

(12)

Nie tylko neuropatia wzrokowa: nowe aspekty molekularne i kliniczne mutacji w genie *OPA1*

Not only optic neuropathy: new molecular and clinical aspects of OPA1 gene mutations

Monika Ołdak^{1,2,3}, Aneta Ścieżyńska¹, Kamil Szulborski², Jacek P. Szaflik^{2,4}, Jerzy Szaflik^{2,4}

¹ Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Centrum Biostruktury, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. Jacek Malejczyk

² Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny w Warszawie
Kierownik: prof. dr. hab. n. med. Jerzy Szaflik

³ Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu w Kajetanach
Kierownik: prof. dr. hab. n. med. Henryk Skarżyński

⁴ Katedra i Klinika Okulistyki II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr. hab. n. med. Jerzy Szaflik

Streszczenie: Autosomalny dominujący zanik nerwów wzrokowych jest najczęstszą dominującą neuropatią wzrokową. Główną przyczyną tej choroby są mutacje w genie *OPA1*, które wykrywa się u ok. 60% pacjentów. Kodowane przez genom jądrowy białko *OPA1* odgrywa ważną rolę w szeregu procesów kluczowych dla prawidłowego funkcjonowania mitochondriów. Udział białka *OPA1* w wielu z nich odkryto dopiero niedawno. Szczegółowe badanie pacjentów z mutacjami w genie *OPA1* pokazało, że ok. 20% z nich prezentuje objawy choroby wieloukładowej, która może obejmować niedosłuch, postępującą zewnętrzną oftalmoplegię, ataksję, miopatię, obwodową neuropatię, spastyczne porażenie kończyn i chorobę przypominającą stwardnienie rozsiane. Taki obraz kliniczny jest trudny do różnicowania z innymi chorobami neurodegeneracyjnymi, dlatego bardzo ważna jest możliwość wykonania u tych pacjentów badań genetycznych identyfikujących molekularne podłoże choroby.

Słowa kluczowe: *OPA1*, mutacja, mitochondria, neuropatia wzrokowa, zespół ADOA plus.

Summary: Autosomal dominant optic nerve atrophy is the most frequent dominantly inherited optic neuropathy. The main causes of the disease are *OPA1* gene mutations, which are detected in about 60% of patients. Encoded by the nuclear genome the *OPA1* protein plays an important role in a wide variety of processes crucial to the proper functioning of mitochondria, the role of *OPA1* in many of them has been discovered recently. A detailed study of patients with mutations in the *OPA1* gene has shown that about 20% of them present symptoms of a multiple system disease, which may include hearing loss, progressive external ophthalmoplegia, ataxia, myopathy, peripheral neuropathy, spastic paraparesis and multiple sclerosis-like illness. This clinical manifestation is difficult to differentiate from other neurodegenerative diseases, that is why genetic testing is very important in order to determine the molecular basis of the disease in these patients.

Key words: *OPA1*, mutation, mitochondria, optic neuropathy, ADOA plus syndrome.

1. Wstęp

Najczęstszymi dziedzicznymi zaburzeniami nerwu wzrokowego (n. II), które spotyka się w praktyce klinicznej, są autosomalny dominujący zanik nerwów wzrokowych (ang. autosomal dominant optic atrophy – ADOA; dziedziczny zanik nerwów wzrokowych typu Kjera) i dziedziczna neuropatia wzrokowa Lebera (ang. Leber's hereditary optic neuropathy – LHON). Obie należą do grupy mitochondrialnych dziedzicznych neuropatii wzrokowych. Podczas gdy LHON powodowany jest mutacjami w obrębie mitochondrialnego DNA i u ok. 90% chorych wykrywa się jedną z trzech mutacji (m.3460G>A, m.11778G>A lub m.14484T>C), u ok. 60% pacjentów z ADOA identyfikowana jest mutacja w genie *OPA1* (1, 2). Kodowane przez genom jądrowy białko *OPA1* jest transportowane do mitochondriów, tam spełnia swoją rolę.

Zaburzenia funkcji mitochondriów manifestują się zwykle w tkankach o wysokim zapotrzebowaniu energetycznym, takich

jak ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy, narządy wzroku i słuchu, układ mięśniowy i mięsień sercowy. U części pacjentów z LHON oprócz neuropatii wzrokowej obserwuje się również zaburzenia rytmu serca, drżenie pozycyjne kończyn górnych, neuropatię obwodową, miopatię i zaburzenia ruchowe (3–5).

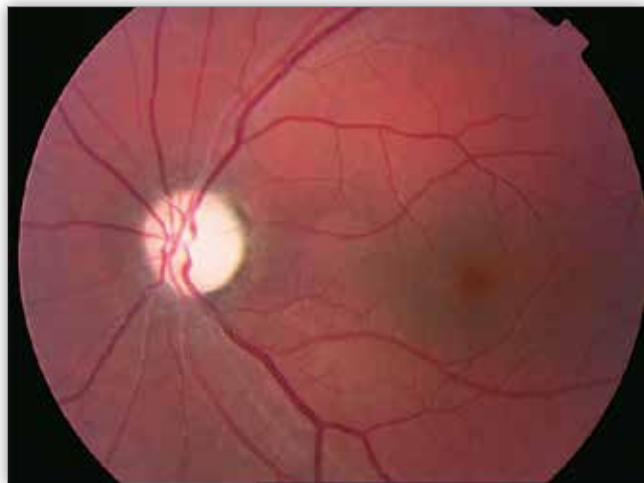
Wyniki ostatnio przeprowadzonych badań ujawniły wiele nowych funkcji, w które zaangażowane jest białko *OPA1*. Pokazały ponadto, że u pacjentów z mutacjami *OPA1* poza neuropatią wzrokową mogą występować również, częściej niż dotychczas sądzono, zaburzenia funkcjonowania innych narządów.

