

## ESTUDIO DE VARIANTES EN GENES RELACIONADOS A LA ENFERMEDAD DE PARKINSON EN PACIENTES CON SÍNDROME DE DELECCIÓN 22q11.2

Andrea Calleja Elzo<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Estudiante de Tecnología Médica, Facultad de Medicina Clínica Alemana de Santiago - Universidad del Desarrollo.  
*Artículo recibido el 03 de abril, 2021. Aceptado en versión corregida el 15 de julio, 2021.*

### RESUMEN

**Introducción:** El síndrome de delección 22q11.2 es una enfermedad rara con diversas manifestaciones, siendo las más frecuentes: Anomalías palatinas, los defectos cardíacos congénitos y los trastornos neurocognitivos. Recientemente se ha descrito que los pacientes con la delección tienen mayor riesgo de desarrollar precozmente enfermedad de Parkinson, una enfermedad neurodegenerativa asociada principalmente a la pérdida de neuronas dopaminérgicas. Se desconoce cuáles son los factores involucrados y si es posible identificar individuos con mayor riesgo en etapas precoces. **Objetivo:** Este estudio busca si la presencia de variantes en genes conocidos de enfermedad de Parkinson que están fuera de la delección son un factor de riesgo para que los pacientes con la delección desarrollen esta enfermedad precozmente. **Metodología:** Se realizó una secuenciación de exoma clínico en 33 pacientes con síndrome de delección 22q11.2, donde 2 de estos contaban con pródromos de la enfermedad de Parkinson, con el propósito de determinar si aquellos pacientes que presentaban pródromos de la enfermedad neurodegenerativa presentaban mayor cantidad de variantes en genes asociados a esta. **Resultado y Discusión:** No existe mayor cantidad de variantes en los pacientes en etapa prodrómica de enfermedad de Parkinson, sin embargo, estos pacientes presentan mayor cantidad de variantes de baja frecuencia alélica y CADD scores más altos. **Conclusión:** Las variantes encontradas son mayoritariamente benignas y frecuentes en la población, lo cual no descarta que algunas puedan ser factores de riesgo, como aquellas aisladas solo en pacientes con pródromos de EP (NM\_013247.4:c.1195G>A en HTRA2 y NM\_004562.2:c.1366G>A en PARK2).

**Palabras clave:** Síndrome de delección 22q11.2 (22q11.2DS), Enfermedad de Parkinson, Pródromos de enfermedad de Parkinson, Secuenciación de exoma clínico.

### INTRODUCCIÓN

El síndrome de delección de la región cromosómica 22q11.2 o 22q11.2DS, es una enfermedad que se caracteriza por presentar manifestaciones clínicas diversas. Entre estas, se encuentran las anomalías palatinas (65%), trastornos neurocognitivos (85%), defectos cardíacos congénitos (50-75%), hipocalcemia (17-60%), trastornos inmunológicos (35-40%) y trastornos psiquiátricos (60%)<sup>1</sup>. Además, recientemente se ha descrito la aparición temprana de la enfermedad de Parkinson (EP), una enfermedad neurodegenerativa, en aproximadamente 6% de grupos de adultos con la delección<sup>2</sup>, esto será el enfoque de la investigación.

22q11.2DS es considerada una enfermedad rara (prevalencia inferior a 5 casos por 10.000 habitantes). Sin embargo, es el síndrome de microdelección cromosómica más común en humanos, afecta a 1 de cada 5.950 recién nacidos vivos en el mundo con una mayor prevalencia en la población hispana (1 en 3.800 nacidos vivos)<sup>3</sup>. Entre 90-95% de los casos ocurre por mutaciones de novo.

Aunque los pacientes exhiben signos y síntomas similares, varía la severidad de estos. No todos los individuos expresan las mismas características, incluso dentro de familias con múltiples afectados. Esto último sugiere la idea que hay factores modificadores que juegan un rol en la determinación del fenotipo, más allá de los genes deletados. Es posible que la presencia de variantes en genes fuera

de la región de la delección, influyan en la aparición diferencial de algunas de estas manifestaciones clínicas<sup>4</sup>, cómo es la aparición temprana de EP.

