

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko.

Dr Dagmara Kabzińska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- | | |
|------------|---|
| 2016 | rozpoczęcie specjalizacji z laboratoryjnej genetyki medycznej |
| 2012-2013 | Studia podyplomowe „Analityka medyczna” na Lubelskim Uniwersytecie Medycznym |
| 2010-2011 | Studia podyplomowe „Metodologia Badań Klinicznych” na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym |
| 2008-03-03 | Obrona rozprawy doktorskiej z wyróżnieniem w Zespole Nerwowo-Mięśniowym IMDiK PAN. Promotor doc. dr hab. A. Kochański.

Tytuł rozprawy doktorskiej: “Mutacje w genach <i>GDAP1</i> , <i>PRX</i> , <i>EGR2</i> i <i>CTDP1</i> w chorobach kręgu Charcot-Marie-Tooth o dziedziczeniu autosomalnym recesywnym (AR-CMT).” |
| 2000-09-27 | Praca magisterska na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
Promotor – profesor E. Bartnik. Tytuł rozprawy magisterskiej:
„Mitochondrialny DNA: polimorfizmy sekwencyjne w drugim regionie hiperzmiennym i polimorfizmy restrykcyjne w populacji polskiej.” |

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2010 – 2014 Adiunkt na Wydziale Biologii i Nauk o Środowisku Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie. Pracownik naukowo-dydaktyczny

2009 - obecnie: Adiunkt w Zespole Nerwowo-Mięśniowym Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN.

2000 - 2009 Asystent w Zespole Nerwowo-Mięśniowym Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN.

1993-2000 Studia magisterskie Wydział Biologii Uniwersytet Warszawski

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl publikacji „**Udział mutacji genów *GDAP1*, *WNK1/HSN2* oraz *RAB3GAP1* w etiopatogenezie choroby Charcot-Marie-Tooth typu 2.**”

składający się z 5 prac naukowych o sumarycznym **IF= 10,273; MNiSW= 117.**

1. Kabzińska D, Strugalska-Cynowska H, Kostera-Pruszczyk A, Ryniewicz B, Posmyk R, Midro A, Seeman P, Báranková L, Zimoń M, Baets J, Timmerman V, Guergueltcheva V, Tournev I, Sarafov S, De Jonghe P, Jordanova A, Hausmanowa-Petrusewicz I, Kochański A. L239F founder mutation in *GDAP1* is associated with a mild Charcot-Marie-Tooth type 4C4 (CMT4C4) phenotype. *Neurogenetics*. 2010 Jul;11(3):357-66. (**IF – 3,488, MNiSW – 32**)
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaprojektowaniu i wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu wyników i współudział w pisaniu tekstu. Mój udział procentowy szacuję na: 65%
2. Kabzińska D, Niemann A, Drac H, Huber N, Potulska-Chromik A, Hausmanowa-Petrusewicz I, Suter U, Kochański A. A new missense *GDAP1* mutation disturbing targeting to the mitochondrial membrane causes a severe form of AR-CMT2C disease. *Neurogenetics*. 2011 May;12(2):145-53. (**IF – 3,354, MNiSW – 35**)
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaprojektowaniu i wykonaniu doświadczeń z zakresu genetyki medycznej,

opracowaniu wyników i współudział w pisaniu tekstu. Mój udział procentowy szacuję na: 50%

3. Potulska-Chromik A*, Kabzińska D*, Lipowska M, Kostera-Pruszczyk A, Kochański A. A novel homozygous mutation in the *WNK1/HSN2* gene causing hereditary sensory neuropathy type 2. *Acta Biochim Pol.* 2012;59(3):413-5. (IF – 1,185, MNiSW – 15) Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaprojektowaniu i wykonaniu doświadczeń, opracowaniu wyników i współudział w pisaniu tekstu. Mój udział procentowy szacuję na: 40%
4. Kabzińska D, Kotruchow K, Cegielska J, Hausmanowa-Petrusewicz I, Kochański A. A severe recessive and a mild dominant form of Charcot-Marie-Tooth disease associated with a newly identified Glu222Lys *GDAP1* gene mutation. *Acta Biochim Pol.* 2014;61(4):739-44. (IF – 1,153, MNiSW – 15) Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaprojektowaniu i wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu wyników i współudział w pisaniu tekstu. Mój udział procentowy szacuję na: 65%
5. Kabzińska D, Mierzewska H, Senderek J, Kochański A. Warburg micro syndrometype 1 associated with peripheral neuropathy and cardiomyopathy. *Folia Neuropathol.* 2016;54(3):273-281. (IF – 1,093, MNiSW – 20) Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaprojektowaniu i wykonaniu doświadczeń, opracowaniu wyników i współudział w pisaniu tekstu. Mój udział procentowy szacuję na: 60%

* - autorzy równorzędni

Wprowadzenie

Wspólnym zagadnieniem naukowym cyklu publikacji, będącego podstawą do wystąpienia o nadanie stopnia doktora habilitowanego, są rzadkie neuropatie obwodowe oraz zespoły z neuropatią o dziedziczeniu autosomalnie recesywnym. Podejmując się tych badań chciałam przyczynić się do lepszego zrozumienia podstaw dziedzicznych neuropatii ruchowo-czuciowych u pacjentów w populacji polskiej i zapoczątkować dalsze badania nad mechanizmami prowadzącymi do wystąpienia objawów chorobowych.

