Genética del párkinson, Mutación c.255delA

## SUMMARY

### Mutation c.255delA in the *PARK2* gene as cause of juvenile Parkinson's disease in a large Colombian family

Parkinson's is a common disease (PD) caused by degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra and other brain areas. Several genes and mutations have been implicated in its pathogenesis, the latter have been identified mainly in the *PARK2* gene.

We report the evaluation of this gene and of its flanking region in a large family from the southwestern part of Colombia. The parents are first cousins and four out of their ten children were affected at juvenile age.

Molecular evaluation included typing of microsatellites (STRs) and direct sequencing of the exons of the gene. Our findings showed the presence, in a homozygous manner, of the mutation c.255delA, at exon 2 of *PARK2*. In addition, it was possible to identify a haplotype carried by both parents, and present in a homozygous manner in the affected children. A high rate of recombinants was observed in the analysed chromosomal region. Mutation c.255delA in *PARK2* had been previously reported in families from both France and Spain.

Our findings reconfirm the role of the *PARK2* gene in the etiology of Parkinson's disease, in particular of its juvenile form. Furthermore, taking into account that the identified mutation had been previously found in European populations, it is likely that it came into Colombia from that continent. Alternatively, this mutation might have occurred in a recurrent manner in a close ancestor of the studied family. In order to verify both possibilities it would be necessary to test flanking markers of the mutation in both European and Colombian chromosomes carrying it. Such markers could be either STRs, as reported in this study, or SNPs.

## Key words

Genetics of Parkinson's Disease, Juvenile Parkinson's Disease, Mutation c.255delA, *Park2* Gene

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una alteración del movimiento caracterizada por bradiquinesia, temblor e inestabilidad postural.<sup>1</sup> Los síntomas aparecen por la degeneración de las neuronas dopaminérgicas en varias regiones del cerebro, incluyendo la sustancia nigra, el *locus cerúleos* y los ganglios basales.<sup>2</sup> Los cuerpos de Lewy en estos núcleos son la piedra patológica angular de la EP. La muerte celular se acompaña de la aparición de inclusiones citoplasmáticas de cuerpos de Lewy, compuestas de varias proteínas incluyendo  $\alpha$ -sinucleína, ubiquitina, parkin, neurofilamentos, etc.<sup>3,4</sup>

El párkinson clásico (o tardío) aparece a partir de los 50 años. El parkinsonismo en las primeras décadas de la vida se consideraba, en el pasado, aparte de la EP; estos casos se agrupan ahora en dos categorías: EP de aparición temprana (EOPD, por la sigla en inglés de *early onset Parkinson disease*) y EP juvenil (JPD, por la sigla en inglés de *juvenile Parkinson disease*). La EOPD se inicia por debajo de los 45 años, mientras que la JPD lo hace en personas de 25 años o menos. La EP afecta a más del 1% de la población general mayor de 55 años<sup>5</sup> y es, en frecuencia, la segunda enfermedad neurodegenerativa después de la enfermedad de Alzheimer.

Por varios años se creyó que la causa primaria de la enfermedad eran factores ambientales como infecciones virales<sup>6</sup> y neurotoxinas (MPTP, metil-fenil-tetrahidropiridina).<sup>7</sup> Sin embargo, la identificación de mutaciones en ocho genes diferentes (*SNCA*,<sup>8</sup> *PARK*,<sup>9</sup> *UCHL*,<sup>10</sup> *DJ1*,<sup>11</sup> *PINK*,<sup>12</sup> *LRRK2*,<sup>13</sup> *HTRA2*<sup>14</sup> y *MAPT*<sup>15</sup>) y de otras seis regiones cromosómicas candidatas (*PARK*,<sup>16</sup> *PARK4*,<sup>17</sup> *PARK9*,<sup>18</sup> *PARK10*,<sup>19</sup> *PARK11*<sup>20</sup> y *PARK12*<sup>21</sup>) asociadas con la enfermedad resalta la importancia etiológica de los factores genéticos. (Tabla n°. 1).

Se sabe que varios de los genes identificados recientemente interactúan en los mecanismos patogénicos de la EP; también se sabe que la proteína parkin (codificada por el gen *PARK2*) tiene función de ligasa de las proteínas ubiquitinadas y que las mutaciones en parkin llevan a la pérdida de función, reduciendo su capacidad de regular la degradación de sustratos.<sup>22</sup> También se ha observado que una forma O-glicosilada de la  $\alpha$ -sinucleína es ubiquitinada por parkin, sugiriendo que la pérdida de función de esta última lleva a la acumulación de  $\alpha$ -sinucleína.<sup>23</sup> Se ha reportado un paciente con mutaciones en parkin y positivo para

cuerpos de Lewy.<sup>24</sup> Además, la sobreexpresión de  $\alpha$ -sinucleína mutante inhibe las actividades proteolíticas asociadas al proteosoma.<sup>25</sup>