2. Autosomalny dominujący zanik nerwów wzrokowych

ADOA ujawnia się klinicznie w I dekadzie życia jako podstępne, obustronne, postępujące obniżenie ostrości wzroku. W badaniu dna oka zwracają uwagę błądź tarczy nerwu wzrokowego, a zwłaszcza zblednięcie jej skroniowej części

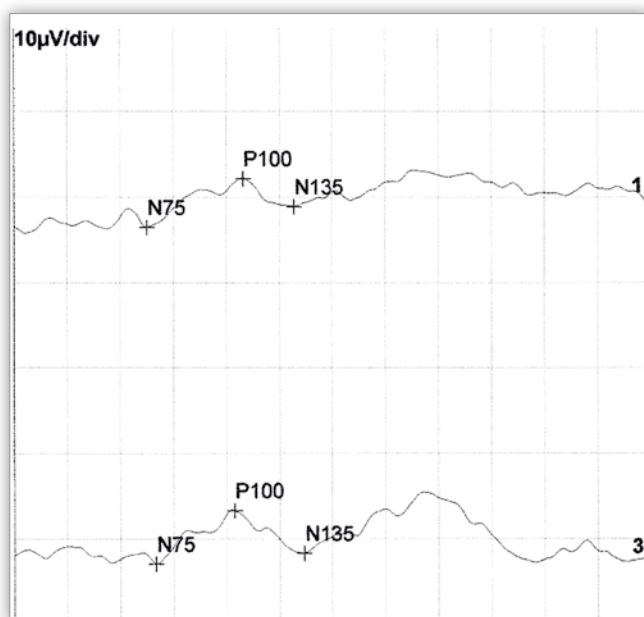
(ryc. 1.), oraz podwyższona wartość współczynnika c/d. Może występować również okołotarczowy zanik siatkówkowo-naczyniówkowy. U pacjentów z ADOA część skroniowa tarczy nerwu wzrokowego ma charakterystyczne trójkątne klinowate zagłębienie, jest blada i pozbawiona powierzchniowych naczyń. W tej części tarczy znajdują się włókna pęczka tarczowo-plamkowego, najkrótsze włókna nerwu wzrokowego wcześniej ulegające uszkodzeniu w ADOA. Zanik n. II w przebiegu ADOA może obejmować nie tylko część skroniową, ale całą tarczę nerwu wzrokowego (6) (ryc. 1.). U pacjentów z ADOA zaleca się wykonywanie badania optycznej koherentnej tomografii komputerowej (ang. optical coherence tomography – OCT) z pomiarem grubości włókien nerwowych siatkówki (ang. retinal nerve fiber layer – RNFL) i ocenę wielkości tarczy n. II (7, 8).

Pacjenci z ADOA mają zaburzenia widzenia barw, które początkowo dotyczą osi niebiesko-żółtej (tritanopia), później przechodzą w zaburzenia widzenia w osi czerwono-zielonej, ale opisywana jest również niespecyficzna dyschromatopsja (9).



Ryc. 1. Dno oka u pacjenta z ADOA.

Fig. 1. Ocular fundus in patient with ADOA.



Ryc. 2. PVEP u pacjenta z ADOA (odpowiednio oko prawe i oko lewe).

Fig. 2. PVEPs in patient with ADOA (right and left eye, respectively).

W badaniu pola widzenia obserwuje się mroczek centralny lub paracentralny. W badaniu rezonansu magnetycznego (ang. magnetic resonance imaging – MRI) kompleksy włókien nerwowych i ich osłonek mają zmniejszoną grubość, dobrze widoczna jest przestrzeń płynu mózgowo-rdzeniowego między osłonką nerwową a nerwem wzrokowym (10).

U pacjentów z ADOA wyniki badania wzrokowych potencjałów wywołanych wzorcem (ang. pattern visually evoked potentials – PVEP) są nieprawidłowe (11). Wydłużenie latencji fali P100 w badaniu PVEP wskazuje na zaburzenie przewodzenia w n. II. Redukcja amplitudy fali N95 w badaniu PVEP odpowiada pierwotnemu uszkodzeniu komórek zwojowych (ryc. 2.) (6). Patologię komórek zwojowych siatkówki dokumentują również wyniki badań histopatologicznych. Utrata komórek zwojowych siatkówki w przebiegu ADOA następuje początkowo w obszarze plamki i pęczka tarczowo-plamkowego, które odpowiadają za widzenie centralne. Towarzyszy jej niezapalna demielinizacja aksonów (12).

W ostatnim dużym badaniu epidemiologicznym oszacowano częstość występowania ADOA na 1: 35 000 (1), z jeszcze większą częstością (1:12 000) choroba występuje w populacji duńskiej (13). ADOA jest również określany jako dziedziczny zanik nerwów wzrokowych typu Kjera. Nazwa ta pochodzi od nazwiska duńskiego okulisty Poula Kjera, który w 1959 roku scharakteryzował 19 rodzin z dziecięcym zanikiem nerwów wzrokowych o dominującym toku dziedziczenia (14). Jednak dopiero w roku 2000 dwie grupy badawcze niezależnie od siebie zidentyfikowały, zlokalizowany w obrębie długiego ramienia chromosomu 3 (3q28), gen *OPA1*, którego mutacje prowadzą do wystąpienia ADOA (15, 16). *OPA1* jest głównym genem związanym z ADOA, jego mutacje wykrywane są u ok. 60% pacjentów (2, 17).

