

KURS Z ZAKRESU GENOMIKI

Temat: **Genetyka i genomika chorób neurologicznych.**

Choroby nerwów obwodowych

Anna Potulska-Chromik

Klinika Neurologii WUM

Dziedziczne neuropatie ruchowo-czuciowe

- Obraz kliniczny (charakter zajętych włókien)
- Wiek zachorowania
- Deformacje kostne
- Wywiad rodzinny (sposób dziedziczenia)
- Wynik badania EMG (zmiany homogenne na całej długości vs zmiany wieloogniskowe, dynamiczne – polineuropatie nabyte)
- Wynik badania genetycznego MLPA → WES

Badanie elektrofizjologiczne

- ustalenie typu neuropatii: aksonalny, demielinizacyjny, hypomielinizacyjny, mieszany
- ustalenie kierunku badań molekularnych
- różnicowanie z nabytymi neuropatiami demielinizacyjnymi (AMNS, CV 10m/s difference)

Dawne kryterium:
n.pośrodkowy 38m/s

The genetics of Charcot–Marie–Tooth disease: current trends and future implications for diagnosis and management

This article was published in the following Dove Press journal:
The Application of Clinical Genetics
19 October 2015

Dovepress

Genetics of Charcot–Marie–Tooth disease

Table 1 Classification and genetics of CMT disease

Inheritance	Pathophysiology	Type	Example gene associations
Autosomal dominant	Demyelinating	CMT1	<i>PMP22</i> , <i>MPZ</i> , <i>LITAF/SIMPLE</i> , <i>EGR2</i> , <i>NEFL</i> , <i>FBLN5</i>
	Axonal	CMT2	<i>KIF1B</i> , <i>MFN2</i> , <i>RAB7</i> , <i>TRPV4</i> , <i>GARS</i> , <i>NEFL</i> , <i>HSPB1</i> , <i>MPZ</i> , <i>GDAP1</i> , <i>HSPB8</i> , <i>DNM2</i> , <i>AARS</i> , <i>DYNC1H1</i> , <i>LRSAM1</i> , <i>DHTKD1</i> , <i>DNAJB2</i> , <i>HARS</i> , <i>MARS</i> , <i>MT-ATP6</i> , <i>TFG</i>
Autosomal recessive	Intermediate	CMTDI	<i>DNM2</i> , <i>YARS</i> , <i>MPZ</i> , <i>IFN2</i> , <i>GNB4</i>
	Demyelinating	CMT4	<i>GDAP1</i> , <i>MTMR2</i> , <i>MTMR13</i> (<i>SBF2</i>), <i>SBF1</i> , <i>SH3TC2</i> , <i>NDRG1</i> , <i>EGR2</i> , <i>PRX</i> , <i>HK1</i> , <i>FGD4</i> , <i>FIG4</i> , <i>SURF1</i>
	Axonal	CMT2	<i>LMNA</i> , <i>MED25</i> , <i>GDAP1</i> , <i>MFN2</i> , <i>NEFL</i> , <i>HINT1</i> , <i>TRIM2</i> , <i>IGHMBP2</i> , <i>GAN</i>
X-linked	Intermediate	CMTRI	<i>GDAP1</i> , <i>KARS</i> , <i>PLEKHG5</i> , <i>COX6A1</i>
	Intermediate or axonal	CMTX	<i>GJB1</i> , <i>AIFM1</i> , <i>PRPS1</i> , <i>PDK3</i>

Abbreviation: CMT, Charcot–Marie–Tooth.