Los pacientes con EOPD frecuentemente presentan mutaciones en el gen *PARK2*.<sup>26</sup> La presentación clínica de los pacientes con mutaciones en este gen es altamente variable y la edad de comienzo oscila entre 7-72 años.<sup>27-29</sup>

Las mutaciones en *PARK2* comprenden un amplio espectro, incluyendo deleciones y duplicaciones de exones, además de diferentes tipos de mutaciones puntuales que afectan a los doce exones del gen.<sup>9,27,28,30,31</sup> En Europa se calculó que la frecuencia de estas mutaciones en familias con EOPD era del 50% y en pacientes esporádicos (sin historia familiar), del 18%.<sup>28</sup>

**Tabla n.º 1. Genética del parkinsonismo**

Tipo	Cromosoma	Proteína	Gen/Locus	Referencias
I. Esporádico	4q21.1	$\alpha$ -sinucleína	SNCA/ PARK1	32
	6q25.2	Parkin	PARK2	9,33,34
	1p32	?	PARK10	19,35
II. Familiar	4q21.1	$\alpha$ -sinucleína	SNCA/PARK1	32
	4p	UCH-L1	UCLH1/PARK5	10
	2p13	?	PARK3	16
	4p14-16.3	?	PARK4	17
Dominante	12q12	Lrrk2	LRRK2/PARK8	13
	17q21.1	Tau	MAPT	15,36
	1p32	?	PARK10	19,35
	2q36-37	?	PARK11	20
	6q25.2	Parkin	<i>PARK2</i>	9,33,34
	1p35-36	Pink1	<i>PINK1/PARK6</i>	37
Recesivo	1p35	dj1	<i>DJ1/PARK7</i>	11,38
	1p36	?	<i>PARK9</i>	18
	Xq21-q25	?	<i>PARK12</i>	21
	2p12	Omi/HtrA2	<i>HTRA2/PARK13</i>	14

Entre las numerosas mutaciones reportadas en *PARK2* se destaca la *c.255delA*, que ha sido informada tanto en Francia<sup>24,39</sup> como en España.<sup>40</sup> Esta deleción afecta al codón 52 que codifica para Asn y en el codón 81 genera un codón prematuro de paro de la traducción<sup>39</sup> (por corrimiento del marco de lectura).

En estudios colombianos también se ha encontrado que *PARK2* está implicado en la EP. De este modo se pudieron establecer, en 2001, en Antioquia, dos efectos fundadores de dos mutaciones en dicho gen.<sup>41</sup> En ese estudio se identificó la mutación *Cys212Tyr* que fue reportada por primera vez en dos familias antioqueñas con EOPD; además se identificó la mutación *c.321-323insGT* tanto

en una familia como en un paciente esporádico.<sup>41</sup> La mutación *c.321-323insGT* ya había sido informada previamente en una familia de origen francés.<sup>39</sup> Más recientemente se logró verificar el extenso efecto fundador de la mutación *Cys212Tyr* en un grupo de pacientes antioqueños con EOPD y se identificó una segunda mutación que segrega con pacientes portadores de dicha mutación.<sup>42</sup>

El propósito de nuestro estudio fue analizar el gen *PARK2* y su región flanqueante en una gran familia de origen caucano (suroccidente de Colombia) con enfermedad de Parkinson juvenil (JPD).

## MÉTODOS

### Evaluación clínica

Con base en la detección del caso índice se pudo extender la genealogía en la que se detectó que los padres son primos hermanos y que, hasta hoy, 4 de los 10 hijos están

afectados (Figura n.º 1). La edad de inicio osciló entre 14-25 años. La detección de la familia se hizo en el Servicio de Neurología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Cauca. La caracterización clínica la hizo el Grupo de Neurociencias de Antioquia (Tabla n.º 2). A continuación presentamos los resúmenes de las historias de los cuatro individuos afectados por el párkinson juvenil.

