

Genetika dědičných neuropatií

P. Seeman

Klinika dětské neurologie, DNA laboratoř,

UK 2. LF a FN Motol Praha

a

CMT tým UK 2. LF a FNM

CMT - dědičná choroba

- Známo již od Charcota, Marie a Tootha – téměř 130 let
- Genové poruchy známé až v posledních 16 letech – t.č. 36 genů a mnoho dosud neznámých

Genetika CMT

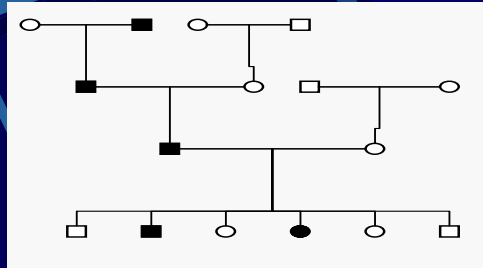
- genetika **klinická**
- genetika **molekulární**

**CMT je nejčastějším dědičným
nervosvalovým onemocněním**

Neurogenetika je neurologií celé rodiny

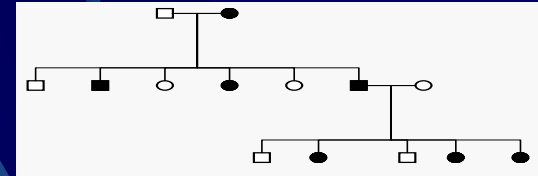
Jak se CMT dědí ?

U CMT existují všechny typy dědičnosti

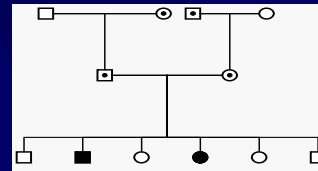


- **AD – většina**

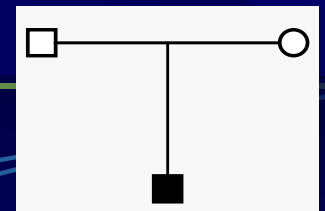
- **GD (X-D) – vázaný na chromozom X**



- **AR – relativně vzácný**

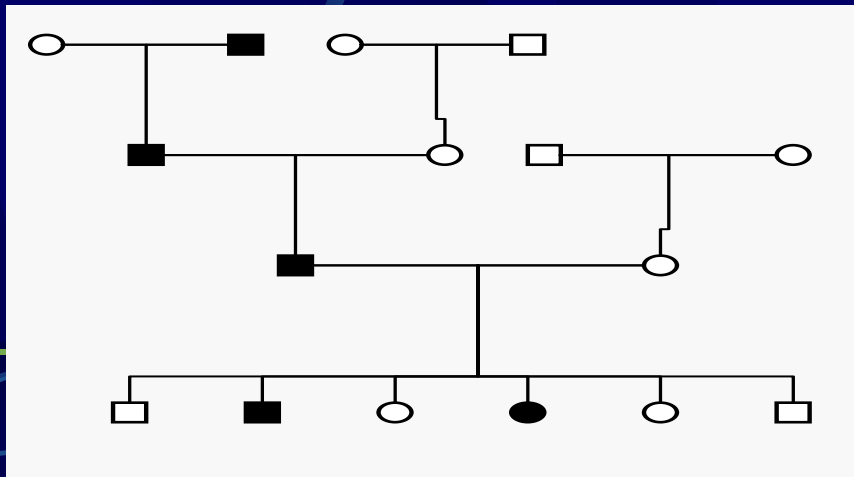


- **Sporadický – nikdo v rodině nikde nemá podobné postižení – problém – může AR, ale častěji jde o novou mutaci s dominantním efektem (AD)**



Ke spolehlivému určení typu dědičnosti je zcela nezbytné vyšetřit přímě příbuzné – neurologicky i EMG

Vždy nakresli rodokmen !!



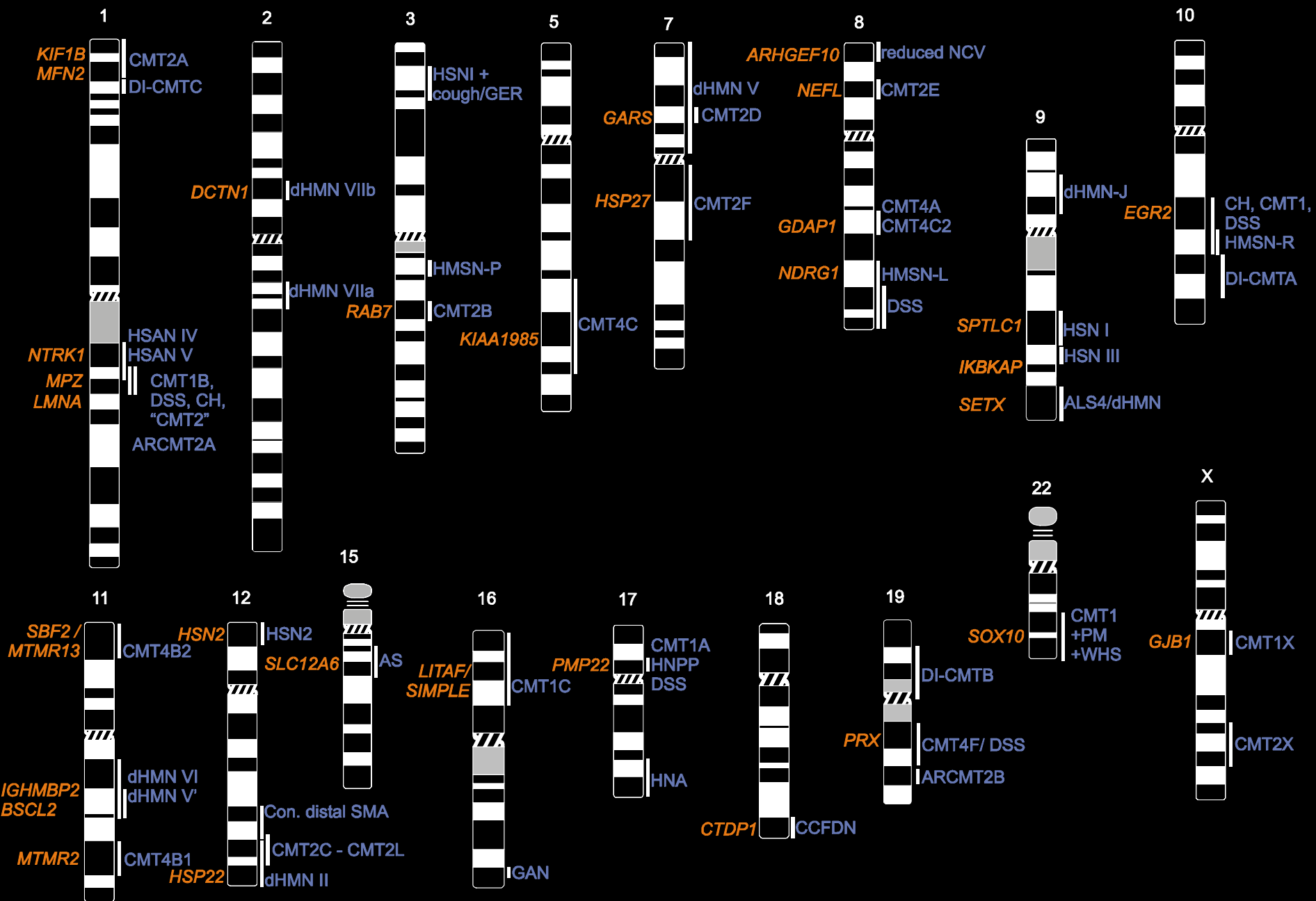
Proč DNA vyšetření ??