Dziedziczne neuropatie ruchowo-czuciowe

Dziedziczne neuropatie ruchowo-czuciowe, nazywane również zwyczajowo chorobami kręgu Charcot-Marie-Tooth (CMT), stanowią grupę chorób charakteryzujących się postępującą degeneracją nerwów obwodowego układu nerwowego. W wyniku defektów w neuronach

obwodowych dochodzi u pacjentów do powoli postępującego zaniku mięśni odsiebnych kończyn dolnych i górnych. W niektórych formach CMT zanik mięśni rozszerza się również na mięśnie dosiebne, czego skutkiem jest unieruchomienie chorych na wózku inwalidzkim. Zanikowi mięśni obserwowanemu w dziedzicznych neuropatiach obwodowych towarzyszą dodatkowo zaburzenia czucia, które w skrajnych przypadkach prowadzą do masywnych, owrzodzeń zlokalizowanych głównie w dystalnych częściach w kończynach dolnych rzadziej górnych, kończących się zwykle amputacją części kończyny [1]. Pomimo, że zalicza się je do chorób rzadkich, niemniej jednak stanowią jedną z najczęstszych chorób obwodowego układu nerwowego. Szacuje się że częstość ich występowania wynosi średnio 1:2500, od 82,3/1000,000 (w Norwegii) do 9,7/100,000 (w Serbii). [2] Inne badania wskazują natomiast, że częstość chorób kręgu CMT w Europie wynosi od 10-28/100 000. [3] W niektórych przypadkach CMT, oprócz zaniku mięśni i zaburzeń czucia, występują objawy dodatkowe, takie jak porażenie strun głosowych, skrzywienie boczne kręgosłupa, drżenia rąk, niedosłuch i zaburzenia autonomicznego układu nerwowego [4]. Historycznie dziedziczne neuropatie ruchowo-czuciowe dzieli się na podstawie wartości przewodzenia w nerwach obwodowych (NCV) na dwie grupy: demielinizacyjną (CMT1) w której wartości przewodzenia w nerwie pośrodkowym są niższe niż 38 m/s i aksonalną (CMT2) o wartościach powyżej 38 m/s oraz pośrednią o wartościach pomiędzy 25 – 45 m/s (CMTI). W przypadku neuropatii aksonalnych charakterystyczne jest również obniżenie amplitudy potencjałów wywołanych. W pierwszym przypadku defekt dotyczy osłonki mielinowej i komórek Schwanna, w drugim przypadku dochodzi do uszkodzenia aksonu, natomiast formy pośrednie charakteryzuje uszkodzenie zarówno otoczki mielinowej jak i aksonu. [5] Dotychczas opisano wszystkie znane sposoby dziedziczenia chorób kręgu CMT z wyjątkiem dziedziczenia sprzężonego z chromosomem Y. Na podstawie wartości przewodzenia oraz sposobu dziedziczenia dzieli się je na typy: CMT1, CMT2, CMT4, AR-CMT2, DI-CMT, RI-CMT oraz CMTX. Każdy z typów dzieli się dalej ze względu na gen którego defekt zaangażowany jest w powstanie choroby na wiele podtypów np. CMT1 od A – F, CMT2 od A – Z, a wraz z postępowaniem badań i wprowadzaniem nowych technologii jak sekwencjonowanie nowej generacji dochodzą do klasyfikacji nowe geny i nowe podtypy. Obecnie znanych jest ponad 80 genów których defekty odpowiadają za powstanie dziedzicznych neuropatii ruchowo-czuciowych. [6,7] A ich liczba wzrosła gwałtownie w przeciągu ostatnich 5 lat. Nowo odkrywane geny i podtypy CMT, sprawiają, że obecny podział neuropatii wydaje się już niewystarczający do ich opisu. Chociażby z uwagi na ograniczenia alfabetu łacińskiego. Nie ma jednak dotychczas wypracowanego jednorodnego i przejrzystego podziału neuropatii, nie ma również zgodności w środowisku naukowym na świecie, jak taka