3. Podłoże genetyczne ADOA – mutacje w genie *OPA1*

Kodowane przez gen *OPA1* białko strukturalnie podobne jest do dynamin, białek związanych z procesem transportu pęcherzykowego i podziałem organelli komórkowych (18). Białko *OPA1* wykazuje aktywność guanozyno-5'-trifosfatazy (GTP-azy) i zawiera sekwencję aminokwasową determinującą jego lokalizację w mitochondriach. Dotychczas opisano ponad 280 różnych mutacji genu *OPA1*. Dominują wśród nich mutacje typu stop-kodon (ang. nonsense mutation), które prowadzą do skrócenia białka, i substytucje nukleotydowe typu zmiany sensu (ang. missense mutation), które prowadzą do zmiany jednego z kodowanych aminokwasów w sekwencji białka. W genie *OPA1* wykrywane są ponadto mutacje zaburzające składanie transkryptu, które w różny sposób mogą zmieniać sekwencję kodowanego białka oraz delecje i rzadziej insercje, obejmujące różnej wielkości fragmenty genu *OPA1* (www.hgmd.org). U osób z tą samą mutacją, jak też w przypadku nosicieli różnych mutacji w genie *OPA1* obserwowana jest bardzo duża zmienność obrazu klinicznego.

Mutacje w genie *OPA1* są wykrywane w obrębie całego genu (eksony 1–31), ale w dwóch jego obszarach kodujących odpowiednio: sekwencję odpowiadającą aktywności GTP-azy (eksony 8-15) i sekwencję odpowiadającą centralnemu regionowi dynaminowemu (eksony 16–23), identyfikowane są znacznie częściej. Najczęstszą mutacją w populacji kaukaskiej jest, obejmująca koniec karboksylowy białka i przesuwająca ramkę odczytu, delecja czterech nukleotydów TTAG (c.2708delTTAG)

(13). Mutacja ta nie została znaleziona w badanej grupie polskich pacjentów (praca doktorska p. Anny Wawrockiej, 2008).

ADOA dziedziczy się jak cecha autosomalna dominująca i do wystąpienia objawów choroby wystarczy mutacja w jednym z dwóch alleli genu *OPA1*. Ryzyko przekazania mutacji potomstwu, niezależnie od jego płci, wynosi 50%. Jednak nie wszyscy nosiciele mutacji w genie *OPA1* mają objawy ADOA. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że dotyczy to średnio ok. 50% z nich. Jest to związane z tzw. niepełną penetracją mutacji. Czynniki modulujące, odpowiedzialne za to zjawisko w przypadku genu *OPA1*, pozostają na razie słabo poznane (2, 13). Van Bergen i wsp. w badaniach własnych dowiedli, że u pacjentów, którzy mają znacznie obniżoną ostrość wzroku i mutację w genie *OPA1*, proces syntezy ATP w mitochondriach był wyraźnie zaburzony. Przeciwnie do tego u pacjentów, którzy mają względnie dobrą ostrość wzroku i mutację w genie *OPA1*, poziom syntezy ATP w mitochondriach był prawidłowy. W pacjentów z tej grupy obserwowano zwiększoną aktywność dalszych kompleksów łańcucha oddechowego, która umożliwiała tym osobom zachowanie syntezy ATP na prawidłowym poziomie i w ten sposób prawdopodobnie kompensowała efekty mutacji *OPA1* (19).

Uważa się, że głównym mechanizmem patogenetycznym ADOA jest niewystarczający poziom białka *OPA1* w komórkach. Na skutek mutacji genu *OPA1* zwykle jeden z dwóch alleli, w wyjątkowych sytuacjach mogą to być oba allele (20), genu *OPA1* ulega uszkodzeniu. Prowadzi to do powstawania w komórkach zbyt małych ilości białka *OPA1*, które są niewystarczające do prawidłowego funkcjonowania komórek. Mechanizm powstawania choroby genetycznie uwarunkowanej na skutek niewydolności jednego allelu określany jest jako haploinsuficjencja. W piśmiennictwie opisywane są przypadki rodzin z ADOA, w których doszło do rozległych delecji obejmujących cały obszar genu *OPA1*. Takie przykłady dodatkowo potwierdzają znaczenie mechanizmu niewydolności jednego allelu w rozwoju ADOA (21, 22).

Jednak u ok. 30% pacjentów z ADOA mechanizmem prowadzącym do powstania choroby wydaje się tzw. efekt dominujący negatywny (23). W tej sytuacji główną konsekwencją mutacji genu *OPA1* nie jest zmniejszony poziom prawidłowego białka *OPA1*, ale zmienione na skutek mutacji białko *OPA1* wywiera dodatkowy efekt „toksyczny”, powodując na przykład wtórne uszkodzenie mitochondrialnego DNA (mtDNA) (24–26). To, w jaki sposób zmutowane białko *OPA1* może wpływać na kumulowanie się licznych delecji mtDNA, jest przedmiotem intensywnych badań. Obecnie *OPA1* jest klasyfikowany jako piąty z dotychczas poznanych genów związanych z powstawaniem tzw. zespołów łamliwości mtDNA (ang. mtDNA breakage syndromes) (27).

4. Zespół ADOA plus – neuropatia wzrokowa i towarzyszące objawy

W większości przypadków ADOA przebiega w postaci izolowanej, obustronnej neuropatii wzrokowej, niebędącej częścią zespołu genetycznie uwarunkowanego. Jednak wyniki przeprowadzonych ostatnio wielośrodkowych badań pokazały, że u około 15–20% pacjentów z potwierdzoną mutacją *OPA1* występuje wieloukładowa choroba neurologiczna (23, 28), opi-

sywana w piśmiennictwie również jako fenotyp ADOA plus lub zespół ADOA plus (Tab. I).