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por el temblor, rigidez de extremidades y bradicinesia. A nivel mundial la incidencia estimada de EP es entre 5 a más de 35 casos nuevos por cada 100.000 individuos al año. Su aparición antes de los 50 años es poco frecuente, pero su incidencia aumenta entre 5 a 10 veces entre los 60 y 90 años<sup>5</sup>. La prevalencia es mucho menor en personas jóvenes, sin embargo, en pacientes con delección 22q11.2 hay un aumento de ésta, iniciándose a una temprana edad, en promedio a los 40 años<sup>6</sup>.

EP se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas en áreas específicas de la sustancia nigra, y acumulación de alfa-sinucleína en distintas partes del sistema nervioso. En autopsias realizadas a estos pacientes, se encuentran los cuerpos de Lewy, esencialmente acumulaciones de alfa-sinucleína en el citoplasma de ciertas neuronas, lo cual puede iniciar en el tronco encefálico y eventualmente afectar a las neuronas del sistema olfatorio, junto con las regiones del sistema límbico o de la neocorteza<sup>7</sup>.

Si bien esta enfermedad es multifactorial y en su mayoría se asocia a deterioro propio de la senescencia, también existen variantes en genes

\*Correspondencia: [acallejae@udd.cl](mailto:acallejae@udd.cl)  
2021, Revista Confluencia, 4(1), 46-50



causantes de EP. Se han identificado variantes y polimorfismos en múltiples genes relacionados a EP, ya sea como causales o genes de susceptibilidad para la enfermedad<sup>8</sup>. La Tabla 1 indica los 24 genes que se considerarán en este estudio, sus coordenadas utilizando como referencia hg19 y su tamaño en pares de bases.

El inicio de EP es insidioso, con una serie de signos y síntomas no-motores, como alteraciones cognitivas, disfunción autonómica, trastornos del sueño, depresión y pérdida del olfato, que preceden a las manifestaciones motoras, conocidos como pródromos<sup>9</sup>. Esto se debe a que hay una correlación importante entre las estructuras cerebrales que se ven afectadas y las manifestaciones que irán apareciendo. Por ejemplo, una de las primeras estructuras afectadas es el bulbo olfatorio, reduciendo la capacidad de percibir olores (hiposmia), un importante marcador de pródromos de la EP. A medida que se ve afectada la sustancia nigra y posteriormente la corteza cerebral, surgen los signos motores.

La etapa prodrómica de EP puede durar entre años a décadas, durante este tiempo ocurre una neurodegeneración progresiva. Actualmente se da énfasis en el estudio de terapias orientadas a pacientes en esta etapa, dado que se postula que el potencial uso de terapia neuroprotectora, pudiera mejorar el pronóstico de estos pacientes<sup>10</sup>.

Este estudio se enfoca en saber si la presencia de variantes en genes conocidos de enfermedad de Parkinson que están fuera de la delección son un factor de riesgo para que los pacientes con delección 22q11.2 desarrollen la enfermedad de Parkinson (EP) de manera precoz, siendo la hipótesis que aquellos pacientes que presentan la delección y pródromo de enfermedad de Parkinson poseen variantes en genes asociados a esta enfermedad neurodegenerativa.

El objetivo general del estudio es poder establecer la relación entre la presencia de variantes en genes asociados a enfermedad de Parkinson en pacientes que presentan síndrome de delección 22q11.2 y su asociación con presencia o ausencia de pródromos de EP. Los objetivos específicos son detectar variantes en genes asociados a EP en pacientes con 22q11.2DS con y sin pródromos de la enfermedad neurodegenerativa y poder comparar las variantes en los grupos mencionados.