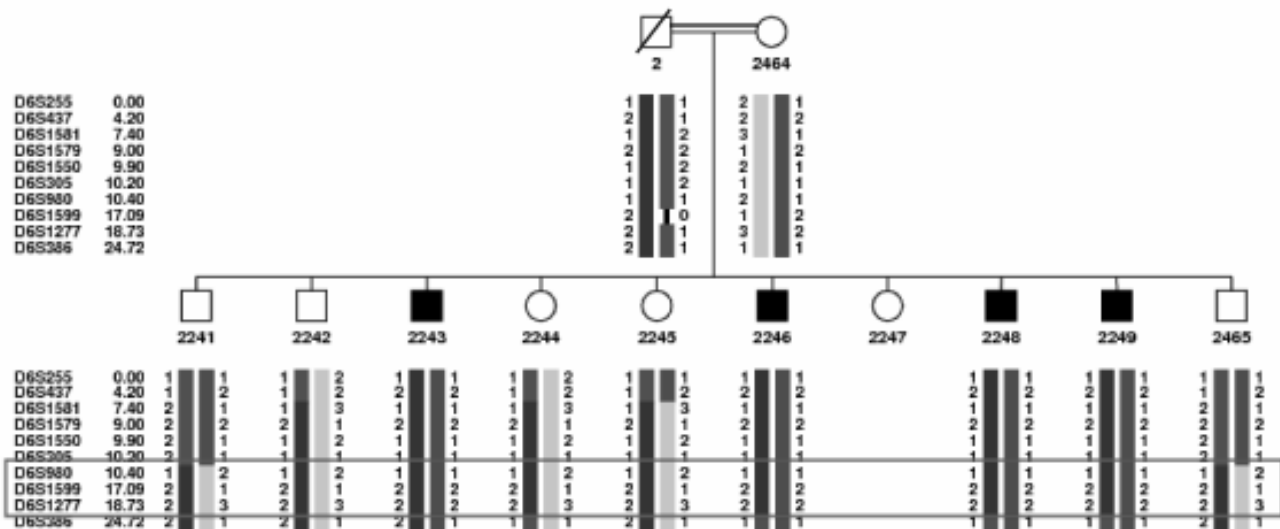


Figura n.º 1. Genealogía de una familia de origen caucano con JPD.

Los símbolos llenos representan los individuos afectados. Una doble línea entre dos individuos representa un matrimonio consanguíneo. Para el individuo identificado con el código 2247 no hubo muestra de ADN disponible para el análisis de haplotipos. Los genotipos en el individuo codificado con el número 2 fueron inferidos. A la izquierda aparecen los nombres de los marcadores STR evaluados con la respectiva distancia entre ellos. El recuadro muestra el haplotipo mínimo que segregó entre todos los portadores de la mutación tanto en condición homocigota como heterocigota.

**Caso 2243:** paciente de 59 años, de sexo masculino. Su enfermedad se inició con una crisis de temblor grave a la edad de 14 años. A partir de ese momento ha sufrido de temblor y rigidez progresiva que lo limita para la marcha independiente desde los 20 años y para el habla y la escritura desde los 30 años. Pudo estudiar y trabajar normalmente sin mayores limitaciones hasta los 18 años. Presenta dependencia para la marcha y para algunas actividades de la vida cotidiana, así como cefaleas y caídas frecuentes; no sufre de depresión y tiene buen sentido del humor. Su enfermedad es sensible a levodopa pero actualmente solo recibe tratamiento con biperideno porque la levodopa le causa movimientos involuntarios.

**Caso 2249:** paciente de 55 años, de sexo masculino. A la edad de 15 años comenzó a presentar temblor y movimientos distónicos a partir de un día en que al agacharse no se pudo levantar de nuevo con facilidad. Desde entonces aparecieron signos de rigidez en todo el cuerpo que se fueron haciendo más acentuados desde los 27 años. Trabajó parcialmente entre los 15-25 años. Considera que ha tenido más limitaciones por la rigidez que por el temblor. La enfermedad ha sido progresiva y sensible a la levodopa. Se queja de cefaleas frecuentes. Al examen presenta rigidez de moderada a grave en el cuello y las extremidades, postura y marcha parkinsonianas con inclinación del tronco. No tiene temblor ni distonía.

**Tabla n.º 2. Evaluación clínica de una familia de origen caucano con párkinson familiar juvenil**

Código	Sexo	Edad	EI	Síntomas										Escala					Dx Neurológico	Dx Neuropsicológico	
				Tabaquismo	Alcoholismo	Temblo	Rigidez	Distonía	Sensible a levodopa	Disartria	Hipofofonia	Depresión	ROT	SC	UPDRS	Hoehn Yar	Minimental	KATZ			Lawton/30
2243	M	59	14	+	-	+	+	-	+	+	+	+	HP	TI	12	4	24	6	29	PFJ	DCL
2249	M	55	15	+	-	+	++	+	+	+	+	+	N	DD	96	4	20	1	16	PFJ	DCL
2248	M	52	25	-	-	++	+	-	+	-	-	-	N	-	69	3	22	0	14	PFJ	DCL
2242	M	46	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	HG	DD	0	0	28			Sano	Normal
2241	M	45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	0	0	24	0	8	Sano	Normal
2246	M	43	15	+	-	+	+	+	+	+	+	+	HG	DD	101	4	26	1	13	PFJ	DCL
2245	F	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HG	-	0	0	26	0	8	Sano	Normal
2247	F	41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HG	-	0	0	23	0	8	Sano	Normal
2244	F	39	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	HP	-	1	0	26	0	8	Sano	Normal

EI: edad de inicio; ROT: reflejos osteotendinosos; SC: síntomas cerebelosos; UPDRS: escala unificada de parkinson; Dx: diagnóstico; HG: hiporreflexia generalizada; N: normales; HP: hiperreflexia patelar; DD: disdiadocinesia; TI: temblor de intención; PFJ: Párkinson familiar juvenil; DCL: déficit cognitivo leve.