Saporta i wsp. ANN NEUROL 2011;69:22–33

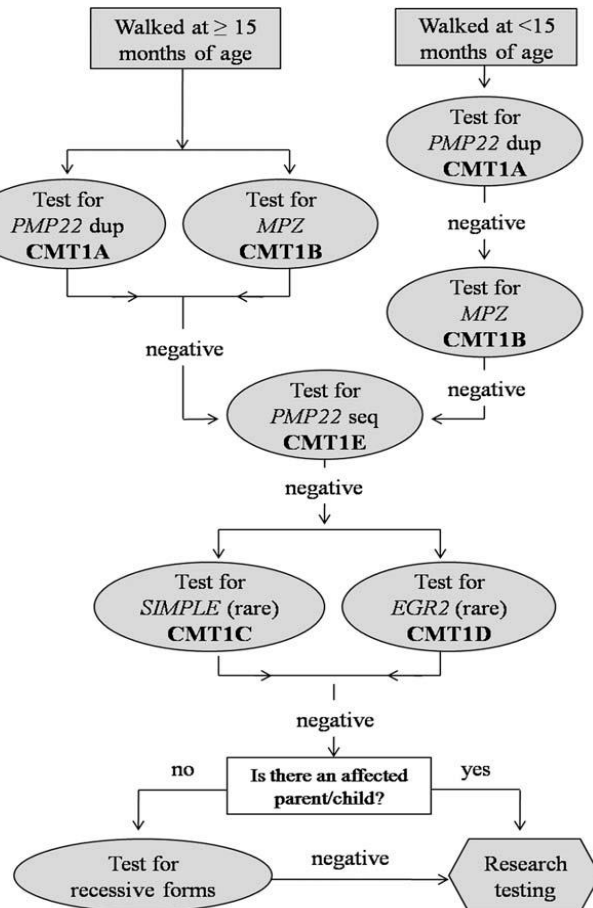
TABLE 5: Genetic Testing “Hit” Rates

Genetic Test	Number of Times Ordered	Number of Hits	Hit Rate (%)
<i>PMP22</i> duplication/deletion	40	32	80
<i>PMP22</i> sequencing	18	2	11
<i>MPZ</i> sequencing	31	9	29
<i>GJB1</i> sequencing	25	6	24
<i>MFN2</i> sequencing	51	7	14

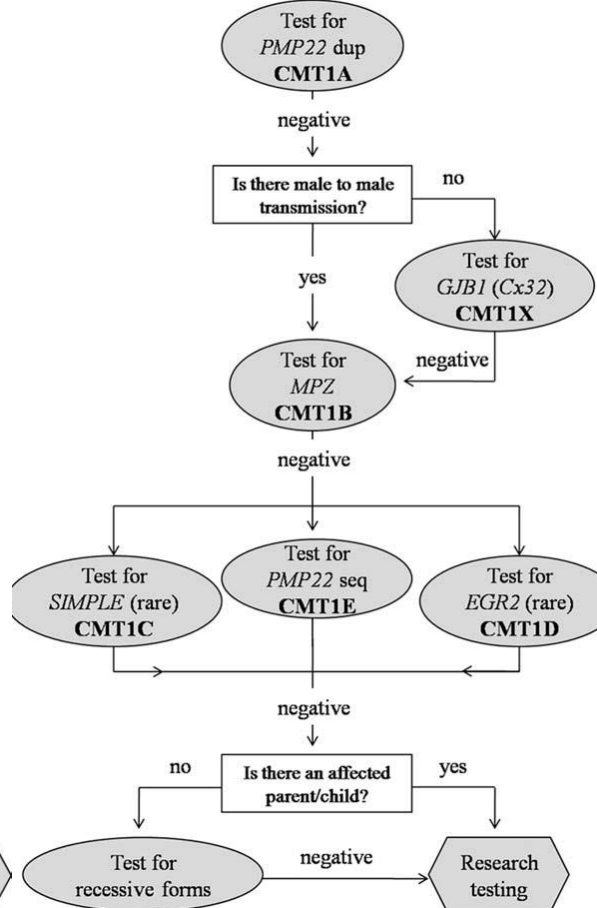
GJB1 = gap junction beta-1 gene; *MFN2* = mitofusin-2 gene; *MPZ* = myelin protein zero gene; *PMP22* = peripheral myelin protein 22 gene.

Saporta i wsp. ANN NEUROL 2011;69:22–33

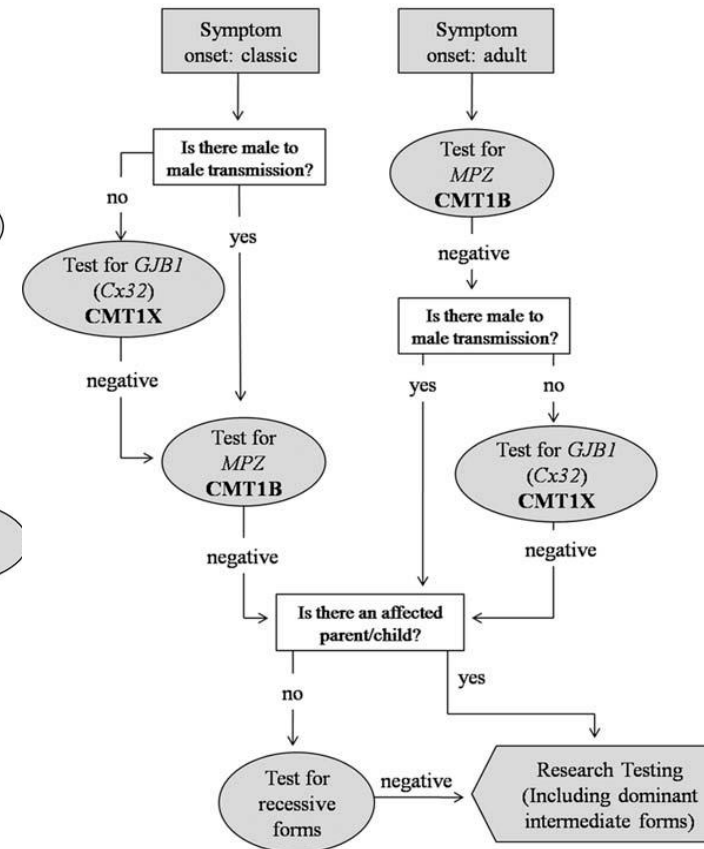
Very slow MNCV (≤ 15 m/s)