Zespół ADOA plus – wieloukładowa choroba neurologiczna/ ADOA plus syndrome – mult-system neurological disease
● neuropatia wzrokowa/ optic neuropathy
● niedosłuch zmysłowo-nerwowy/ sensorineural hearing loss
● ataksja/ ataxia
● miopatia/ myopathy
● obwodowa neuropatia/ peripheral neuropathy
● przewlekła, postępująca zewnętrzna oftalmoplegia/ chronic progressive external ophthalmoplegia
● spastyczna parapareza/ spastic paraparesis
● objawy przypominające stwardnienie rozsiane/ multiple sclerosis-like symptoms

Tab. I. Cechy fenotypowe identyfikowane w przebiegu zespołu ADOA plus.

Tab. I. Phenotypic features identified in the ADOA plus syndrome.

Wśród objawów pozaocznych dominuje niedosłuch, który rozwija się w późnym dzieciństwie lub we wczesnej dorosłości (druga, trzecia dekada życia) i dotyka około 60% pacjentów z zespołem ADOA plus. Stopień niedosłuchu może być bardzo różny – od łagodnego, przez umiarkowany, do głębokiego – i może dotyczyć zarówno niskich, jak i wysokich częstotliwości, występuje tu duża zmienność wewnątrz- i międzyrodzinną. Słuchowe potencjały wywołane (ang. Auditory Brain stem Responses – ABR), które odzwierciedlają ciągłość drogi słuchowej od nerwu słuchowego do ciała kolankowatego bocznego, są nieobecne u tych pacjentów. Natomiast wyniki badania otoemisji akustycznej wywołanej (ang. Evoked OtoAcoustic Emissions – EOAE), które odzwierciedlają funkcjonalność elementów presynaptycznych, zwłaszcza zewnętrznych komórek rzęsatych, są prawidłowe (29). Niedosłuch najczęściej segreguje z mutacją *p.Arg445His* w genie *OPA1*, ale coraz częściej diagnozowany jest również u pacjentów z innymi mutacjami *OPA1* (23, 29, 30).

Do innych objawów klinicznych, które rozwijają się od trzeciej dekady życia u pacjentów z zespołem ADOA plus, należą ataksja, miopatia, obwodowa neuropatia i przewlekła, postępująca zewnętrzna oftalmoplegia (ang. chronic progressive external ophthalmoplegia – CPEO). Mutacje genu *OPA1* zostały również zidentyfikowane u pacjentów z autosomalną dominującą paraplegią spastyczną, były to mutacje typu stop kodon, prowadzące do przedwczesnej terminacji translacji. Mutacje te występowały w tych rodzinach wraz z zanikiem nerwów wzrokowych i spastyczną paraparezą. Mutacje w genie *OPA1* wykryto też u osób z zaburzeniami widzenia w przebiegu choroby przypominającej stwardnienie rozsiane (23).

U pacjentów z zespołem ADOA plus wykrywano wszystkie typy mutacji w genie *OPA1*, jednak mutacje typu zmiany sensu i mutacje obejmujące domenę GTP-azową białka wiążą się z ponad 3-krotnie wyższym ryzykiem rozwoju zespołu ADOA plus. Chociaż warianty zespołu ADOA plus wykazują dużą

zmienność fenotypową, jego stałą cechą jest gorsze rokowanie odnośnie do widzenia pacjentów w porównaniu do izolowanej neuropatii wzrokowej (ADOA) (23).

Wyjątkową podatność n. II na efekty mutacji *OPA1* próbuje się tłumaczyć jego szczególnymi anatomicznymi ograniczeniami. Tworzące n. II aksony komórek zwojowych siatkówki są otoczone osłonką mielinową dopiero po przejściu przez blaszkę sitową (*lamina cribrosa*). W związku z tym przewodzenie potencjałów czynnościowych w części bezmielinowej n. II jest mniej efektywne i wymaga większych nakładów energetycznych. W części bezmielinowej n. II znajduje się znacznie więcej mitochondriów niż w części n. II z osłonką mielinową. Bezmielinowa część nerwu wzrokowego jest bardzo wrażliwa nawet na niewielkie zaburzenia wytwarzania energii w mitochondriach i dystrybucji mitochondriów wzdłuż aksonów, stąd dominująca w obrazie klinicznym neuropatia wzrokowa u pacjentów z mutacjami w genie *OPA1*. Najmniejszą rezerwę mitochondrialną mają krótkie i o małej powierzchni przekroju włókna pęczka tarczowo-plamkowego (papillomacular bundle). Zajęcie tych najkrótszych włókien n. II nie jest jednak specyficzne dla ADOA i jest obserwowane w innych neuropatiach wzrokowych zarówno uwarunkowanych genetycznie, jak i nabytych, które są konsekwencją dysfunkcji mitochondriów (2, 31).

5. Mitochondria i OPA1

Mitochondria są organellami niezwykle dynamicznymi i różnicowanymi. Zachowanie równowagi między stale zachodzącymi przeciwstawnymi procesami fuzji, czyli łączenia się mitochondriów i ich podziałem, jest kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania mitochondriów, a w konsekwencji komórek i narządów (32).

Po imporcie do mitochondrium w przestrzeni międzybłonowej mitochondrium białko OPA1 jest cięte przez mitochondrialne proteazy. Prowadzi to do wytworzenia postaci krótkiej białka (OPA1S), pozbawionej domeny transbłonowej, i postaci długiej białka (OPA1L), zawierającej domenę transbłonową, która jest wbudowana w wewnętrzną błonę mitochondrium. Obie ww. postaci biorą udział w procesie fuzji mitochondriów. OPA1 jest jak na razie jedynym poznanym białkiem uczestniczącym w fuzji wewnętrznej błony mitochondrialnej i bierze aktywny udział w utrzymaniu ściśle ze sobą połączonej sieci mitochondrialnej w komórce (33).