**Caso 2248:** paciente de 52 años, de sexo masculino. Desde los 25 años empezó a sufrir crisis de temblor en las 4 extremidades con duración de 20 a 30 segundos que se repetían en varias ocasiones al día y se incrementaban con los movimientos voluntarios. El cuadro parkinsoniano completo y permanente se instaló definitivamente a partir de los 30 años de edad. Ha sido sensible a la levodopa. El temblor mejora con levodopa y con biperideno el cual tiene que ingerir incluso en la noche para lograr reducirle la intensidad de modo que le permita dormir; sin embargo, el temblor lo despierta unas cuatro veces en la noche. Considera que el temblor lo ha incapacitado más que la rigidez. Usa apoyo para caminar y es independiente para las actividades de la vida diaria. Cuando no toma la medicación se vuelve totalmente dependiente. Al examen presenta rigidez generalizada, inclinación del tronco, temblor en reposo que se aumenta con los movimientos de intención, rueda dentada izquierda, marcha parkinsoniana y dificultad para frenar la marcha una vez iniciada.

**Caso 2246:** paciente de 43 años, de sexo masculino. La enfermedad se inició a los 15 años con temblor en las extremidades derechas, que luego comprometió la mano

izquierda, pero nunca ha tenido temblor en el miembro inferior izquierdo. Inicialmente el temblor se presentaba por crisis de 10 minutos de duración en especial cuando se sentaba o se paraba; era temblor de reposo pero se acentuaba con los movimientos voluntarios. En los últimos 5 años ha tenido poco temblor. Desde los 25 años ha notado mucha rigidez que le causa dificultad para caminar. Desde esa edad notaba sus piernas como amarradas y comenzó a presentar limitaciones para trabajar. De los 15 a los 28 años trabajó muy poco y desde los 28 en adelante ha tenido muchas limitaciones para la marcha porque se acentuó la rigidez: "Al caminar no paraba donde él deseaba sino donde el cuerpo quisiera". Actualmente sufre muchas caídas en sus intentos de marcha. Es independiente para el autocuidado excepto cuando no toma los medicamentos. Su cuadro es sensible a levodopa. Ha tenido disartria desde los 15 años. Se controla con biperideno y levodopa. Presenta signos distónicos francos, temblor de reposo y rigidez.

Los seis hermanos restantes son asintomáticos y normales desde el punto de vista de la evaluación médica general y neurológica.

## Evaluación molecular

Previo consentimiento informado, se tomaron muestras de sangre venosa a la madre y a sus 10 hijos. El padre ya había fallecido. El ADN se extrajo mediante procedimientos estándares. Se evaluaron 10 marcadores genéticos tipo STR (por la sigla en inglés de *short tandem repeat*) (microsatélites) de los cuales cinco se localizan dentro del gen *PARK2* (Figura n.º 2). Estos marcadores se amplificaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los doce exones del gen *PARK2* se amplificaron por PCR<sup>9</sup> y luego se secuenciaron en un ABI-310 (*Applied Biosystems*) utilizando el estuche de secuencia *Big dye terminator* (*Perkin-Elmer*). Las PCR se

hicieron en un termociclador PE9700 (*Perkin-Elmer*), en volúmenes de 15 µL y 25 µL para los STR y los exones, respectivamente. Las temperaturas de alineamiento oscilaron entre 50-61 °C. Se usó buffer a una concentración final 1X, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,33 µM de cada primer, 1 unidad de Taq polimerasa, 10 pmol de cada deoxinucleótido (dNTP) y 50-100 ng de ADN genómico. La mutación *c.255delA* se analizó mediante PCR-RFLP (polimorfismo de longitud pleomórfica aleatoria), utilizando 5 unidades de la enzima de restricción BtsCI a 50 °C, toda la noche. Los productos de restricción se analizaron en gel de agarosa al 2,5% y se tiñeron con bromuro de etidio.