Slow MNCV ($15 < \text{and } \leq 35$ m/s)



Intermediate MNCV ($35 < \text{and } \leq 45$ m/s)



Genetycznie uwarunkowana polineuropatia demielinizacyjna/hypomielinizacyjna (CMT)

Zwolnienie CV we włóknach czuciowych i ruchowych we wszystkich badanych nerwach, **na całej długości, zmiany homogenne**

Zwykle nie stwierdza się bloku przewodzenia i znacznej dyspersji czasowej (vs polineuropatie nabyte)

Wyjątek HNPP

Badanie genetyczne

- PMP22:c326_334delGCGTGATGA

Neuropatia z nadwrażliwością na ucisk (HNPP-hereditary neuropathy with pressure palsy)

- Mononeuropatia? Polineuropatia?
- Czynniki wywołujące: ucisk, uraz, infekcja
- Wiek zachorowania: 2-3 dekada
- Wywiad rodzinny
- Badanie kliniczne vs elektrofizjologiczne
(blok przewodzenia, demielinizacja w miejscach fizjologicznej cieśni)

Kryteria elektrofizjologiczne HNPP, Duborg, 2000

PODSTAWOWE

obustronne wydłużenie latencji końcowej w nerwie pośrodkowym

obustronne zwolnienie szybkości przewodzenia we włóknach czuciowych
n.pośrodkowego w odcinku dystalnym (CTS?)

wydłużenie latencji końcowej lub zwolnienie szybkości przewodzenia co najmniej w
1 nerwie strzałkowym

- Dodatkowe
- n.łokciowy często zwolnienie MNCV w odcinku przez łokieć
- zwolnienie MNCV w kończynach dolnych
- obniżenie SNAP szczególnie w kończynach górnych

CLINICAL, ELECTROPHYSIOLOGICAL, AND MOLECULAR FINDINGS IN EARLY ONSET HEREDITARY NEUROPATHY WITH LIABILITY TO PRESSURE PALSY

ANNA POTULSKA-CHROMIK, MD, PhD,¹ ELENA SINKIEWICZ-DAROL, PhD,² BARBARA RYNIEWICZ, MD, PhD,¹
MARTA LIPOWSKA, MD, PhD,¹ DAGMARA KABZIŃSKA, PhD,² ANDRZEJ KOCHAŃSKI, MD, PhD,² and
ANNA KOSTERA-PRUSZCZYK, MD, PhD¹

¹Department of Neurology, Medical University of Warsaw, Banacha 1a Street, 02-097 Warsaw, Poland

²Neuromuscular Unit, Mossakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

Muscle Nerve. 2014 Dec;50(6):914-8

Rodzina	Płeć	Wiek	Pierwsze objawy	Przebieg	No epizodów	HNPP-wywiad rodzinny	Czynnik wyzwalający
1	F	4	Porażenie nerwu strzałkowego	Całkowita poprawa	3	Ojciec	Nieznany
2	M	13	Oslabienie ksobne lkg	Całkowita poprawa	2	Ojciec	Infekcja z gorączką
3	M	11	Porażenie nerwu strzałkowego	Poprawa	1	Matka	Po obudzeniu
4	F	15	Obustronne porażenie nerwu strzałkowego	Całkowita poprawa	1	Matka	Po długim przebywaniu w pozycji kucznej
5	M	18	Porażenie nerwu promieniowego	Całkowita poprawa	2	2 braci 20l i 22l	Nieznany
6	M	16	Porażenie nerwu strzałkowego	Całkowita poprawa po 2mc	1	Dziecko adoptowane	Po ćwiczeniach fizycznych (grze w piłkę)
7	M	17	Porażenie nerwu mięśniowo-skrórnego	Poprawa po 4 miesiącach	2	Negatywny	Po ćwiczeniach fizycznych (dźwiganiu ciężarów)