Zaburzenie równowagi między fuzją mitochondriów a ich podziałem – zaburzenia dynamiki mitochondriów u pacjentów z mutacją w genie *OPA1*, czyni komórki bardziej wrażliwe na sygnały proapoptotyczne. Może odbywać się to pośrednio poprzez upośledzenie podstawowych funkcji mitochondriów, tj. produkcji energii, tworzenia reaktywnych form tlenu, metabolizmu kardiolipin, homeostazy wapnia, lub bezpośrednio poprzez interakcję OPA1 z białkami pro- i/lub antyapoptotycznymi w błonie mitochondriów (34).

Rolą białka OPA1 w komórce jest również utrzymanie właściwej struktury wewnętrznej błony mitochondrialnej, której fałdy tworzą typowe dla mitochondriów grzebienie mitochondrialne (35). W przestrzeniach grzebieni mitochondrialnych OPA1 rozmieszcza cząsteczki cytochromu c, białka o właściwościach proapoptotycznych, zapobiegając jego wydostawaniu się do cytoplazmy i związanej z tym indukcji apoptozy (34, 36).

Białko OPA1 bierze również udział w utrzymaniu potencjału błonowego i procesach metabolicznych związanych z wytwarzaniem w mitochondriach energii w postaci ATP. OPA1 stabilizuje kompleksy łańcucha oddechowego w błonie mitochondrialnej, regulując w ten sposób proces fosforylacji oksydacyjnej i ułatwia efektywne sprzężenie transportu elektronów z syntezą ATP (37, 38).

Coraz więcej jest dowodów na udział OPA1 w utrzymaniu integralności genomu mitochondrialnego. Każda komórka człowieka zawiera setki mitochondrialnego DNA, które zorganizowane są w białkowo-nukleinowe kompleksy nazywane nukleoidami. Białko OPA1 uczestniczy w doczepianiu nukleoidu do wewnętrznej błony mitochondrialnej, jego rozmieszczeniu w mitochondriach, jak również w procesie replikacji mtDNA (24, 25, 39).

Badania histochemiczne i molekularne pokazały, że w biopsjach mięśni szkieletowych dużej części pacjentów z mutacją w genie *OPA1* występują liczne delecje mitochondrialnego DNA i niedobór włókien mięśniowych z aktywnością oksydazy cytochromu c (ang. cytochrome c oxidase – COX). COX jest dużym kompleksem białkowym w wewnętrznej błonie mitochondrium i jest ostatnim białkiem łańcucha oddechowego. Część podjednostek COX kodowana jest przez genom mitochondrialny. Poziom niedoboru oksydazy cytochromu c (COX) był wyższy u pacjentów z ADOA i objawami z innych układów niż u pacjentów tylko z neuropatią wzrokową. Obserwacja ta sugeruje związek między akumulacją wtórnych somatycznych delecji mtDNA a rozwojem choroby wieloukładowej (23).

Co więcej, u pacjentów z fenotypem ADOA plus obserwowano większą proliferację mtDNA w pozbawionych aktywności COX włóknach mięśni szkieletowych niż u pacjentów tylko o fenotypie ADOA. Wydaje się, że mechanizm ten pełni rolę kom-

Funkcje białka OPA1/ OPA1 protein function
• udział w procesie fuzji mitochondriów/ participates in mitochondrial fusion
• utrzymanie prawidłowej struktury grzebieni mitochondrialnych/ maintains proper structure of mitochondrial cristae
• kontrola rozmieszczania cytochromu c między grzebieniami mitochondrialnymi/ controls the distribution of cytochrome c between mitochondrial cristae
• udział w utrzymaniu potencjału błonowego/ maintains plasma membrane potential
• regulacja procesu wytwarzania ATP w mitochondriach/ regulates ATP production in mitochondria
• utrzymanie integralności genomu mitochondrialnego/ maintains the integrity of the mitochondrial genome
• regulacja aktywności oksydazy cytochromu c (COX)/ regulates cytochrome c oxidase activity
• regulacja procesu lipolizy/ regulates lipolysis
• udział w prawidłowym różnicowaniu kardiomiocytów/ participates in cardiomyocyte differentiation

Tab. II. Funkcje białka OPA1.

Tab. II. OPA1 protein function.

pensacyjną, której celem jest utrzymanie określonego poziomu prawidłowego mtDNA. Jeśli jednak liczba cząsteczek mtDNA z delecją jest znaczna, dalsza proliferacja mtDNA prowadzi głównie do namnożenia cząsteczek mtDNA z delecją i utraty aktywności COX (40).

Nowe badania wskazują, że *OPA1* może pełnić również funkcję poza mitochondriami. W komórkach tłuszczowych białko *OPA1* występuje w mitochondriach, ale również związane jest z kroplami tłuszczu, uczestniczy wówczas w tworzeniu kompleksu białkowej kinazy A (PKA) i perylipiny. Wydaje się, że ta funkcja *OPA1* jest konieczna do fosforylacji perylipiny przez PKA i do procesu lipolizy będącego jej konsekwencją. Wyciszenie ekspresji genu *OPA1* hamuje lipolizę indukowaną katecholaminami (41). Wyniki tych badań, chociaż bardzo interesujące, nasuwają jeszcze wiele pytań i dlatego niezbędne jest kontynuowanie badań w celu potwierdzenia roli *OPA1* w procesie lipolizy. Dotychczas nie opisywano zaburzeń metabolizmu lipidów u pacjentów z mutacjami w genie *OPA1* (42) (tab. II).