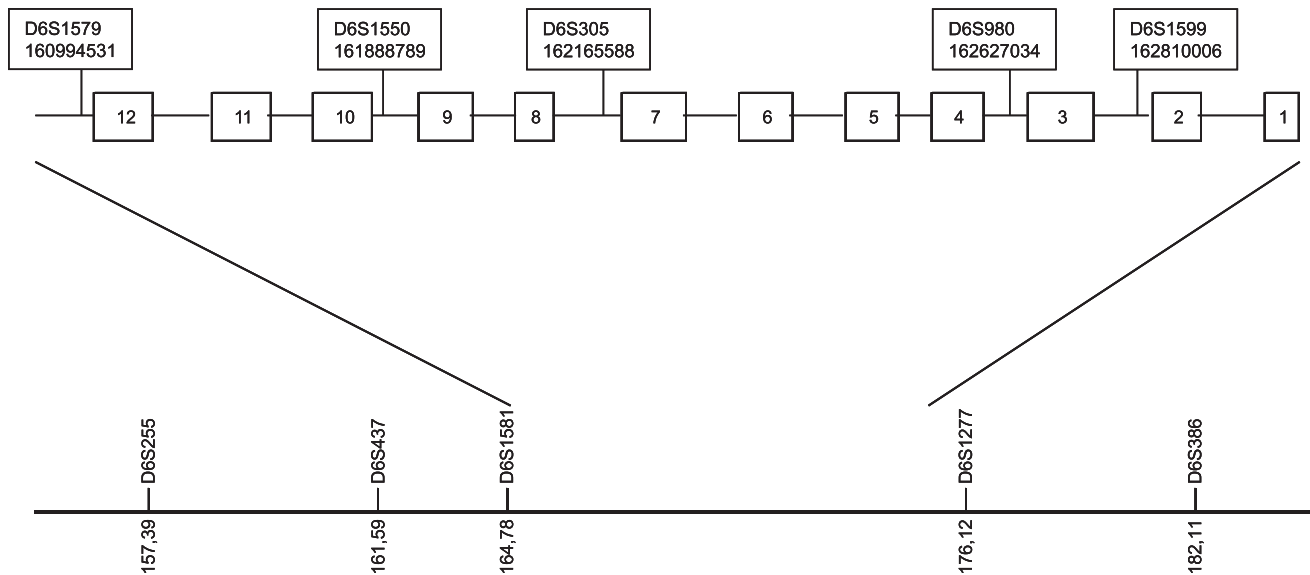


Figura n.º 2. Mapa genético de los marcadores STR evaluados en este estudio

Mapa genético de los marcadores STRs evaluados en este estudio. Estos marcadores se localizan en la región 6q25.2-q27. Modificado de la referencia 42. Los cuadros numerados del 1-12 representan los exones del gen *PARK2* y dan una idea del tamaño de cada uno. En la parte superior de la figura aparece la posición física para los marcadores intragénicos; mientras que en la parte inferior de la figura aparece la distancia genética de los marcadores que flanquean el gen *PARK2*.

## Análisis de haplotipos

Una vez obtenidos los genotipos para todos los individuos de la familia, se introdujeron en una base de datos que posteriormente fue convertida al formato *linkage*. Los

datos se procesaron con el paquete MEGA2<sup>43</sup> para luego analizarlos con las cadenas de Montecarlo implementadas en la aplicación Simwalk2.<sup>44</sup> Se dibujaron los haplotipos utilizando el programa HaploPainter.<sup>45</sup>

## RESULTADOS

La edad de inicio en los pacientes analizados (14-25 años) corresponde a la forma juvenil de la enfermedad (JPD). Todos los individuos afectados han presentado en algún momento de su vida temblor, rigidez y trastornos de la marcha. Sin embargo, mientras en uno predomina el temblor en otro lo hace la rigidez. Por lo menos dos de ellos han tenido movimientos distónicos asociados a la rigidez y el temblor. Llama la atención que en tres casos el temblor se inició de manera relativamente súbita y en forma de crisis antes de que se instalara un cuadro parkinsoniano persistente. En uno de ellos, incluso, las crisis de temblor le interrumpían con frecuencia el sueño. Tres de los cuatro afectados estaban en el estadio 4 de la escala de Hoehn Yar; el otro, en el estadio 3. En la escala unificada de párkinson tenían puntajes entre 69 y 121 mientras que todos los hermanos no afectados tenían un puntaje de cero, excepto una hermana asintomática con un puntaje de 1 que tenía leve rigidez en rueda dentada detectada con maniobras de sensibilización pero sin importancia clínica. Ninguno de los afectados presentaba demencia pese a que en el minimental puntuaban entre 20-26 y tenían alteraciones cognitivas leves. Todos tenían algunas limitaciones en las escalas funcionales por causa de la rigidez o el temblor. Todos eran sensibles a levodopa y consumidores de altas dosis de biperideno. La mayor consistencia se obtuvo para la escala Hoehn Yar y la menor discriminación, para el minimental (Tabla n.º 2).

El análisis de haplotipos reveló que los cuatro afectados comparten, en condición homocigota, toda la región evaluada, con excepción del marcador *D6S386*. Esta observación evidencia que los padres fueron portadores de un cromosoma idéntico por descendencia. Los individuos 2241 y 2465 presentaron cromosomas recombinantes en el intervalo *D6S305-D6S980*. Similarmente, los individuos 2242, 2244 y 2245 presentaron recombinaciones en el intervalo *D6S437-D6S1581*. Considerando las recombinaciones observadas en 2241 y 2465 junto con la extensión del haplotipo presente en los afectados, se pudo notar que el cromosoma mutante se caracterizaba por los alelos 1-2-2 en los marcadores *D6S980-D6S1599-D6S1277*, respectivamente (Figura n.º 1). El individuo 2247 no estuvo disponible para esta parte del análisis.

Se amplificaron los 12 exones del gen *PARK2* a partir de muestras correspondientes a individuos afectados,

excluyendo las deleciones homocigotas como la causa de la enfermedad en la familia estudiada.