## METODOLOGÍA

La población de estudio son pacientes con 22q11.2DS mayores de 18 años que han tenido evaluación de pródromos de EP, según los criterios de The International Parkinson and Movement Disorder Society (MDS), sin discapacidad cognitiva severa u otros factores que afecten la realización del estudio. La muestra son 33 pacientes con 22q11.2DS, 2 con pródromos y 31 sin pródromos de

**Tabla 1: Genes estudiados asociados a la enfermedad de Parkinson.**

Parkinson Genes	Genomic Location (hg19)	Tamaño (bp)
SNCA	chr4:90,645,250-90,759,466	114.217
UCHL1	chr4:41,258,430-41,270,472	12.043
PINK1	chr1:20,959,948-20,978,004	18.057
PARK7	chr1:8,014,351-8,045,565	31.215
HTRA2	chr2:74,756,504-74,760,683	4.180
DNAJC6	chr1:65,713,902-65,881,552	167.651
EIF4G1	chr3: 184,032,283-184,053,146	20.864
VPS35	chr16:46,690,054-46,723,430	33.377
GIGYF2	chr2:233,562,009-233,725,287	163.279
PLA2G6	chr22:38,507,502-38,601,697	94.196
FBXO7	chr22:32,870,663-32,894,818	24.156
PRKN (PARK2)	chr6: 161,768,452-163,148,834	1.380.383
ATP13A2	chr1:17,312,453-17,338,423	25.971
LRRK2	chr12:40,590,546-40,763,087	172.542
MAPT	chr17:43,971,748-44,105,700	133.953
MCIR	chr16:89,978,527-89,987,385	8.859
GBA	chr1:155,204,239-155,214,653	10.415
ADH1C	chr4:100,257,649-100,274,184	16.536
ATXN2	chr12:111,890,018-112,037,480	147.463
RAB7L1 (RAB29)	chr1:205,737,114-205,744,610	7.497
SLC41A1	chr1:205,758,221-205,782,876	24.656
VPS13C	chr15:62,144,588-62,352,672	208.085
SYNJI	chr21:34,001,069-34,100,359	99.291
PODXL	chr7:131,185,021-131,242,976	57.956

la enfermedad de Parkinson, obtenidos mediante muestreo no probabilístico por conveniencia.

El ADN genómico fue extraído de muestras de sangre periférica. La secuenciación de exoma de las 33 muestras fue realizada en Novogene. La secuenciación fue completada en la plataforma NovaSeq 6000, en formato de lecturas pareadas de 150 pares de bases. Los resultados de la secuenciación son archivos de texto en formato FASTQ, los cuales fueron descargados desde la plataforma de Novogene y cargados en la plataforma Galaxy ([www.usegalaxy.eu](http://www.usegalaxy.eu)) para el análisis bioinformático de variantes.

Se obtuvo una tabla maestra de Microsoft Excel con las variantes de los 33 pacientes, esta se filtró para eliminar variantes sinónimas, en regiones 3' UTR o 5' UTR, resultando en un total de 85 variantes. A partir de estas variantes se realizó el análisis bioestadístico en el software Prism.

Posteriormente se filtraron variantes cuya frecuencia alélica fuese mayor en los controles, además se filtró por CADD scores >15 y la frecuencia alélica en la base de datos GnomAD <0,005.

Esta tesis forma parte de un proyecto FONDECYT (1171014), cuenta con la aprobación del Comité Institucional de Bioseguridad, la aprobación del Comité Ético Científico de la Facultad de Medicina CAS-UDD y la aprobación de SEREMI de salud.



**RESULTADO**

Se obtuvo un total de 33 muestras secuenciadas de pacientes con 22q11.2DS evaluados para analizar la presencia de pródromos de EP. Dos de ellos evidenciaron alta probabilidad de pródromos de EP, según los criterios de la MDS. Estos son ID 322 y 186.