6. *OPA1* w komórkach mięśniowych – wyniki ostatnich badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych

Mutacje obejmujące oba allele genu *OPA1* są letalne w okresie zarodkowym u myszy. Unieczynnienie (ang. gene-trapping) genu *OPA1* w eksperymentach *in vitro*, w czasie różnicowania embrionalnych komórek macierzystych do kardiomiocytów, prowadzi do zahamowania rozwoju serca. Wyniki tych badań ujawniły zupełnie nową rolę białka *OPA1* i fuzji mitochondriów, która jest związana z prawidłowym różnicowaniem kardiomiocytów. Pokazały, że zaburzenia morfologii organelli komórkowej mogą przekierować zdeteminowany procesem różnicowania los komórek (43).

Mutacje w jednej kopii genu *OPA1* u myszy, poza zaburzeniami widzenia z towarzyszącymi zmianami w siatkówce i n. II, mogą prowadzić do rozwoju niedosłuchu, encefalomiopatii, obwodowej neuropatii, ataksji, ale również kardiomiopatii (44, 45). W porównaniu do zwierząt bez mutacji u myszy z mutacją jednej kopii genu *OPA1* od 12 miesiąca życia równoległe do rozwoju zaburzeń widzenia obserwowano zmniejszone masę serca i rozmiary jam serca, obniżoną frakcję skracania lewej komory (LVFS), obniżoną pojemność minutową serca (CO) i obniżoną kurczliwość mięśnia serca (44).

Zaburzenia pracy mięśnia serca wynikały z zaburzonej funkcji poszczególnych kardiomiocytów i nie były powodowane zmniejszeniem liczby tych komórek. W badaniach na poziomie molekularnym nie znaleziono cech wzmożonej apoptozy kardiomiocytów w mięśniach serca u myszy z mutacją *OPA1*. Zauważono natomiast nieprawidłową organizację i zmniejszoną liczbę mitochondriów, a także zmniejszoną liczbę kopii mtDNA w tych komórkach. Zmianom na poziomie strukturalnym towarzyszyły zmiany funkcjonalne. Kardiomiocyty z mutacją *OPA1* wykazywały obniżoną zdolność do produkcji ATP, zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu i mniejszą ekspresję genów antyoksydacyjnych (44).

Wyniki te wskazują, że mutacja *OPA1* może sprzyjać większej podatności kardiomiocytów na szkodliwe działanie reaktywnych form tlenu, które mogą być indukowane w trakcie niedotlenienia i reperfuzji mięśnia serca. Długotrwale podwyższone ciśnienie tętnicze może również bardziej uszkadzać mięsień sercowy u myszy z mutacją genu *OPA1*, prowadząc do jego hipertrofii bardziej nasilonej niż u zwierząt bez mutacji w tym genie (46).

Wprawdzie u pacjentów z mutacjami *OPA1* nie opisywano kardiomiopatii, jednak u osób z upośledzoną funkcją mitochondriów często obserwuje się zaburzenia przewodzenia w sercu. W związku z tym u pacjentów z mutacjami w genie *OPA1* należy rozważyć dokładną ocenę kardiologiczną.

Zmniejszoną liczbę mitochondriów obserwowano nie tylko w mięśniu sercowym, ale również w mięśniach szkieletowych u myszy z mutacją genu *OPA1* w sytuacji wzmożonego wysiłku fizycznego. Warte uwagi jest to, że niezależnie od obecności mutacji w genie *OPA1* zwierzęta te były w stanie wykonać tę samą aktywność fizyczną co zwierzęta z grupy kontrolnej. W trakcie treningu fizycznego radziły sobie z niedostatecznym wytwarzaniem mitochondriów, wykorzystując inny proces adaptacyjny polegający na zwiększonym wykorzystaniu kwasów tłuszczowych do produkcji energii (47).

7. Podsumowanie

Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach pokazały, że pacjenci z mutacjami w genie *OPA1* mogą stosunkowo często manifestować znacznie szersze spektrum fenotypowe niż tylko neuropatię wzrokową. Czasami objawy te są klinicznie trudne do różnicowania z innymi chorobami neurodegeneracyjnymi, takimi jak choroba Charcota-Mariego-Tootha, dziedziczna paraplegia spastyczna, stwardnienie rozsiane, dlatego bardzo ważne jest, aby u tych pacjentów wykonać badania genetyczne identyfikujące molekularne podłoże choroby.

Zaburzenia neurologiczne u pacjentów z mutacjami w genie *OPA1* mogą być łatwo przeoczone i tłumaczone obecnymi u nich zaburzeniami widzenia. U chorych na neuropatię wzrokową należy zwracać uwagę na towarzyszące objawy. Chociaż na razie nie ma skutecznego leczenia zaburzeń wywołanych mutacją w genie *OPA1*, to stopień nasilenia niektórych z nich można zmniejszyć po wdrożeniu odpowiedniego postępowania, tj. fizykoterapii w przypadku zajęcia neuronów ruchowych albo implantów ślimakowych, które są skuteczne w przypadku niedosłuchu wywołanego dysfunkcją mitochondriów (48).

Praca wykonana w ramach grantu MNiSW nr N N402 591540 (5915/B/P01/2011/40).