RodzinaNo	Członkowie rodziny	LITAF	HNPP objawy-kiedykolwiek
1	Proband	Ile92Val	Tak
	Ojciec	Ile92Val	Tak
2	Proband	Ile92Val	Tak
	Ojciec	Ile92Val	Tak
3	Proband	Ile92Val-585C>T (3'UTR	Tak
	Matka	Ile92Val	Tak
	Siostra	Nie znaleziono	Bez objawów
4	Proband	Ile92Val	Yes
	Matka	Ile92Val	Bez objawów
5	Proband	Nie znaleziono	Tak
	Brat	Nie wykonano*	Nie
	Brat	Ile92Val	Tak
6	Proband	Ile92Val	Tak
7	Proband	Ile92Val	Tak

Wnioski HNPP

- Kliniczne podejrzenie HNPP wymaga wykonania badania genetycznego, szczególnie w grupie pacjentów przed 18r.ż
(nawet przy niespełnieniu kryteriów Duborg)
- W badanej grupie dzieci z polineuropatią z nadwrażliwością na ucisk o wczesnym początku oprócz delecji w genie *PMP22* stwierdzono częste występowania polimorfizmu *Ile92Val* w genie *LITAF*

Genetycznie uwarunkowana polineuropatia aksonalna (CMT)

szybkość przewodzenia prawidłowa lub nieznacznie zwolniona

- amplituda odpowiedzi mięśniowej (M) znacznie obniżona
- nn. strzałkowe oraz w n.n. czuciowe często brak odpowiedzi na stymulację
- **EMG**: zmiany neurogenne z cechami odnerwienia

Axonal CMT

(MNCV >45 m/s or Unobtainable CMAP)