Para analizar las 85 variantes de los casos (N=2) y los controles (N=31) se consideró el impacto del N de cada grupo y el sesgo de un N < 5, por lo que se asumió una distribución no normal y se aplicó el test no paramétrico para datos no pareados Mann-Whitney, este indica que las medias entre ambas columnas es similar y el p-value nos indicaría una diferencia no estadísticamente significativa (p value= 0,9527).

Las columnas de la Figura 1 indican: Cromosoma donde se ubica la variante, gen, cambio en el codón, cambio en el aminoácido, impacto, severidad del impacto, CADD score, frecuencia alélica en GnomAD, frecuencia alélica en casos y en controles. Las filas nos indican 18 variantes, estas son aquellas cuya frecuencia es mayor en casos que en controles

y son de mediano a alto impacto. Aquellas filas destacadas en verde corresponde a las variantes con un puntaje CADD >15, aquellas destacadas en rojo corresponde a las variantes con un puntaje CADD >15 y una frecuencia alélica <0,005 en las bases de datos GnomAD en pacientes con 22q11.2DS. Podemos observar que hay 6 variantes con un CADD score mayor a 15, estas se encuentran en los genes LRRK2, VPS13C, SYNJI, HTRA2 y PARK 2. De estos 6 hay 2 variantes con una frecuencia alélica menor al 0,5%, es decir que presentan una frecuencia alélica baja. Estas se encuentran en los genes HTRA2 y PARK2, únicamente en los pacientes con pródromos de EP, ID 186 e ID 322 respectivamente.

A partir de esta tabla se aplicó el test de Fisher, indicando que ninguna de estas variantes tiene significancia estadística (p-value <0,05) a pesar que algunas de estas variantes están únicamente presente en los pacientes con pródromos, nuevamente esto se debe al disminuido número de casos.

chrom	gene	codon_change	aa_change	impact	impact_severity	cadd_scaled	aaf_gnomad_all	freg_case	freg_control
chr1	DNAJC6	NM_001256864.1:c.2183G>A	NM_001256864.1:p.Ser728Asn	missense_variant	MED	4.76	0,167163	0,250	0,113
chr12	LRRK2	NM_198578.3:c.1653C>G	NM_198578.3:p.Asn551Lys	missense_variant	MED	27.3	0,086176	0,500	0,226
chr12	LRRK2	NM_198578.3:c.4193G>A	NM_198578.3:p.Arg1398His	missense_variant	MED	23.1	0,0843165	0,500	0,177
chr12	LRRK2	NM_198578.3:c.7190T>C	NM_198578.3:p.Met2397Thr	missense_variant	MED	0.01	0,618476	1,000	0,742
chr12	ATXN2	NM_002973.3:c.319C>G	NM_002973.3:p.Leu107Val	missense_variant	MED	10.54	0,768519	0,750	0,661
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.8738G>A	NM_020821.2:p.Ser2913Asn	missense_variant	MED	12.1	0,561383	0,750	0,677
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.6964G>A	NM_020821.2:p.Val2322Met	missense_variant	MED	0.42	0,0604348	0,250	0,081
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.4483A>G	NM_020821.2:p.Ile1495Val	missense_variant	MED	9.29	0,0601488	0,250	0,081
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.3905A>G	NM_020821.2:p.Tyr1302Cys	missense_variant	MED	12.86	0,0604166	0,250	0,081
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.3394A>G	NM_020821.2:p.Ile1132Val	missense_variant	MED	5.98	0,0726106	0,250	0,145
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.2921G>A	NM_020821.2:p.Arg974Lys	missense_variant	MED	7.54	0,610929	0,750	0,581
chr15	VPS13C	NM_020821.2:c.458G>A	NM_020821.2:p.Arg153His	missense_variant	MED	33.0	0,0733875	0,250	0,129
chr2	HTRA2	NM_013247.4:c.1195G>A	NM_013247.4:p.Gly399Ser	missense_variant	MED	24.1	0,0040477	0,250	0,000
chr21	SYNJ1	NM_003895.3:c.1001A>G	NM_003895.3:p.Lys334Arg	missense_variant	MED	26.9	0,277046	0,750	0,355
chr3	EIF4G1	NM_001194946.1:c.1315A>G	NM_001194946.1:p.Met439Val	missense_variant	MED	0.0	0,754543	1,000	0,790
chr6	PARK2	NM_004562.2:c.1366G>A	NM_004562.2:p.Val456Ile	missense_variant	MED	23.0	4,48251E-05	0,250	0,000
chr7	PODXL	NM_001018111.2:c.84_89dupGTCGCC	NM_001018111.2:p.Pro30_Ser31insSerPro	disruptive_inframe_insertion	MED	None	0,246127	0,750	0,452
chr7	PODXL	NM_001018111.2:c.84_89delGTCGCC	NM_001018111.2:p.Ser29_Pro30del	disruptive_inframe_deletion	MED	None	0,21743	0,250	0,145