Piśmiennictwo:

1. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Burke A, Sellar PW, Clarke MP, Gnanaaraj L, et al.: *The prevalence and natural history of dominant optic atrophy due to OPA1 mutations*. *Ophthalmology* 2010; 117: 1538–1546, 1546 e1531.
2. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF: *Mitochondrial optic neuropathies - disease mechanisms and therapeutic strategies*. *Prog Retin Eye Res*. 2011; 30: 81–114.
3. Man PY, Turnbull DM, Chinnery PF: *Leber hereditary optic neuropathy*. *J Med Genet*. 2002; 39: 162–169.
4. Nikoskelainen EK, Savontaus ML, Huoponen K, Antila K, Hartiainen J: *Pre-excitation syndrome in Leber's hereditary optic neuropathy*. *Lancet*. 1994; 344: 857–858.
5. Nikoskelainen EK, Marttila RJ, Huoponen K, Juvonen V, Lammien T, Sonninen P, et al.: *Leber's "plus": neurological abnormalities in patients with Leber's hereditary optic neuropathy*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1995; 59: 160–164.

6. Chan JW: *Optic Nerve Disorders Diagnosis and Management*. New York: Springer Science and Business Media LLC, 2010: 284.
7. Barboni P, Carbonelli M, Savini G, Foscarini B, Parisi V, Valentino ML, et al.: *OPA1 mutations associated with dominant optic atrophy influence optic nerve head size*. *Ophthalmology*. 2010; 117: 1547–1553.
8. Barboni P, Savini G, Parisi V, Carbonelli M, La Morgia C, Maresca A, et al.: *Retinal nerve fiber layer thickness in dominant optic atrophy measurements by optical coherence tomography and correlation with age*. *Ophthalmology*. 2011; 118: 2076–2080.
9. Schieffer UW, Helmut HW: *Clinical Neuro-Ophthalmology A Practical Guide*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007: 320.
10. Delettre C, Lenaers G, Pelloquin L, Belenguer P, Hamel CP: *OPA1 (Kjer type) dominant optic atrophy: a novel mitochondrial disease*. *Mol Genet Metab*. 2002; 75: 97–107.
11. Votruba M, Moore AT, Bhattacharya SS: *Clinical features, molecular genetics, and pathophysiology of dominant optic atrophy*. *J Med Genet*. 1998; 35: 793–800.
12. Johnston PB, Gaster RN, Smith VC, Tripathi RC: *A clinicopathologic study of autosomal dominant optic atrophy*. *Am J Ophthalmol*. 1979; 88: 868–875.
13. Toomes C, Marchbank NJ, Mackey DA, Craig JE, Newbury-Ecob RA, Bennett CP, et al.: *Spectrum, frequency and penetrance of OPA1 mutations in dominant optic atrophy*. *Hum Mol Genet*. 2001; 10: 1369–1378.
14. Kjer P: *Infantile optic atrophy with dominant mode of inheritance: a clinical and genetic study of 19 Danish families*. *Acta Ophthalmol. Suppl* 1959; 164: 1–147.
15. Alexander C, Votruba M, Pesch UE, Thiselton DL, Mayer S, Moore A, et al.: *OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28*. *Nat Genet*. 2000; 26: 211–215.
16. Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, et al.: *Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy*. *Nat Genet*. 2000; 26: 207–210.
17. Ferre M, Bonneau D, Milea D, Chevrollier A, Verny C, Dollfus H, et al.: *Molecular screening of 980 cases of suspected hereditary optic neuropathy with a report on 77 novel OPA1 mutations*. *Hum Mutat*. 2009; 30: E692–705.
18. Olichon A, Guillou E, Delettre C, Landes T, Arnaune-Pelloquin L, Emorine LJ, et al.: *Mitochondrial dynamics and disease, OPA1*. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1763: 500–509.
19. Van Bergen NJ, Crowston JG, Kearns LS, Staffieri SE, Hewitt AW, Cohn AC, et al.: *Mitochondrial oxidative phosphorylation compensation may preserve vision in patients with OPA1-linked autosomal dominant optic atrophy*. *PLoS One* 2011; 6:e21347.
20. Pesch UE, Leo-Kottler B, Mayer S, Jurklics B, Kellner U, Apfelstedt-Sylla E, et al.: *OPA1 mutations in patients with autosomal dominant optic atrophy and evidence for semi-dominant inheritance*. *Hum Mol Genet*. 2001; 10: 1359–1368.
21. Fuhrmann N, Alavi MV, Bitoun P, Woernle S, Auburger G, Leo-Kottler B, et al.: *Genomic rearrangements in OPA1 are frequent in patients with autosomal dominant optic atrophy*. *J Med Genet*. 2009; 46: 136–144.
22. Marchbank NJ, Craig JE, Leek JP, Toohey M, Churchill AJ, Marcham AF, et al.: *Deletion of the OPA1 gene in a dominant optic atrophy family: evidence that haploinsufficiency is the cause of disease*. *J Med Genet*. 2002; 39:e47.
23. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Gorman GS, Lourenco CM, Wright AF, Auer-Grumbach M., et al.: *Multi-system neurological disease is common in patients with OPA1 mutations*. *Brain*. 2010; 133: 771–786.
24. Amati-Bonneau P, Valentino ML, Reynier P, Gallardo ME, Bornstein B, Boissiere A, et al.: *OPA1 mutations induce mitochondrial DNA instability and optic atrophy 'plus' phenotypes*. *Brain* 2008; 131: 338–351.
25. Hudson G, Amati-Bonneau P, Blakely EL, Stewart JD, He L, Schaefer AM, et al.: *Mutation of OPA1 causes dominant optic atrophy with external ophthalmoplegia, ataxia, deafness and multiple mitochondrial DNA deletions: a novel disorder of mtDNA maintenance*. *Brain*. 2008; 131: 329–337.
26. Ferraris S, Clark S, Garelli E, Davidzon G, Moore SA, Kardon RH, et al.: *Progressive external ophthalmoplegia and vision and hearing loss in a patient with mutations in POLG2 and OPA1*. *Arch Neurol*. 2008; 65: 125–131.
27. Zeviani M: *OPA1 mutations and mitochondrial DNA damage: keeping the magic circle in shape*. *Brain* 2008; 131: 314–317.
28. Lenaers G, Hamel C, Delettre C, Amati-Bonneau P, Procaccio V, Bonneau D, et al.: *Dominant optic atrophy*. *Orphanet J Rare Dis*. 2012; 7: 46.
29. Lueruz S, Milea D, Defoort-Dhellemmes S, Colin E, Crochet M, Procaccio V, et al.: *Sensorineural hearing loss in OPA1-linked disorders*. *Brain*. 2013; 136:e236.
30. Payne M, Yang Z, Katz BJ, Warner JE, Weight CJ, Zhao Y, et al.: *Dominant optic atrophy, sensorineural hearing loss, ptosis, and ophthalmoplegia: a syndrome caused by a missense mutation in OPA1*. *Am J Ophthalmol*. 2004; 138: 749–755.
31. Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA: *Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies*. *Prog Retin Eye Res*. 2004; 23: 53–89.
32. Landes T, Leroy I, Bertholet A, Diot A, Khosrobakhsh F, Daloyau M, et al.: *OPA1 (dys)functions*. *Semin Cell Dev Biol*. 2010; 21: 593–598.
33. van der Blik AM, Shen Q, Kawajiri S: *Mechanisms of mitochondrial fission and fusion*. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; 5.
34. Olichon A, Landes T, Arnaune-Pelloquin L, Emorine LJ, Mills V, Guichet A, et al.: *Effects of OPA1 mutations on mitochondrial morphology and apoptosis: relevance to ADOA pathogenesis*. *J Cell Physiol*. 2007; 211: 423–430.
35. Olichon A, Baricault L, Gas N, Guillou E, Valette A, Belenguer P, et al.: *Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis*. *J Biol Chem*. 2003; 278: 7743–7746.
36. Frezza C, Cipolat S, Martins de Brito O, Micaroni M, Bezouzenko GV, Rudka T, et al.: *OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion*. *Cell*. 2006; 126: 177–189.
37. Chevrollier A, Guillet V, Loiseau D, Gueguen N, de Crescenzo MA, Verny C, et al.: *Hereditary optic neuropathies share a common mitochondrial coupling defect*. *Ann Neurol*. 2008; 63: 794–798.
38. Zanna C, Ghelli A, Porcelli AM, Karbowski M, Youle RJ, Schimpf S, et al.: *OPA1 mutations associated with dominant*