- **Nejpřesnější možná diagnostika, potvrzení CMT a objasnění**
- **Upřesnění klinické prognózy**
- **Upřesnění genetické prognózy - hlavně u sporadických (AD nebo AR)**
- **Prenatální diagnostika (poměrně vzácně)**
- **Preimplantační diagnostika**
- **Léčba (některé látky mohu u některého defektu pomoci a jiného uškodit)**

genetická heterogenita

- Podobné příznaky jsou způsobeny poruchami mnoha různých genů
- Dokonce různé poruchy stejného genu mají někdy velmi odlišné projevy
- t.č. **36 známých genů**, jejichž porucha vede k CMT

problém pro genetická vyšetření



<http://molgen-www.uia.ac.be/CMTMutations/>

DNA vyšetření (podle klinických údajů)

- Od nejčastějších příčin k vzácnějším
- U pacientů s **CMT 1** (HMSN I) nejprve CMT1A / HNPP, při negativním výsledku a dostatku údajů a zejména při familiárním výskytu dovyšetření dalších genů
- U pacientů s **CMT2** (HMSN II) (nevyšetřujeme CMT1A/HNPP) – podle rodokmenu a věku začátku vyšetření Cx32, MPZ genů

Detekce nejčastější mutace u CMT

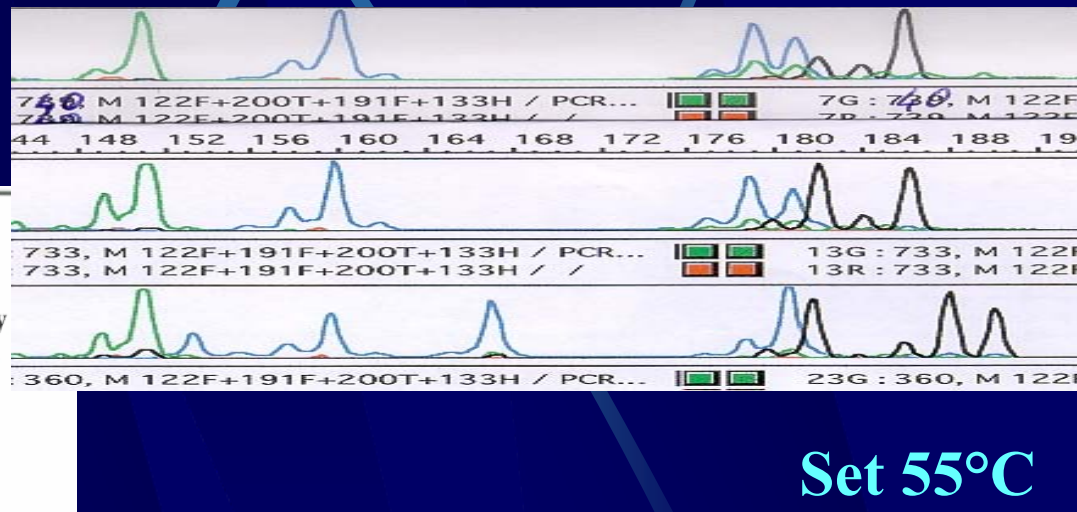
Mikrosatelitové markery

-zpočátku 8 dinukleotidových m.