Figura 1. Variantes en genes asociados a enfermedad de Parkinson en pacientes con síndrome de delección 22q11.2

**DISCUSIÓN**

Los resultados muestran que no hay significancia estadística, es decir que no existe mayor cantidad de variantes en pacientes con 22q11.2DS y pródromos de EP, en comparación a aquellos pacientes que solo presentan la delección. Sin embargo, las variantes que presentaban los casos eran benignas y frecuentes en la población, mientras que los pacientes con pródromos tienen mayor cantidad de variantes poco frecuentes (frecuencia alélica menor al 0,5%) y con CADD scores más altos.

La Figura 1 indica que hay 6 variantes con un CADD score >15, estas se encuentran en los genes LRRK2, VPS13C, SYNJI, HTRA2 y PARK2. De estos 6 hay 2 variantes con una frecuencia alélica menor al 0,5%, es decir que presentan una frecuencia alélica baja. Estas variantes se encuentran en los genes HTRA2 y PARK2, únicamente en los pacientes con pródromos de EP, ID 186 e ID 322 respectivamente.

Estas variantes son de particular relevancia y se discutirán a continuación.

Las variantes NM\_198578.3:c.4193G>A y NM\_198578.3:c.1653C>G, ubicada en el gen LRRK2, están descritas como benignas según ClinVar y existe evidencia computacional que sugiere que esta variante no impacta al gen o producto génico, a pesar de estar ubicada en un dominio con una función bien establecida y crítica. Esto no descarta posible impacto a nivel del proceso neurodegenerativo, puesto que se desconoce exactamente cómo podría interactuar esta variante en pacientes con 22q11.2DS, recordando que productos del gen DGCR8, deletado en estos pacientes, tiene como blanco a LRRK2, recordando que al disminuir el nivel de expresión de miRNA-205 (codificado por DGCR8), aumenta la expresión de la proteína codificada por LRRK2.



La variante NM\_020821.2:c.458G>A, ubicada en el gen VPS13C, está descrita en Varsome como una variante benigna, presentando una frecuencia alélica mayor al 5% en el 1000 Genomes Project. Este gen codifica para una proteína asociada al transporte intracelular mediante endosomas. Variantes en este gen pueden provocar defectos en el tráfico endosomal y la formación de retrómeros, se cree que a nivel de EP puede estar vinculado con la liberación y transporte de alfa-sinucleína<sup>12</sup>. Las variantes estudiadas asociadas a ese fenotipo no corresponden a la indicada anteriormente, aunque se desconoce realmente como puede interactuar esta variante con otros factores, como la delección 22q11.2 o variantes en PARK2, cuyo producto génico (parkina) se asocia a la actividad endosomal.