El análisis de secuencia reveló una deleción homocigota de *c.255delA* (Figura n.º 3A) en el exón 2 de *PARK2*. El análisis de restricción de este exón permitió identificar la cosegregación de esta mutación con el haplotipo que se encuentra en condición homocigota en los afectados. Los individuos sanos de la familia son portadores de dicha mutación. Esta deleción se localiza en el exón 2 de *PARK2* y segrega con el haplotipo mínimo identificado 1-2-2 (Figuras n.º 1 y 3B).

## DISCUSIÓN

El propósito de este estudio fue evaluar el gen *PARK2* y su región flanqueante en una gran familia de origen caucano con enfermedad de párkinson juvenil (JPD). El gen con mayor implicación en la etiología de formas familiares y aun esporádicas de JPD y EOPD es *PARK2*.<sup>28,42</sup> En nuestro medio se han adelantado estudios previos en los que se han identificado al menos tres variantes genéticas en *PARK2*.<sup>41,42</sup> No obstante, el presente es el primer reporte de mutaciones en *PARK2* en una familia colombiana de una región diferente a Antioquia.

La edad de inicio fue similar (14-15 años) en tres de los cuatro individuos afectados; en el cuarto los síntomas comenzaron a los 25 años. Se halló que los individuos con un inicio más temprano de la enfermedad eran fumadores. La observación de rigidez detectada con pruebas de sensibilización y la presencia del signo de la rueda dentada en un individuo sano (2244) pueden aportar a la controversia sobre la presentación de síntomas o signos en portadores de mutaciones en *PARK2*.<sup>26,42</sup> Sin embargo, esta persona era clínicamente asintomática y por lo tanto no hubo ninguna dificultad en considerarla como no afectada.

Llama la atención que esta forma de enfermedad de Parkinson juvenil se inicia con frecuencia en forma de crisis de temblor antes de instalarse un cuadro parkinsoniano persistente, al igual que la presencia de movimientos distónicos en por lo menos dos de ellos. La enfermedad es progresiva, afecta tempranamente la vida laboral y evoluciona con alteraciones cognitivas leves.

El análisis de haplotipos reveló que ambos padres comparten en una gran extensión el cromosoma analizado. Esto es compatible con su relación biológica

cercana (primos hermanos). Este cromosoma se encontró en condición homocigota en los hijos afectados. Los hijos clínicamente sanos son portadores del cromosoma asociado con la enfermedad.

El secuenciamiento directo de los exones reveló la delección en condición homocigota, solo en los individuos afectados, de una adenina (A) en la posición 255 del cDNA de *PARK2* (*c.255delA*). Esta mutación causa el cambio del codón 52 (Asn) y en el codón 81 aparece un codón prematuro de paro de la traducción.<sup>39</sup> Esta proteína truncada carece de 385 aminoácidos que sí están en la proteína normal, la cual tiene 465 residuos.<sup>9</sup>

En el extremo carboxi de parkin se localiza un dominio ligasa de ubiquitina,<sup>22</sup> que es esencial para la función normal de la proteína codificada por *PARK2*. De esta forma se asume que la condición heterocigota protege contra el desarrollo del proceso de enfermedad, pues el alelo normal es suficiente para proteger la célula de la

acumulación de productos que deberían ir al proteosoma.<sup>22</sup> Es decir, el alelo normal es dominante sobre el alelo mutante.

Considerando que la mutación *c.255delA* ya ha sido reportada previamente en Europa<sup>24,39,40</sup> y que los ancestros de la mezcla racial que se produjo en nuestro país en tiempos de la Colonia incluyeron un alto porcentaje de personas provenientes de España, es posible que esta mutación haya llegado a Colombia desde allí. Alternativamente, puede pensarse que esta mutación haya ocurrido en un cromosoma diferente en nuestro país. Para verificar si esta es una mutación recurrente o no, es necesario evaluar tanto los cromosomas europeos como los colombianos que portan la misma mutación con STR o SNP (polimorfismos de un solo nucleótido) cercanos físicamente a dicha variante genética. Si se observara un mismo haplotipo entre los diferentes cromosomas europeos y colombianos, se confirmaría que la mutación llegó a Colombia desde Europa.