-t.č. 17 markerů (di-, tetra-, penta-)

Set 58°C

multiplex PCR, fluorescenční značení, kapilární elfo



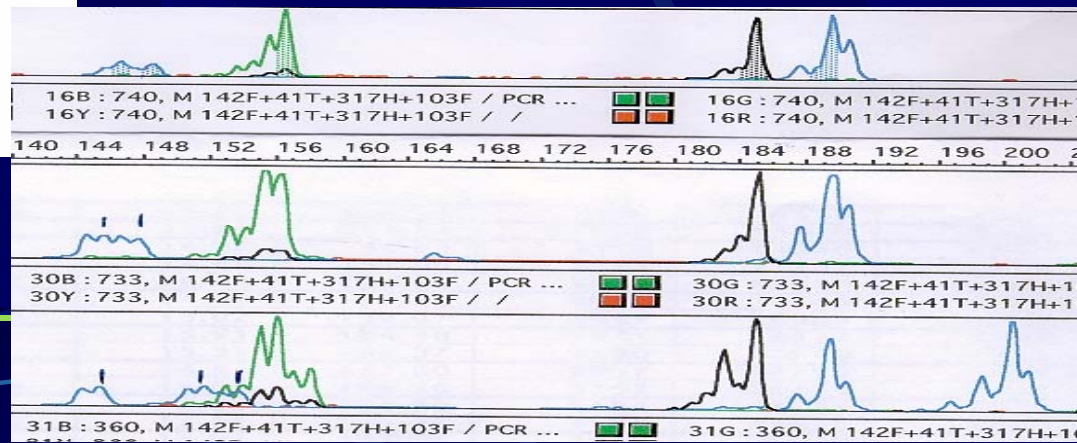
Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT1A) and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP): Reliable detection of the CMT1A duplication and HNPP deletion using 8 microsatellite markers in 2 multiplex PCRs

PAVEL SEEMAN¹, RADIM MAZANEC², JANEZ ZIDAR³, SÁRKA HRUSÁKOVÁ¹,
MARKÉTA CTVRTECKOVÁ¹ and BERND RAUTENSTRAUSS⁴

Departments of ¹Child Neurology, and ²Neurology, 2nd School of Medicine, Charles University Prague, V úvalu 84, 15006 Praha 5, Czech Republic; ³University Institute of Clinical Neurophysiology, Medical Centre, Zaloska 7, 61105 Ljubljana, Slovenia; ⁴Department of Human Genetics, University Erlangen-Nürnberg, Schwabachanlage 10, 91054 Erlangen, Germany

Received June 19, 2000; Accepted July 18, 2000

V poslední době využití i kvantitativní real time PCR - TaqMan



Déle známé a častěji změněné geny u CMT

(po vyloučení CMT1A duplikace na chrom 17p)

- GJB1 (connexin-32 - Cx 32) – CMTX - 10-20 %
- MPZ - myelin protein zero (P0) – CMT1B, DSS/HMSN III nebo CMT2 - 5-10 %
- PMP 22 - peripheral myelin protein 22 – 1-2 %

Je již **známo 34 genů** jejichž porucha může vést k jedné či i více formám CMT, celkem jich je možná 50 – 100, většinou jde ale o velmi vzácné příčiny.

**CMT nelze pomocí DNA
vyšetření vyloučit !**

DNA vyšetření je k potvrzení nebo
upřesnění klinické diagnózy

DNA vyšetření u CMT je třeba cílit !

- Nezbytnost co nejlepší klinické diagnostiky
- Rodinná anamnéza – klinické vyšetření přímých příbuzných - rodokmen
- Věk při začátku obtíží
- Progrese
- Typ polyneuropatie – EMG je nezbytností
- Klinický nález a typ postižení, zvláštní příznaky

Dotazník pro DNA vyšetření dědičných neuropatií

Dotazník k DNA vyšetření dědičných neuropatií

Dotazník a žádanka k DNA vyšetření dědičných neuropatií

Příjmení: _____ má atrofie svalů na rukou?: **ano** **ne**

Jméno: _____ svede špetku?: **normálně** **nenormálně-špatně** **nesvede**

rodné číslo: _____ PSC: _____ přidružené příznaky: **porucha sluchu** **abnormní fotoreakce** **dysfonie** **jiné, jaké?**

slovní diagnosa: _____ EMG vyšetření rychlosti vedení provedeno: **ano** **ne**

diagnosa-kód: _____ EMG kdy a kde, u koho?: _____

zdrav. pojišťovna: _____ typ CMT dle výsledku EMG: **demyelinizační** **axonální** **intermediární** **nejasně**

odes. lékař: – Jméno, název a adresa pracoviště (event. razítko): _____ rychlost vedení na n. medianus: motorická (MNCV): m/s senzitivní (SNCV): m/s

IČP: _____ rychlost vedení na n. suralis: senzitivní (SNCV): m/s

odbornost lékaře: 209 208 jiná: _____ rychlost vedení na n. peroneus: _____

_____ rychlost vedení na dalších nervech: **normální** **středně snížená** **výrazně snížená**

_____ byla někdy provedena biopsie nervu? **ano** **ne**

_____ jestliže ano, ve kterém roce? _____, kde?

_____ výsledek, popis: _____

jde o sporadický případ v rodině, jediný takto postižený v rodině?: **ano** **ne**

na který typ CMT či gen navrhuje se zaměřit po vyšetření nejčastější mutace: _____

jsou v rodině další příbuzní s podobným postižením, jde o familiární případ?: **ano** **ne**

rodokmen rodiny (nezbytné!) se jmenuje: _____

výskyt onemocnění (neuropatie CMT) v kolika generacích-včetně pacienta: 1 2 3 4 5

je stejné či podobné postižení u matky?: **ano** **ne**

je stejné či podobné postižení u otce?: **ano** **ne**

je stejné či podobné postižení u sourozence?: **ano** **ne**

je v rodině někdy výskyt přenosu choroby z otce na syna? **ano** **ne**

byli postižení příbuzní vyšetření (neurol., EMG): **ano** **ne**

kdo z příbuzných byl vyšetřen?: _____

první příznaky onemocnění u pacienta ve věku (zaškrtněte to správné, prosím)

0-5 let
5-10 let
10-20 let
20-30 let
30-40 let
více než 40 let
není jasné, známé

je u pacienta distální svalová slabost na dolních končetinách: **ano** **ne**

je schopen chůze po patách?: **ano** **ne**

má deformity nohou?: **ano** **ne**

má distální svalovou slabost na horních končetinách?: **ano** **ne**

☐ muž – zdrav, nepostižený

☐ žena – zdravá, nepostižená

☐ postižená žena

Upozornění – bez kompletně vyplněného formuláře a nakresleného rodokmenu nebude možné DNA vyšetření provést. V případě nejasností Vaše dotazy rádi zodpovíme na e-mailu: pavel.seeman@lfmotel.cuni.cz nebo radimmaz@hotmail.com, případně fax 2 2443 3322.
K vyšetření je možné zaslat buď již izolovanou DNA nebo 5-10 ml krve v EDTA zkumavce – lze posílat poštou, řádně zabalené proti poškození – NEMRAZIT!