El gen SYNJI codifica para la proteína synaptojanin1 (SYNJ1), esta es una fosfatasa enriquecida por lípidos, cuya función se asocia al tráfico autofagosomal, endosomal y reciclaje de vesículas sinápticas. Su disfunción se ha visto implicada en múltiples enfermedades neurodegenerativas<sup>11</sup>. La variante NM\_003895.3:c.1001A>G ubicada en el gen SYNJI, está descrita como benigna en Varsome y ClinVar, debido a su frecuencia alélica mayor al 5% y que más del 80% de las variantes missense estudiadas en el gen SYNJI corresponden a variantes benignas.

Las variantes en genes HTRA2 y PARK2 encontradas en los pacientes con pródromos de EP, son relevantes por su CADD score y frecuencia alélica, como se indicó anteriormente. El gen HTRA2 codifica para una serinproteasa con actividad proapoptótica que tiene como blanco la región N-terminal de la mitocondria. La información respecto a variantes en este gen son controversiales pero múltiples estudios sugieren un posible vínculo entre este y la aparición temprana de EP. Adicionalmente se sabe que el producto de HTRA2 interactúa con PINK1, un gen conocido por su rol a nivel de regulación mitocondrial<sup>13</sup>.

Varsome clasifica la variante NM\_013247.4:c.1195G>A encontrada en HTRA2 como benigna, puesto que ClinVar la clasifica como tal, sin embargo, se indica que la evidencia no está disponible para que el laboratorio realice una verificación independiente. Además se considera que esta variante está presente en adultos sanos, pero considerando que los pacientes estudiados son adultos con una delección, no podemos descartar el posible efecto de esta variante al interactuar con otros factores. Cabe destacar que Varsome indica que múltiples líneas de evidencia computacional indican posibilidad de generar un fenotipo perjudicial. Dentro de las 19 metodologías para calcular un puntaje de patogenicidad 16 clasifican la variante como patogénica y 3 como tolerable. Considerando la escasa información que existe al respecto, más aún

en pacientes con estas características no podemos descartar la importancia de esta variante o determinar su posible efecto en la aparición temprana de EP.

La variante NM\_004562.2:c.1366G>A está ubicada en el gen PARK2, este es uno de los genes humanos más largos, codifica para una proteína denominada parkina, esta es una ubiquitin ligasa con un rol fundamental en la regulación de diversos procesos celulares como la degradación proteosomal y está vinculado a la función mitocondrial, aunque aún se desconoce exactamente como interactúa parkina con este organelo.

ClinVar y Varsome clasifican esta variante como significado incierto, dado que se encuentra en un sitio mutacional "hot-spot" y está ausente o en frecuencia extremadamente baja en controles del Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project o Exome Aggregation Consortium. Además, de un total de 69 variantes missense en el gene PARK2 59 son patogénicas (85,5%), esto supera el umbral de 51% y a nivel de reporte clínico un 43% de las variantes son patogénicas.

La variante no se encuentra en ninguno de los controles, solo en un alelo del ID 322, quien presentaba sueño REM sin atonía y reducción de la señalización dopaminérgica en el cuerpo estriado. Según GnomAD esta variante solo se ha observado de manera heterocigota y con mayor frecuencia en adultos mayores (> 60 años), es poco frecuente en pacientes menores de 30 años, lo cual también llama la atención considerando que este paciente muestra señales de aparición temprana de pródromos de EP.

Las variantes en genes HTRA2 y PARK2 son de particular interés al analizar su posible rol como factor de riesgo en pacientes con 22q11.2DS, considerando que solo se encontraban en pacientes con pródromos de EP y cuentan con evidencia sugerente de un rol patogénico.

## CONCLUSIÓN

A modo de conclusión, no se observó mayor cantidad de variantes en pacientes con 22q11.2DS y pródromos de EP, en comparación a pacientes que solo presentan la delección, esto no implica que se rechace la hipótesis. Si bien ambos grupos de pacientes presentaban cantidades similares de variantes, vimos que variaba la severidad de estas.