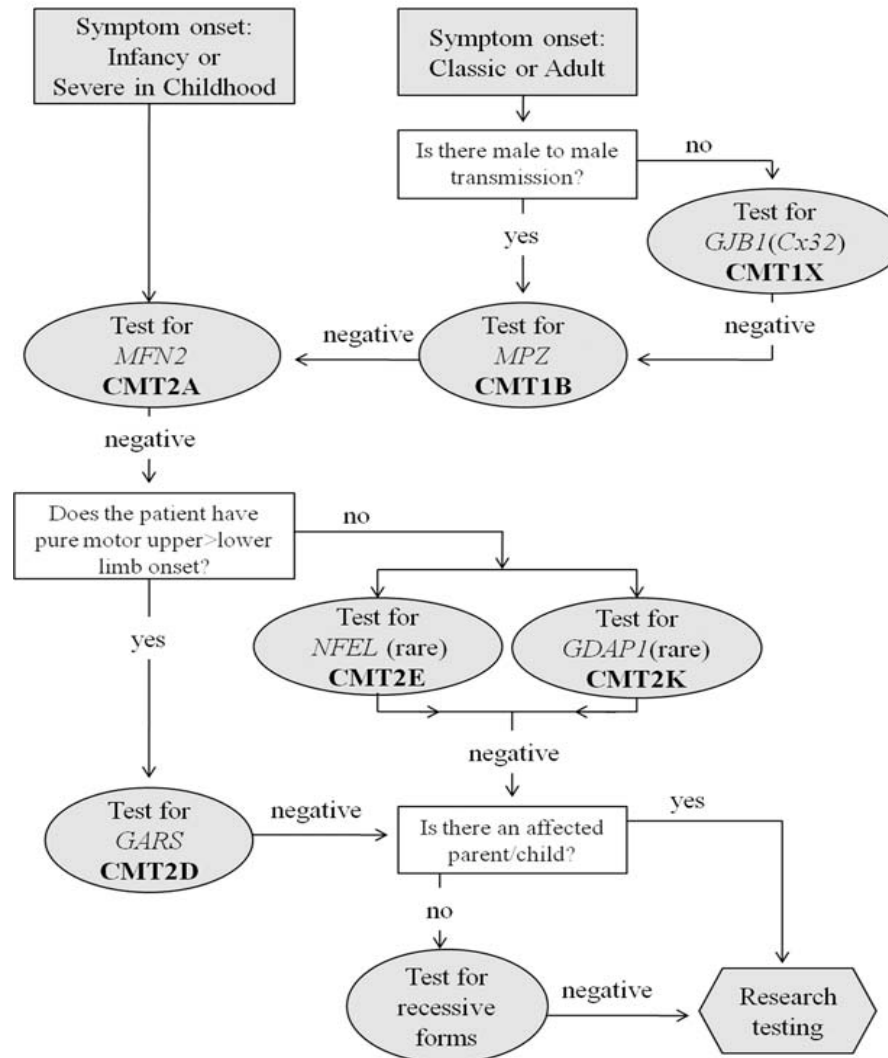


Table 4 Targeted testing strategies

Conduction velocity less than 15 m/s and severe phenotype	<i>PMP22</i> duplication most common, but <i>MPZ</i> with a sizable minority
Conduction velocity 15–35 m/s and classic phenotype	<i>PMP22</i> duplication testing (as high as 89% sensitivity in this category)
Conduction velocity 35–45 m/s and classic phenotype	<i>GJB1</i> with high sensitivity with no male-to-male transmission. <i>MPZ</i> next most frequent
Conduction velocity greater than 45 m/s or responses unobtainable	<i>MPZ</i> approximately 20% of cases (highest sensitivity with severe phenotype or unobtainable responses)

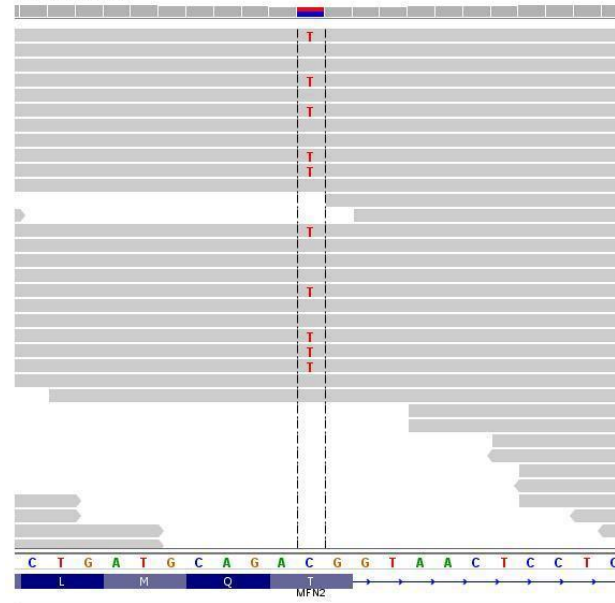
Notes: Severe phenotype is defined as initially walking after the age of 15 months and classic phenotype is defined as initially walking before the age of 15 months. Reproduced from Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ, Feely SM, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol*. 2011;69(1):22–33 with permission from John Wiley and Sons.³⁶

Opis pacjenta

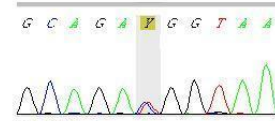
- 3.5-letni chłopiec
- Rozwój psychoruchowy - opóźniony, chód od początku tylko w ortezach
- N: zanik mięśni kkg i kkd proksymalny < dystalny przykurcz zgięciowy w drobnych stawach dłoni, obustronne opadanie stóp, osłabienie odruchów w kkg, brak odruchów w kkd
- Stanie i chód tylko z pomocą
- Czucie osłabione na stopach (skarpetki)
- Wywiad rodzinny: łagodna neuropatia o późnym początku u dziadka ze strony matki

	Proband	Matka	Dziadek
Age first symptoms	<1	asymptomatic	59
Age at evaluation	3	36	63
Median nerve			
Distal CMAP (mV)	4.2	5.5	5.1
Motor DML (ms)	3.9	3.2	4.3
Motor CV (m/s)	50.0	57.6	42.0
SNAP (uV)	Absent	15	4.6
Sensory CV (m/s)		57.1	44.5
Ulnar nerve			
Distal CMAP (mV)	1.4	not done	4.7*
Motor DML (ms)	2.8		3.8
Motor CV (m/s)	50.9		52.0
SNAP (uV)	Absent	not done	3.3
Sensory CV (m/s)			59.0
Peroneal nerve			
Distal CMAP (mV)	Absent	1.0	0.1
Motor DML (ms)		4.3	6.7
Motor CV (m/s)		38.5	27.5
Sural nerve			
SNAP (uV)	not done	18.0	Absent
Sensory CV (m/s)		52.4	
Tibial nerve			
Distal CMAP (mV)	Absent	5.2	Absent
Motor DML (ms)		4.5	
Motor CV (m/s)		42.2	
CMTNS	21	1	12