Adresa na zaslání krve či DNA: MUDr. Pavel Seeman, Klinika dětské neurologie, DNA laboratoř, UK 2. LF a FN Motol, V úvalu 84, 150 06 Praha 5.
Obvyklá doba vyšetření do zaslání výsledků je cca 2 měsíce.

Genetické vyšetření

(3 kroky)

- 1. Genetická konzultace a vysvětlení smyslu vyšetření, sestavení rodokmenu, určení možných typů dědičnosti, souhlas, odběry
- 2. Molekulárně genetické vyšetření
- 3. Genetická konzultace – vysvětlení a sdělení výsledků a konsekvencí – dovyšetření dalších v rodině atd

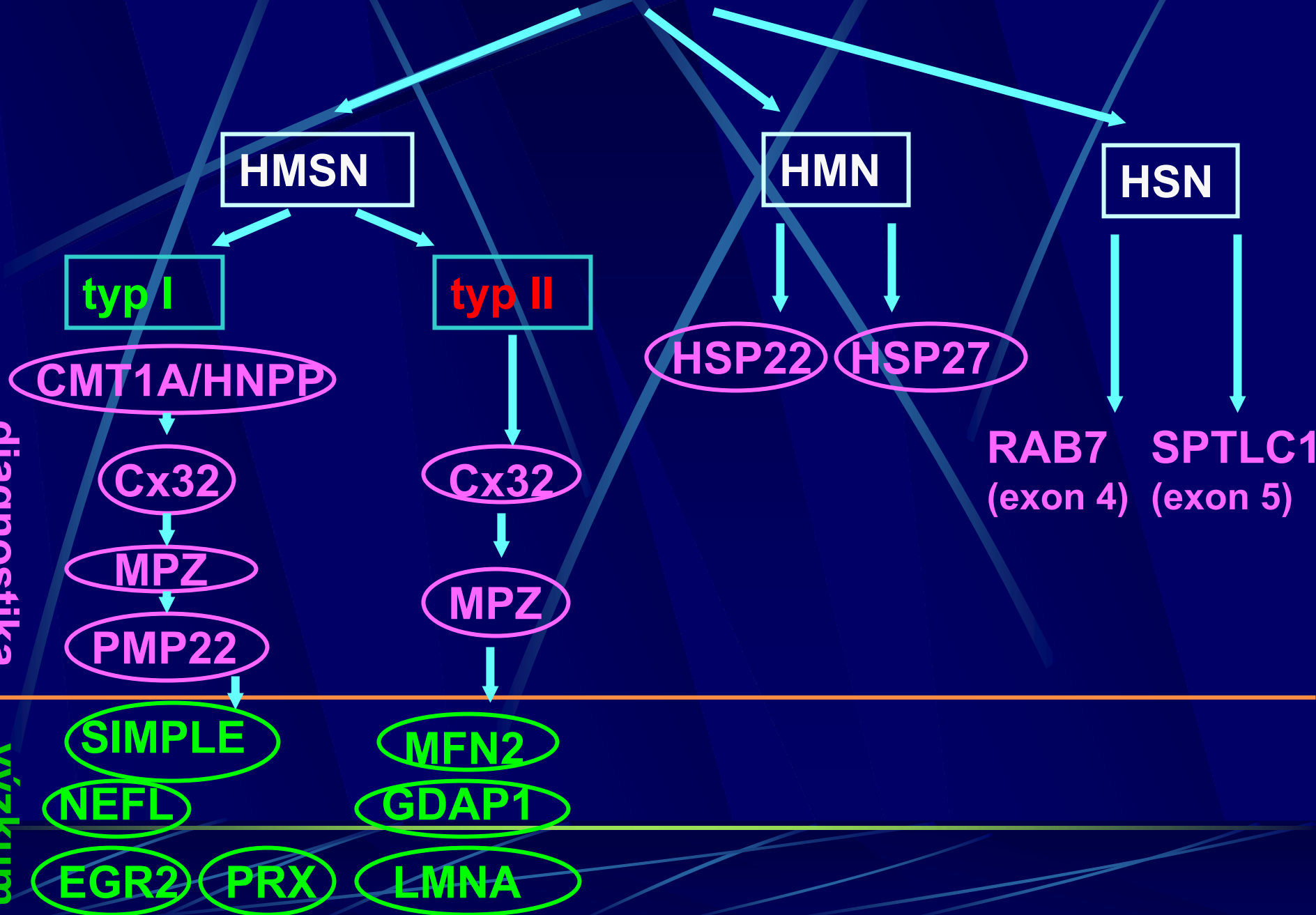
DNA vyšetření

- Diagnostika – zavedená vyšetření, hrazeno zdravotními pojišťovnami (CMT1A/HNPP, Cx32, MPZ, PMP22, GDAP1, HSP22, HSP27, RAB7 – 1 mutace, SPTLC1 – 1 mutace) – výsledek obvykle během 1-2 měsíců, vyšetření ve skupinách
- Výzkum – vyšetření v rámci grantů – výzkum, není účtováno, výsledek déle, vyšetření ve skupinách (EGR2, SIMPLE, NEFL, PRX, MFN2)