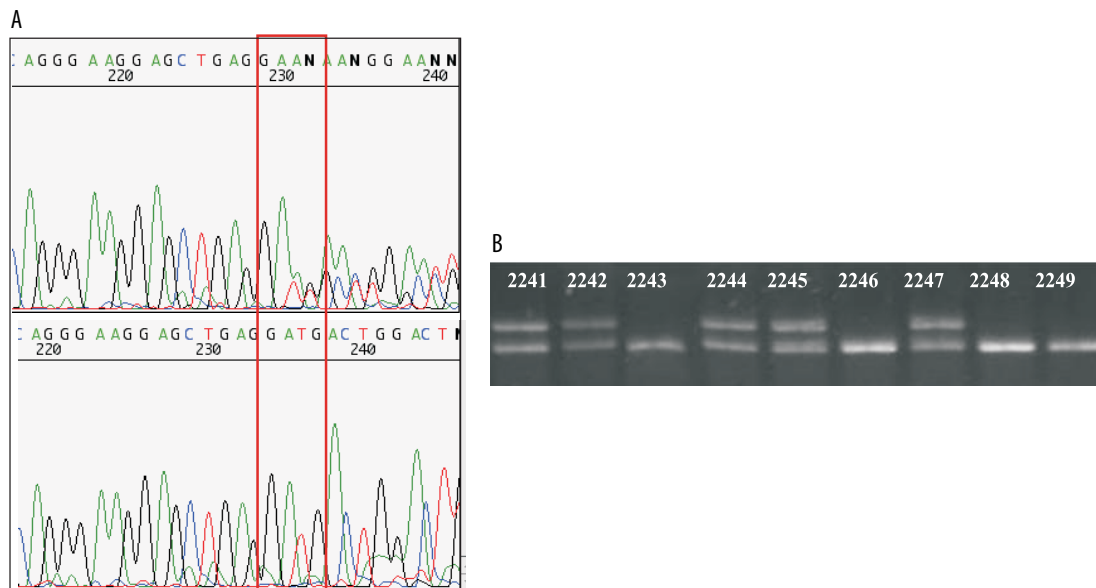


Figura n.º 3. Mutación *c.255delA* en el gen *PARK2*.

**A) Secuencia parcial del exón 2 del gen *PARK2*.** En el panel superior se observa la secuencia en condición heterocigota. En el recuadro rojo se observa la secuencia GAAN, mientras que en la secuencia correspondiente del panel inferior se observa solo una A (GATG). El panel superior corresponde a la secuencia de la madre (2464). El inferior corresponde a la secuencia de un individuo homocigoto y afectado para esta delección. **B) Gel de agarosa** en el que se muestra el resultado del ensayo de restricción de la mutación *c.255delA* usando la enzima BtsCI. La mutación genera el sitio de corte reconocido por la enzima de restricción. De este modo los individuos afectados presentan solo una banda de migración rápida. Este patrón de bandas se corresponde con la figura n.º 1.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clinical Neurosci* 2002;14: 223-236.
2. Lazzarini AM, Myers RH, Zimmerman TR, Jr., Mark MH, Golbe LI, Sage JI, et al. A clinical genetic study of Parkinson's disease: evidence for dominant transmission. *Neurology* 1994; 44: 499-506.
3. Pollanen MS, Dickson DW, Bergeron C. Pathology and biology of the Lewy body. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 183-191.
4. Zhu X, Babar A, Siedlak SL, Yang Q, Ito G, Iwatsubo T, et al. LRRK2 in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Mol Neurodegener* 2006; 1: 17.
5. de Rijk MC, Breteler MM, Graveland GA, Ott A, Grobbee DE, van der Meche FG, et al. Prevalence of Parkinson's disease in the elderly: the Rotterdam Study. *Neurology* 1995; 45: 2143-2146.
6. Poskanzer DC, Schwab RS. Studies in the epidemiology of Parkinson's disease predicting its disappearance as a major clinical entity by 1980. *Trans Am Neurol Assoc* 1961; 86: 234-235.
7. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983; 219: 979-980.
8. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276: 2045-2047.
9. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998; 392: 605-608.
10. Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, et al. The Ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 1998; 395: 451-452.
11. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 2003; 299: 256-259.
12. Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, Muqit MM, Harvey K, Gispert S, et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 2004; 304: 1158-1160.
13. Zimprich A, Biskup S, Leitner P, Lichtner P, Farrer M, Lincoln S, et al. Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* 2004; 44: 601-607.
14. Strauss KM, Martins LM, Plun-Favreau H, Marx FD, Kautzmann S, Berg D, et al. Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 2099-2111.
15. Spillantini MG, Crowther RA, Kamphorst W, Heutink P, van Swieten JC. Tau pathology in two Dutch families with mutations in the microtubule-binding region of tau. *Am J Pathol* 1998; 153: 1359-1363.
16. Gasser T, Muller-Myhok B, Wszolek ZK, Oehlmann R, Calne DB, Bonifati V, et al. A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13. *Nat Genet* 1998; 18: 262-265.
17. Farrer M, Gwinn-Hardy K, Muentner M, DeVrieze FW, Crook R, Perez-Tur J, et al. A chromosome 4p haplotype segregating with Parkinson's disease and postural tremor. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 81-85.
18. Williams DR, Hadeed A, Al-Din AS, Wreikat AL, Lees AJ. Kufor Rakeb Disease: Autosomal recessive, levodopa-responsive parkinsonism with pyramidal degeneration, supranuclear gaze palsy, and dementia. *Mov Disord* 2005; 20: 1264-1271.
19. Hicks AA, Petursson H, Jonsson T, Stefansson H, Johannsdottir HS, Sainz J, et al. A susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2002; 52: 549-555.
20. Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Rudolph A, Shults C, et al. Significant linkage of Parkinson disease to chromosome 2q36-37. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 1053-1057.
21. Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Murrell J, Rudolph A, et al. Genome-wide linkage analysis and evidence of gene-by-gene interactions in a sample of 362 multiplex Parkinson disease families. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 2599-2608.
22. Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, et al. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 2000; 25: 302-305.
23. Shimura H, Schlossmacher MG, Hattori N, Frosch MP, Trockenbacher A, Schneider R, et al. Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 2001; 293: 263-269.
24. Periquet M, Lucking C, Vaughan J, Bonifati V, Durr A, De Michele G, et al. Origin of the mutations in the parkin gene in Europe: exon rearrangements are independent recurrent events, whereas point mutations may result from founder effects. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 617-626.