- optic atrophy impair oxidative phosphorylation and mitochondrial fusion*. Brain 2008; 131: 352–367.
39. Elachouri G, Vidoni S, Zanna C, Pattyn A, Boukhaddaoui H, Gaget K, et al.: *OPA1 links human mitochondrial genome maintenance to mtDNA replication and distribution*. Genome Res. 2011; 21: 12–20.
40. Yu-Wai-Man P, Sitarz KS, Samuels DC, Griffiths PG, Reeve AK, Bindoff LA, et al.: *OPA1 mutations cause cytochrome c oxidase deficiency due to loss of wild-type mtDNA molecules*. Hum Mol Genet. 2010; 19: 3043–3052.
41. Pidoux G, Witczak O, Jarnaess E, Myrvold L, Urlaub H, Stokka AJ, et al.: *Optic atrophy 1 is an A-kinase anchoring protein on lipid droplets that mediates adrenergic control of lipolysis*. EMBO J. 2011; 30: 4371–4386.
42. Belenguer P, Pellegrini L: *The dynamin GTPase OPA1: more than mitochondria?* Biochim Biophys Acta. 2013; 1833: 176–183.
43. Kasahara A, Cipolat S, Chen Y, Dorn GW 2nd, Scorrano L: *Mitochondrial fusion directs cardiomyocyte differentiation via calcineurin and Notch signaling*. Science. 2013; 342: 734–737.
44. Chen L, Liu T, Tran A, Lu X, Tomilov AA, Davies V, et al.: *OPA1 mutation and late-onset cardiomyopathy: mitochondrial dysfunction and mtDNA instability*. J Am Heart Assoc. 2012; 1:e003012.
45. Sarzi E, Angebault C, Seveno M, Gueguen N, Chaix B, Bielicke G, et al.: *The human OPA1^{delTTAG} mutation induces premature age-related systemic neurodegeneration in mouse*. Brain. 2012; 135: 3599–3613.
46. Piquereau J, Caffin F, Novotova M, Prola A, Garnier A, Mateo P, et al.: *Down-regulation of OPA1 alters mouse mitochondrial morphology, PTP function, and cardiac adaptation to pressure overload*. Cardiovasc Res. 2012; 94: 408–417.
47. Caffin F, Prola A, Piquereau J, Novotova M, David DJ, Garnier A, et al.: *Altered skeletal muscle mitochondrial biogenesis but improved endurance capacity in trained OPA1-deficient mice*. J Physiol. 2013; 591 (Pt 23): 6017–6037.
48. Sinnathuray AR, Raut V, Awa A, Magee A, Toner JG: *A review of cochlear implantation in mitochondrial sensorineural hearing loss*. Otol Neurotol. 2003; 24: 418–426.

The study was originally received 12.01.2014 (890342)/
Praca wpłynęła do Redakcji 12.01.2014 r. (890342)
Accepted for publication 15.03.2014/
Zakwalifikowano do druku 15.03.2014 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr hab. n. med. Monika Oldak
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Centrum
Biostruktury, Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. T. Chałubińskiego 5
02-004 Warszawa
e-mail: Monika.Oldak@wum.edu.pl

Polskie Towarzystwo Okulistyczne

e-mail: pto@pto.com.pl