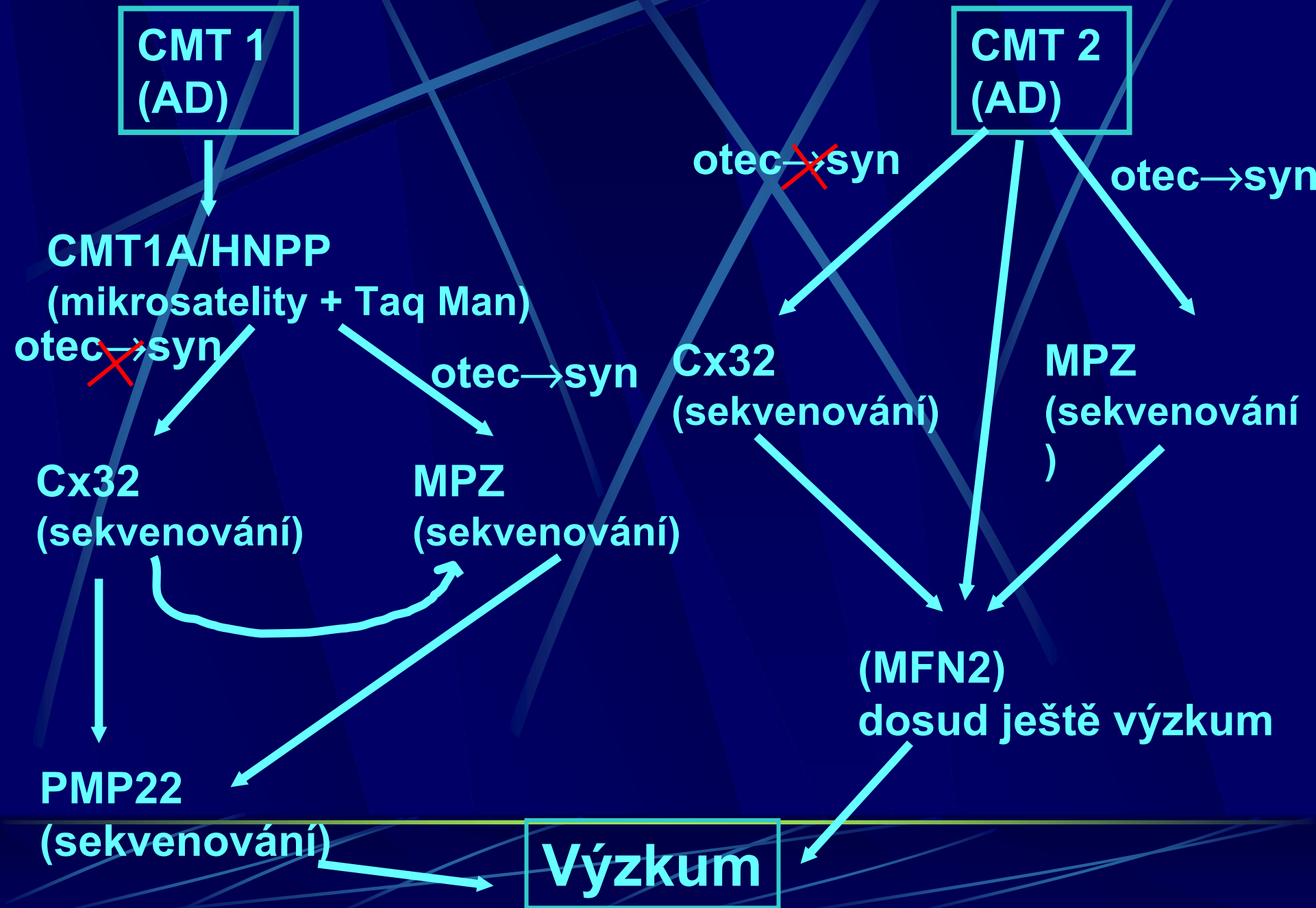
Patient CMT - DNA

diagnostika

výzkum



Obvyklý postup u HMSN



Objasnitelnost na DNA úrovni

- V praxi objasňujeme cca 50 % z vyšetřených vzorků
- U správně a přesně diagnostikovaných pacientů až 75- 80 %
- Větší pravděpodobnost u typu 1 a u familiárních případů
- Zvyšování počtu vyšetřených genů od 3. příčiny nevede z odpovídajícím zvýšením objasněnosti

**Po vyloučení nejčastějších 3 typů
(CMT1A, CMTX a MPZ) je další
pravděpodobnost objasnění
obvykle již velmi nízká –
pod 5 % (1-2 %)**

Rozšíření možností přímého genového vyšetření dalších forem CMT v posledních letech

- Možnosti pro vyšetření **axonálních** forem CMT (MPZ, NEFL, GDAP1, MFN2)
- Možnosti pro vyšetření **recesívních** forem CMT (PRX, GDAP1, MTMR2, LMNA)
- Možnosti vyšetření **HMN** (GARS, Dynactin I, HSP22, HSP27)
- Možnosti vyšetření **HSN** (NTRK I, RAB 7, SPTLC1)