MFN2: Proband



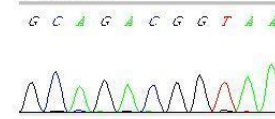
MFN2: Proband



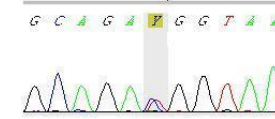
MFN2: Mother



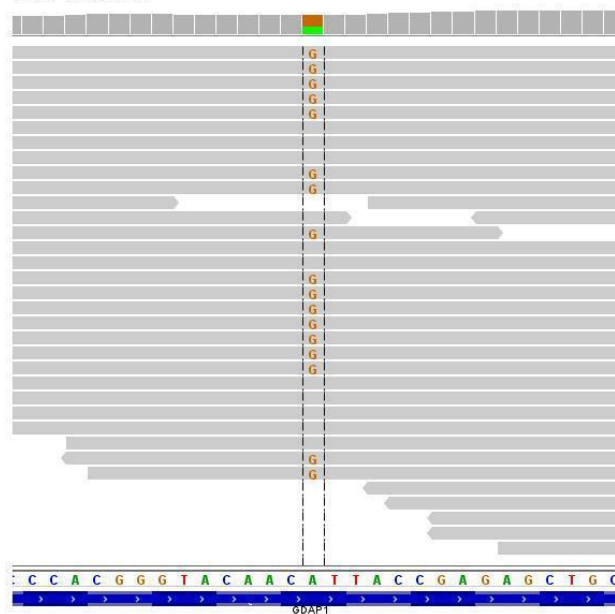
MFN2: Father



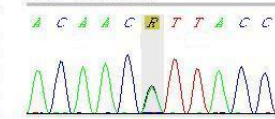
MFN2: Grandfather (mother's father)



GDAP1: Proband



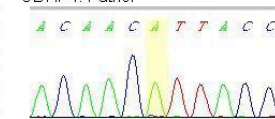
GDAP1: Proband



GDAP1: Mother

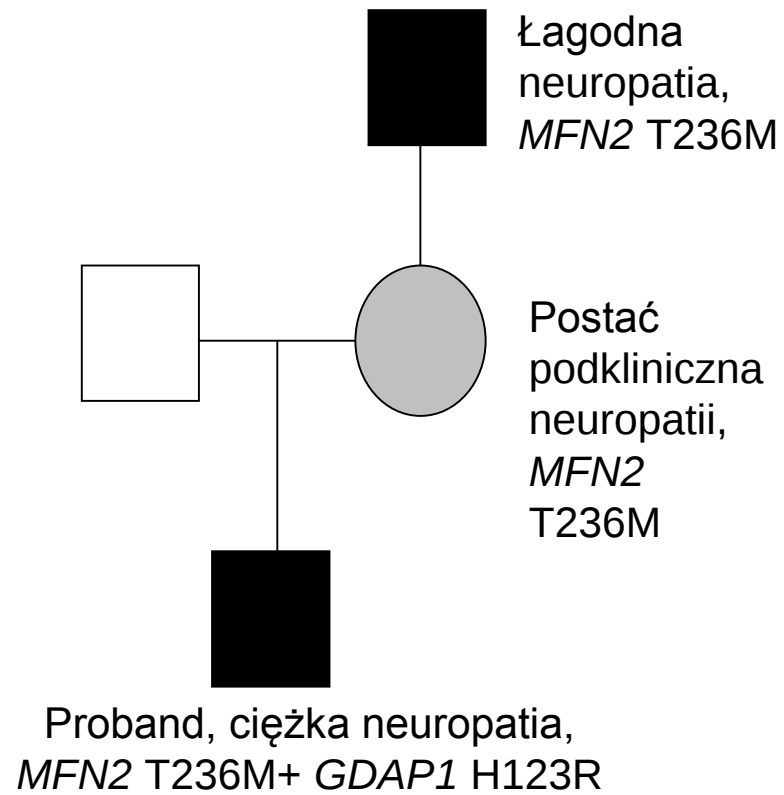


GDAP1: Father



GDAP1: Grandfather (mother's father)





Funkcje genów *MFN2* i *GDAP1*

MFN2

- zaburzenie mitochondrialnego sprzężania energii

GDAP1

- zaburzenie potencjału błony mitochondrialnej

Inne ciężkie neuropatie CMT „z nakładaniem mutacji”

(*Cassereau et al., 2011*)

Pacjentka -heterozygota mutacja ap.R468H *MFN2*

homozygota p.Q163X *GDAP1* uszkodzenie kompleksu oddechowego I

(*Vital et al., 2012*).

heterozygota p.R120W *GDAP1* oraz p.Val1160fsX26 mutacja *MFN2*

Exome sequencing reveals mutations in MFN2 and GDAP1 in severe Charcot-Marie-Tooth disease.