Adicionalmente las variantes encontradas fueron mayoritariamente benignas y frecuentes en la población. Lo cual no descarta que algunas puedan ser factores de riesgo, como aquellas variantes aisladas solo en los pacientes con pródromos de EP (NM\_013247.4:c.1195G>A encontrada en HTRA2 y NM\_004562.2:c.1366G>A en el gen PARK2).

El análisis genético realizado se enfocó únicamente en genes asociados a EP, no considera en absoluto el posible rol de otras variantes no asociadas o el posible impacto de variantes presentes en los alelos remanentes de la delección.



Por lo que estos son aspectos interesantes a tener en consideración para posteriores estudios, que permitan buscar nuevas explicaciones o posibles asociaciones entre el 22q11.2DS y la aparición temprana de EP.

Si bien aún no se conoce exactamente como estas distintas variantes interactúan entre sí o si realmente son factores de riesgo, no podemos ignorar la evidencia que indica que los pacientes con la delección están en un riesgo mucho mayor de desarrollar EP a temprana edad, por lo que se debe estar atento en pacientes con estas características que posiblemente pueden estar exhibiendo pródromos de EP o podrían hacerlo eventualmente.

Esta vigilancia permitirá un diagnóstico oportuno y posiblemente mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. McDonald D, Sullivan K, Marino B, Philip N, Swillen A, Vorstman J. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Rev.* 2015;1(15071):1–19.
2. Butcher NJ, Kiehl TR, Hazrati LN, Chow EWC, Rogaeva E, Lang AE, Bassett AS. Association between early-onset Parkinson disease and 22q11.2 deletion syndrome: Identification of a novel genetic form of Parkinson disease and its clinical implications. *JAMA Neurol.* 2013;70(11):1359–66.
3. Botto LD, May K, Fernhoff PM, Correa A, Coleman K, Rasmussen S a, Merritt RK, Leary L a O, Wong L, Elixson EM, Mahle WT, Campbell RM. and Contribution to Major Birth Defects in the Population. *Pediatrics.* 2003;112(1):101–8.
4. McDonald-McGinn DM, Sullivan KE. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Medicine (Baltimore).* 2011;90(1):1–18.
5. Twelves D, Perkins KSM, Counsell C. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2003;18(1):19–31.
6. Butcher NJ, Merico D, Zarrei M, Ogura L, Marshall CR, Chow EWC, Lang AE, Scherer SW, Bassett AS. Whole-genome sequencing suggests mechanisms for 22q11.2 deletion-Associated Parkinson's disease. *PLoS One.* 2017;12(4):1–14.
7. Dickson DW, Braak H, Duda JE, Duyckaerts C, Gasser T, Halliday GM, Hardy J, Leverenz JB, Del Tredici K, Wszolek ZK, Litvan I. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *Lancet Neurol [Internet].* 2009;8(12):1150–7. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70238-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70238-8)
8. Vidrio H, Alonso ME, López M. Factores genéticos involucrados en la susceptibilidad para desarrollar enfermedad de Parkinson. *Salud Ment.* 2007;30(1):16–24.
9. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Volkman J, Schrag A, Lang AE. Parkinson disease. *Nat Rev.* 2017;3(17013):1–21.
10. Postuma R, Berg D. Advances in markers of prodromal Parkinson disease Ronald. *Nat Rev.* 2016;12:622–34.
11. Rentzsch P, Witten D, Cooper GM, Shendure J, Kircher M. CADD: Predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D886–94.
12. Gambardella S, Biagioni F, Ferese R, Busceti CL, Frati A, Novelli G, Ruggieri S, Fornai F. Vacuolar protein sorting genes in parkinson's disease: A re-appraisal of mutations detection rate and neurobiology of disease. *Front Neurosci.* 2016;10(November):1–7.
13. Gambardella S, Ferese R, Scala S, Carboni S, Biagioni F, Giardina E, Zampatti S, Modugno N, Fabbiano F, Fornai F, Centonze D, Ruggieri S. Mitochondrial serine protease HTRA2 p.G399S in a female with di george syndrome and Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2018;2018.