vyšetřitelné geny v DNA laboratoři

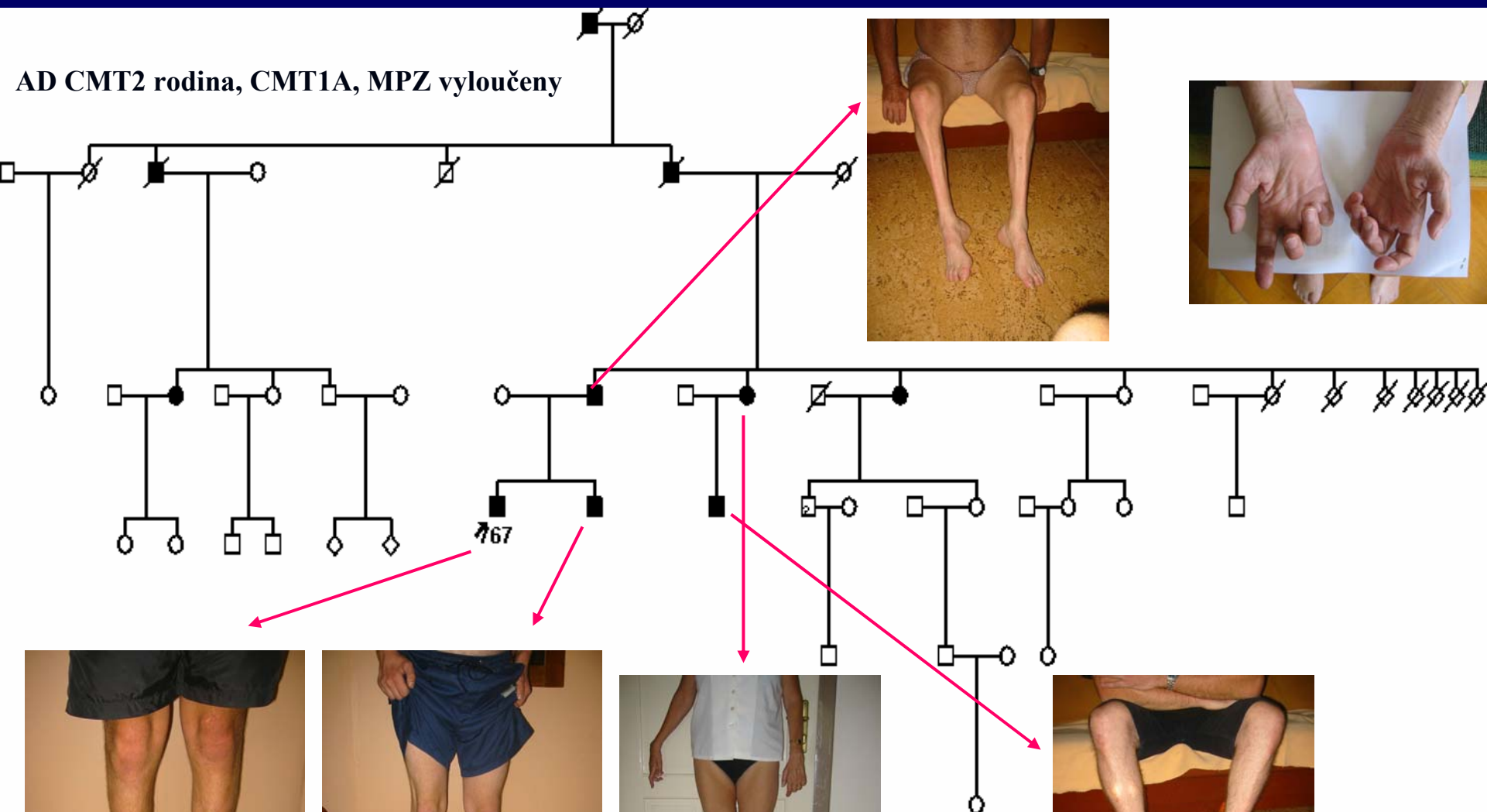
- CMT1A duplikace/HNPP delece (chromosom 17p)
- Cx32 – GJB1 – CMTX
- MPZ – P0 gen – HMSN III, CMT2, CMT1B
- PMP22 – HNPP, HMSN I, CHN
- SIMPLE – CMT1C
- EGR2 – HMSN I, CHN
- GDAP1 – AR-CMT2
- MFN2 – CMT2A
- HSP22 – dHMN II
- HSP27 – dHMN II
- PRX – CMT4F
- RAB7 – CMT2B
- SPTLC1-HSN1
- CCEDN gen

Nové objevy vyšetřitelných genů jdou rychleji než je naše schopnost tolik genů vyšetřovat

- **Nutnost cílené diagnostiky**
(bez zbytečných a nesprávně indikovaných vyšetření)
- **Nutnost nových technologií**
(vyšetření mnoha genů současně)
- **Nutnost mezinárodní spolupráce a dělby práce**

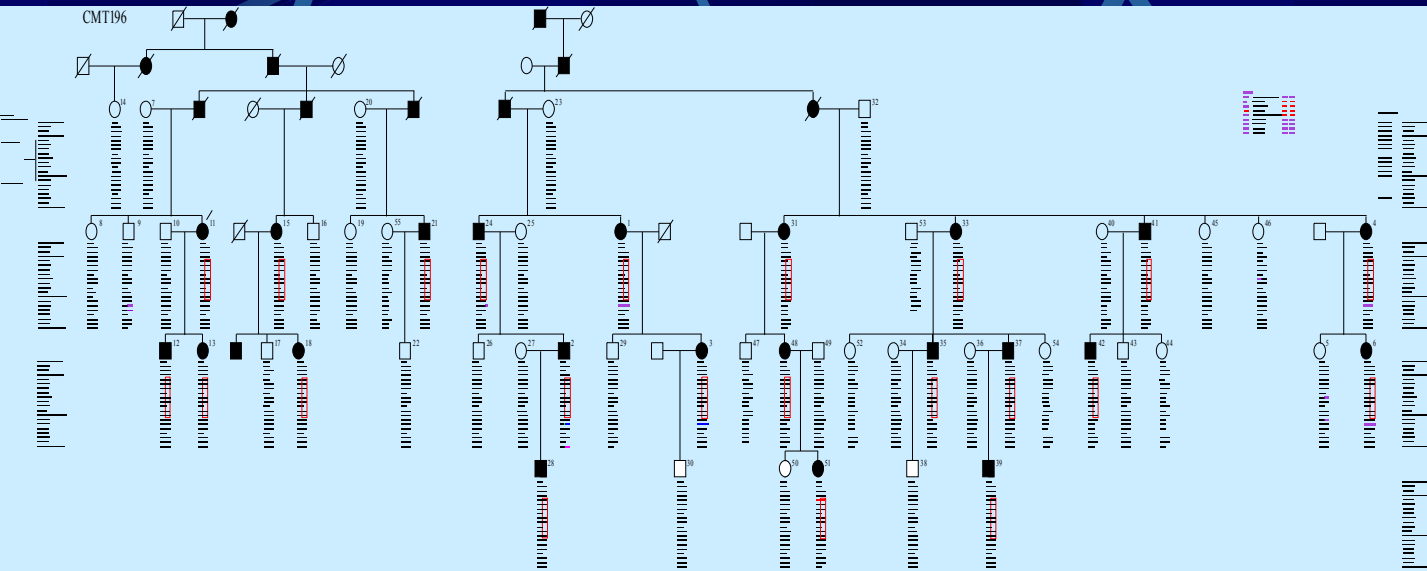
Vazebné analýzy k určení polohy genové poruchy případně objevu nového genu.