25. Tanaka Y, Engelender S, Igarashi S, Rao R, Wanner T, Tanzi R, et al. Inducible expression of mutant alpha-synuclein decreases proteasome activity and increases sensitivity to mitochondria-dependent apoptosis. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 919-926.
26. Periquet M, Latouche M, Lohmann E, Rawal N, De Michele G, Ricard S, et al. Parkin mutations are frequent in patients with isolated early-onset parkinsonism. *Brain* 2003;126: 1271-1278.
27. Klein C, Pramstaller PP, Kis B, Page CC, Kann M, Leung J, et al. Parkin deletions in a family with adult-onset, tremor-dominant parkinsonism: expanding the phenotype. *Ann Neurol* 2000; 48: 65-71.
28. Lucking CB, Durr A, Bonifati V, Vaughan J, De Michele G, Gasser T, et al. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *New Engl J Med* 2000; 342: 1560-1567.
29. Nichols WC, Pankratz N, Uniacke SK, Pauculo MW, Halter C, Rudolph A, et al. Linkage stratification and mutation analysis at the Parkin locus identifies mutation positive Parkinson's disease families. *J Med Genet* 2002; 39: 489-492.
30. Hedrich K, Marder K, Harris J, Kann M, Lynch T, Meija-Santana H, et al. Evaluation of 50 probands with early-onset Parkinson's disease for Parkin mutations. *Neurology* 2002; 58: 1239-1246.
31. West A, Periquet M, Lincoln S, Lucking CB, Nicholl D, Bonifati V, et al. Complex relationship between Parkin mutations and Parkinson disease. *Am J Med Genet* 2002; 114: 584-591.
32. Polymeropoulos MH, Lippman MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Dilorio G, et al. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science* 1996; 274: 1197-1199.
33. Matsumine H, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, Tanaka H, Ishikawa A, Nakagawa-Hattori Y, et al. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25.2-27. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 588-596.
34. Jones AC, Yamamura Y, Almasy L, Bohlega S, Elibol B, Hubble J, et al. Autosomal recessive juvenile parkinsonism maps to 6q25.2-q27 in four ethnic groups: detailed genetic mapping of the linked region. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 80-87.
35. Li YJ, Scott WK, Hedges DJ, Zhang F, Gaskell PC, Nance MA, et al. Age at onset in two common neurodegenerative diseases is genetically controlled. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 985-993.
36. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlihan H, et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998; 393: 702-705.
37. Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M, et al. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 895-900.
38. van Duijn CM, Dekker MC, Bonifati V, Galjaard RJ, Houwing-Duistermaat JJ, Snijders PJ, et al. Park7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 629-634.
39. Abbas N, Lucking CB, Ricard S, Durr A, Bonifati V, De Michele G, et al. A wide variety of mutations in the parkin gene are responsible for autosomal recessive parkinsonism in Europe. French Parkinson's Disease Genetics Study Group and the European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 567-574.
40. Munoz E, Tolosa E, Pastor P, Marti MJ, Valdeoriola F, Campdelacreu J, et al. Relative high frequency of the c.255delA parkin gene mutation in Spanish patients with autosomal recessive parkinsonism. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73: 582-584.
41. Pineda-Trujillo N, Carvajal-Carmona LG, Buritica O, Moreno S, Uribe C, Pineda D, et al. A novel Cys212Tyr founder mutation in parkin and allelic heterogeneity of juvenile Parkinsonism in a population from North West Colombia. *Neurosci Lett* 2001; 298: 87-90.
42. Pineda-Trujillo N, Apergi M, Moreno S, Arias W, Lesage S, Franco A, et al. A genetic cluster of early onset Parkinson's disease in a Colombian population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006; 141: 885-889.
43. Mukhopadhyay N, Almasy L, Schroeder M, Mulvihill WP, Weeks DE. Mega2: data-handling for facilitating genetic linkage and association analyses. *Bioinformatics (Oxford, England)* 2005; 21: 2556-2557.
44. Sobel E, Lange K. Descent graphs in pedigree analysis: applications to haplotyping, location scores, and marker-sharing statistics. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 1323-1337.
45. Thiele H, Nurnberg P. HaploPainter: a tool for drawing pedigrees with complex haplotypes. *Bioinformatics (Oxford, England)* 2005; 21: 1730-1732.