[Kostera-Pruszczyk A¹](#), [Kosinska J](#), [Pollak A](#), [Stawinski P](#), [Walczak A](#), [Wasilewska K](#), [Potulska-Chromik A](#), [Szczudlik P](#), [Kaminska A](#), [Ploski R](#).

[J Peripher Nerv Syst.](#) 2014 Nov 18

Badanie neurologiczne

- Nn. czaszkowe: bz
- KKG: odruchy słabe L=P, poza tym bz
- KKD: osłabienie dystalne siły mięśniowej oraz zanik mm. podudzia, opadanie stóp, brak OK i OA, osłabienie czucia powierzchniowego i głębokiego od kolan w dół, obustronny o. Babińskiego
- Dysdiadochokineza w KKG i KKD, chód na poszerzonej podstawie
- Brak odruchów brzusznych
- Wydrążone stopy

Pacjentka



Brat pacjentki



Pacjent, wiek	Nerwy ruchowe, miejsce stymulacji	Latencja (ms)	Szybkość przewodzenia m/s		Amplituda (mV)	Fala F (ms)
Probandka	Lewy pośrodkowy wirst-APB	7.8	22.3		3.4	46.2
Brat38		6.8	29.0		4.9	36.0
Matka, 63		5.7	33		5.4	22.0
Probandka	Lewy łokciowy wrist-ADM	8.1	23.8		2.0	48
Brat38		5.7	29.0		5.9	40.5
Matka63		4.5	28.1		5.0	34.5
Probandka	Lewy piszczelowy ankle-AHB	6.8	18.5		3.3	91.5
Brat38		Not done				
Matka63		Not done				
Probandka	Prawy strzałkowy ankle-EDB	6.8	17.8	0.5	Absent	
Brat38		7.3	16.4	0.3	Absent	
Matka63		4.5	22.5	1.1	Absent	
	Nerwy czuciowe, miejsce stymulacji	Latencja końcowa (ms)	Szybkość przewodzenia m/s		Amplituda (mV)	
Probandka	Prawy pośrodkowy Dig II-wrist	6.7	23.0		3.5	
Brat38		5.3	29.5		5.1	
Matka63		4.8	34.2		8.6	
Probandka	Prawy łokciowy Dig V-wrist	5.4	28.2		2.8	
Brat38		4.3	39.4		2.6	
Matka63		4.3	32.4		9.6	
Probandka	Prawy łydkowy Ankle-foreleg	brak				
Brat38		brak				
Matka63		brak				
Probandka	Lewy Łydkowy Ankle-foreleg	brak				
Brat38		brak				
Matka63		brak				



Rozpoznanie ostateczne

- CMT1c +PPSM
- *LITAF* (lipopolysaccharide- induced tumor necrosis factor α gene-16p12-16p13.3)
9 mutacji patogennych- <http://www.molgen.ua.ac.be/CMTMutations/>
ekspresja w nerwach obwodowych, ale także w pniu mózgu, mózdku

[Myokai F](#), [Takashiba S](#), [Lebo R](#), [Amar S](#) (1999) A novel lipopolysaccharide-induced transcription factor regulating tumor necrosis factor alpha gene expression: molecular cloning, sequencing, characterization, and chromosomal assignment. Proc Natl Acad Sci U S A 96:4518-23

- *TNF α gene & Stwardnienie rozsiane*

[Gray OM](#), [Abdeen H](#), [McDonnell GV](#), [Patterson CC](#), [Graham CA](#), [Hawkins SA](#) (2009) An investigation of susceptibility loci in benign, aggressive and primary progressive multiple sclerosis in Northern Irish population. Mult Scler 15:299-303

Favorova OO, Favorov AV, Boiko AN, Andreewski TV, Sudomoina MA, Alekseenkov AD, Kulakova OG, Gusev EI, Parmigiani G, Ochs MF (2006) [Three allele combinations associated with multiple sclerosis](#). BMC Med Genet 26:63

$\wedge,$ 

Wnioski

- Koincydencja CMT1c +PPMS?