AD CMT2 rodina, CMT1A, MPZ vyloučeny



Velké rodiny s neznámou mutací možnost pro vazebnou analýzu a možný objev nových kandidátních genů

HSP 22 gen na 12q24 (dHMNII) – Nature Genetics 2004



Počty DNA vyšetření v DNA laboratoři KDN v Motole k 10.4. 2006

(pacienti z celé ČR a část i Slovensko)

- Celkem již vyšetřeno **1379** pacientů s diagnosou CMT z **1004** rodin, (celkem 2041 osob)
- **929** rodin vyšetřeno na CMT1A/HNPP
- CMT1A duplikace prokázána u **400** pacientů z **222** rodin
- HNPP delece prokázána u **210** pacientů ze **116** rodin
- Mutace v dalších genech u **158** pacientů ze **65** rodin
- Celkem CMT potvrzena a objasněna na DNA úrovni u: **768** pacientů ze **403** rodin
- Záchyt CMT1A/HNPP vyšetření – 36 %
- Výťažnost DNA vyšetření celkem 40 % (na úrovni rodin)

Děkuji za pomoc všem nejblížeším spolupracovníkům



R. Mazanec

O. Horáček

A. Kobesová

P. Smetana

L. Baránková

E. Mikešová

J. Haberlová

V. Beneš III.

I. Sakmaryová



Podle tíže postižení pacienta

- Lehké, mírné typy – HNPP, CMTX (Cx32) u žen, část CMT1A



- Těžké typy – Dejerine Sottasova (DSN) choroba – časný začátek, větší část CMT2A – porucha MFN2, HMN v pozdějším stádiu, + neznámé

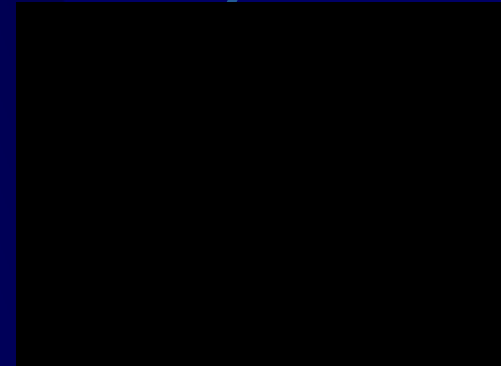


Komplikace CMT

deformity páteře, skoliosa (u 27%)



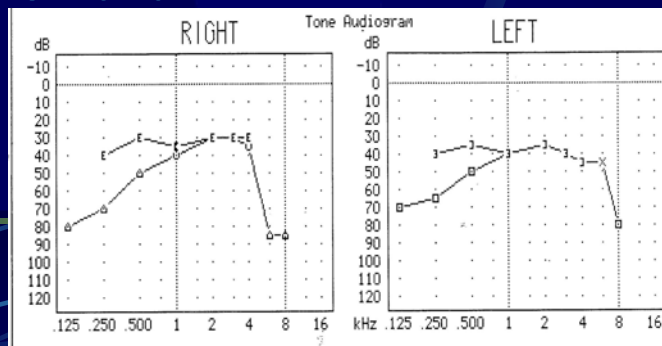
ztráta samostatného pohybu –
berle nebo inv. vozík



amputace u HSN

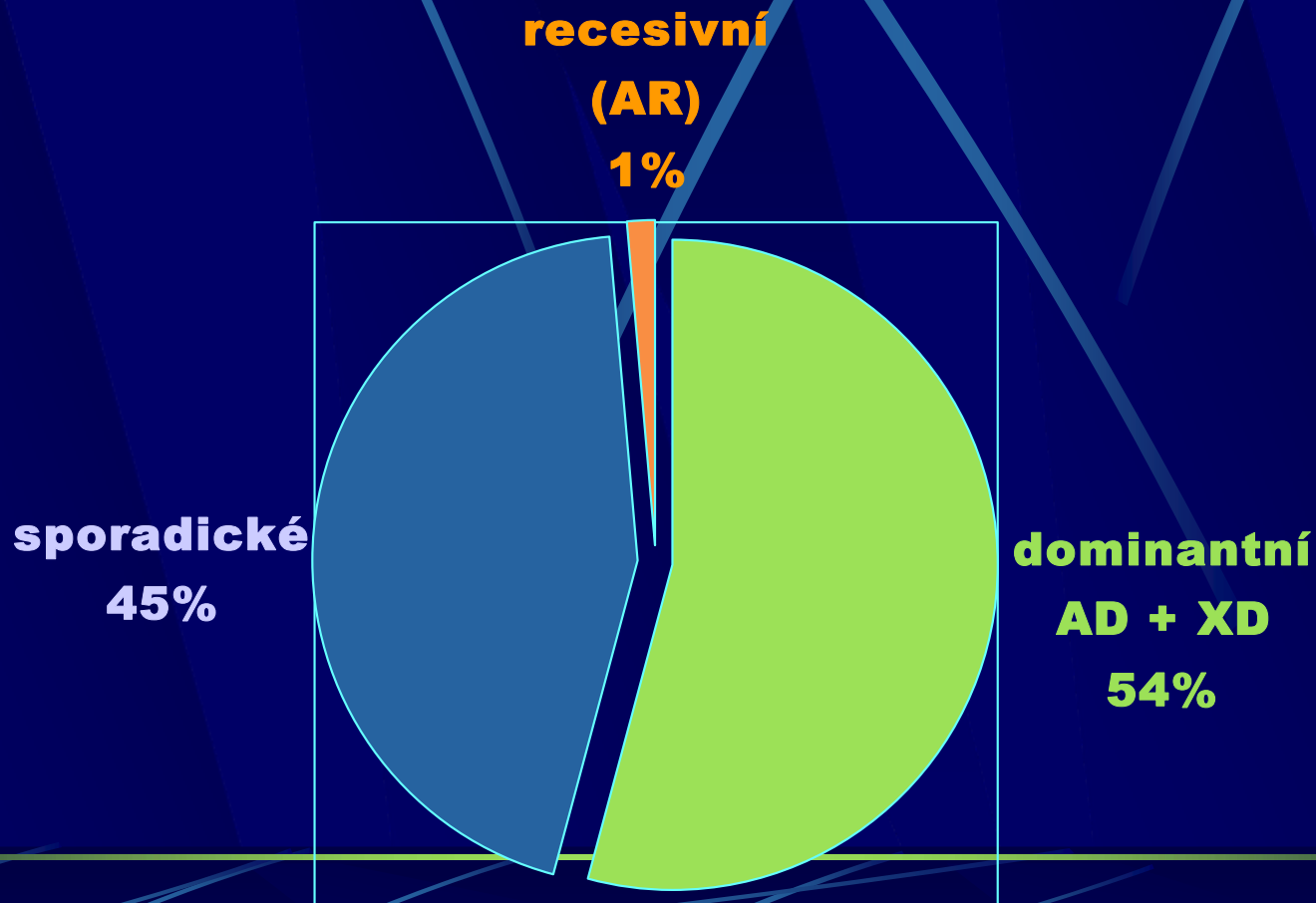


ztráta sluchu a
hluchota

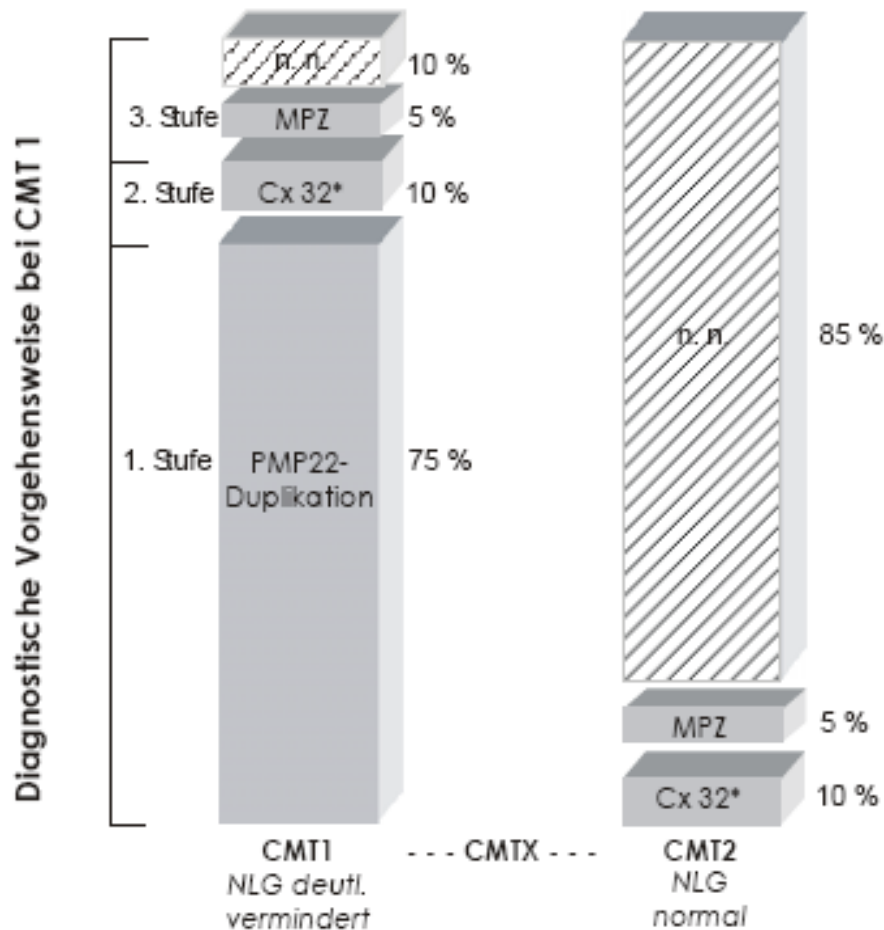


Typy dědičnosti v českém souboru CMT rodin

U 392 rodin – nepříbuzných pacientů s dostatkem klinických údajů



Stufenschema zur molekulargenetischen Diagnostik bei CMT



Schematische Darstellung der prozentualen Anteile der in der molekulargenetischen Diagnostik analysierbaren Gene bei CMT1, CMTX und CMT2. Eine Cx32-Analyse(*) kann unterbleiben, falls in der Familie eine Vererbung vom Vater zum Sohn bekannt ist. (n. n. = derzeit nicht nachweisbar)