- [Panas M](#), [Karadimas C](#), [Avramopoulos D](#), [Vassilopoulos D](#) (1998) Central nervous system involvement in four patients with Charcot-Marie-Tooth disease with connexin 32 extracellular mutations. J Neurol Neurosurg Psychiatry 65:947-8
- [Inoue K](#), [Tanabe Y](#), [Lupski JR](#) (1999) Myelin deficiencies in both the central and the peripheral nervous systems associated with a SOX10 mutation. Ann Neurol 46:313-8
- [Frasson E](#), [Polo A](#), [Di Summa A](#), [Fabrizi GM](#), [Taioli F](#), [Fiaschi A](#), [Rizzuto N](#), [Moretto G](#) V (1997) Multiple sclerosis associated with duplicated CMT1A: a report of two cases. J Neurol Neurosurg Psychiatry 63:413-4

- Wspólne oddziaływanie genu *LITAF* i 308G>A *TNF α* prowadzące do demielinizacji zarówno w obwodowym jak i centralnym układzie nerwowym

Charcot-Marie-Tooth type 1C disease coexisting with progressive multiple sclerosis: a study of an overlapping syndrome

Anna Potulska-Chromik^{1*}, Elena Sinkiewicz-Darol^{2*}, Anna Kostera-Pruszczyk¹, Hanna Drac¹, Dagmara Kabzińska², Beata Zakrzewska-Pniewska¹, Marek Gołębiowski³, Andrzej Kochański²

*These authors contributed equally to the study

¹Department of Neurology, Medical University of Warsaw, Poland, ²Neuromuscular Unit, Mossakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland, ³Department of Radiology, Medical University of Warsaw, Poland

The genetics of Charcot–Marie–Tooth disease: current trends and future implications for diagnosis and management

This article was published in the following Dove Press journal:
The Application of Clinical Genetics
19 October 2015

Table 2 Other hereditary causes of neuropathy

Other hereditary considerations	Clinical clues
Hereditary sensory neuropathy	Sensory predominant, autonomic features, ulcerations
Distal hereditary motor neuropathy	Minimal or no sensory involvement
Leukodystrophy	Confluent white matter changes on MRI of the brain
Familial amyloidosis	Cardiomyopathy, autonomic dysfunction, neuropathic pain, carpal tunnel, or nephropathy
Fabry disease	Periodic pain crises in the limbs (acroparesthesias), angiokeratomas on the skin, unexplained renal disease, or unexplained stroke
Refsum disease	Retinitis pigmentosa, deafness, ataxia, and ichthyosis (scaly skin)
Tangier disease	The presence of enlarged orange tonsils, a low HDL, or a syring-like pattern of sensory loss
Mitochondrial disorders	Diabetes, myopathy, ptosis, external ophthalmoplegia, sensorineural deafness, optic atrophy, pigmentary retinopathy, and short stature

Abbreviations: MRI, magnetic resonance imaging; HDL, high density lipoprotein.

CMT -wnioski

- Ocena rozwoju ruchowego
- Poszukiwanie deformacji kostnych
- Diagnostykę „sporadycznych” przypadków neuropatii genetycznej warto uzupełnić o badanie rodziców, dziadków
- Najczęstszą przyczyną CMT (1) jest duplikacja genu *PMP22* (*MLPA!!!*)
- Jeśli zmienność wewnątrzrodzinna jest duża warto poszukiwać modyfikatorów fenotypu/overlapping syndrome
- Zmienność wewnątrzrodzinna może być spowodowana występowaniem mutacji więcej niż jednego genu/NGS

The genetics of Charcot–Marie–Tooth disease: current trends and future implications for diagnosis and management

This article was published in the following Dove Press journal:
The Application of Clinical Genetics
19 October 2015

Table 3 Relative frequency of known mutations (Inherited Neuropathy Consortium 2014)

<i>PMP22</i> duplication	61.6%
<i>GJB1</i>	10.7%
<i>MFN2</i>	7.0%
<i>MPZ</i>	6.7%
Others (excluding <i>PMP</i> deletion for HNPP)	All less than 1%–2% each

Note: Reproduced from CMT subtypes and disease burden in patients enrolled in the Inherited Neuropathies Consortium natural history study: a cross-sectional analysis, Fridman V, Bundy B, Reilly MM, et al, 86, 873–878, © 2015, with permission from BMJ Publishing Group Ltd.⁴⁸

Abbreviation: HNPP, hereditary neuropathy with liability for pressure palsies.