klasyfikacja miała by do końca wyglądać i na czym się opierać. Sprawia, to coraz więcej problemów przy opisywaniu nowych podtypów polineuropatii. Pomimo tak dużej znanej liczby genów, za 20-64% przypadków CMT (zależnie od populacji) odpowiada duplikacja regionu 17p11-p12, związana z fenotypem CMT typu 1A [8], a razem z mutacjami w genach *PMP22*, *MPZ*, *MPZ* oraz *GJB1* odpowiada za około 80% a nawet 96% (w zależności od populacji) przypadków dziedzicznych neuropatii ruchowo-czuciowych z krajach Zachodnich. [9,10] Ponadto mutacje w niektórych genach, zaangażowane są w klinicznie różne neuropatie, zarówno czysto aksonalne jak mieszane np. mutacje genów *GDAP1* oraz *NEFL* czy *GJB1*. I w zależności od miejsca mutacji powiązane albo z dziedziczeniem dominującym albo recesywnym np. geny *EGR2* i *GDAP1*. Dodatkowo w ostatnim czasie coraz częściej okazuje się, że mutacje w genach dotychczas opisywanych w innych jednostkach chorobowych, mogą również być zaangażowane w wystąpienie dziedzicznych neuropatii jak w przypadku np. genów: *IGHMBP2* w którym mutacje opisywano pierwotnie w rdzeniowym zaniku mięśni [11], *NAGLU*, którego mutacje recesywne wywołują ciężką dziecięcą postać lizosomalnej choroby spichrzeniowej, natomiast mutacje heterozygotyczne odpowiadają za dziedziczne uwarunkowana neuropatię czuciową. [12] Utrudnia to znacznie diagnostykę dziedzicznych neuropatii ruchowo-czuciowych i stawia nowe pytania dotyczące ich patogenezy.

Neuropatie obwodowe o dziedziczeniu recesywnym

Neuropatie obwodowe o dziedziczeniu recesywnym są najrzadziej występującymi formami chorób kręgu Charcot-Marie-Tooth. Aczkolwiek częstość występowania autosomalnego recesywnego (AR-CMT) oraz autosomalnego dominującego (AD-CMT) nie jest znana, ze względu na brak dokładnych danych epidemiologicznych. I tak w populacji włoskiej odsetek recesywnie dziedziczonych neuropatii szacuje się na około 8 %, co pokrywa się zapewne z większością populacji środkowo europejskich. Natomiast w krajach takich jak Algieria czy Maroko (o dużym odsetku małżeństw krewniaczych) sięga 60-64%. [13] Pewne znaczenie w ocenie możliwej recesywności neuropatii wydają się mieć korelacje genotypowo-fenotypowe. Większość pacjentów z AR-CMT charakteryzuje się bardzo podobnym fenotypem oraz cechami neuropatologicznymi. Jednak opisywanych jest szereg cech fenotypowych charakterystycznych tylko dla niektórych podtypów polineuropatii. Np. u dużej części pacjentów z mutacjami w genie *GDAP1* (CMT4A) występuje porażenie strun głosowych. Należy jednak pamiętać, że zbyt rygorystyczne stosowanie się do opisywanych korelacji genotypowo-fenotypowych może prowadzić do pominięcia części przypadków. Przykładowe, porażenie strun głosowych przypisywane początkowo chorobie CMT4A uznano błędnie za

cechę charakterystyczną choroby, ponieważ jak się okazało w późniejszych badaniach, tylko u części chorych, u których stwierdza się mutacje w genie *GDAP1*, występuje porażenie strun głosowych. Natomiast ogniskowo pofałdowana mielina, jest charakterystyczna dla nielicznych podtypów AR-CMT: CMT4B1 i 2 wywołanych mutacjami genów *MTMR2* oraz *MTMR13*, CMT4F (mutacje genu *PRX*) oraz CMT4A (mutacje genu *GDAP1*). [14]

Należy również pamiętać badając recesywne formy CMT o tym, że w populacji polskiej rzadko kiedy występuje spokrewnienie w rodzinach, a przypadki dwojga, trojga chorych dzieci w polskich rodzinach należą do rzadkości. Z tego powodu większość przypadków pacjentów z neuropatią AR-CMT w populacji polskiej to przypadki opisywane jako sporadyczne.

Prowadzone przez nas badania w populacji polskiej, sugerują, że najczęstszą przyczyną AR-CMT w tej populacji są mutacje genu *GDAP1*. [14 – 20] (**poz. cyklu 1,2 i 4**) Nie można jednak przekładać tych danych na inne populacje, np. w populacji Czeskiej wysoki odsetek stanowią mutacje w genie *SH3TC2* [21], podczas gdy w populacji polskiej zidentyfikowaliśmy zaledwie dwie rodziny z mutacją w powyższym genie.

Po raz pierwszy powiązано locus (8q13-q21) z AR-CMT w 1993 roku [22], ale dopiero w 2002r. opisano pierwsze mutacje w genie *GDAP1* [23,24]. W populacji polskiej pierwszych pacjentów z mutacjami w genie *GDAP1* opisaliśmy w 2005 r. [25]

Większość opisywanych mutacji w genie *GDAP1* ma charakter zmiany sensu i dotyczy wszystkich domen białka GDAP1, a poza nielicznymi przypadkami zmiany w tym genie dotyczą pojedynczych rodzin.

Niemniej jednak okazało się, że niektóre mutacje w genie *GDAP1* wykazują efekt założyciela. Zebrane próbki od chorych z obszaru Polski, Czech, Niemiec, Włoch i Bułgarii, dostarczyły dowodów na występowanie wspólnego przodka dla mutacji Leu239Phe w genie *GDAP1* (**poz 1**) na terenie Europy Środkowej. Wcześniej dane dotyczące efektu założyciela pochodziły z badań populacji Hiszpańskiej i mutacji Gln163STOP [26] oraz Włoskiej (Met116Arg) [27]. Co ciekawe, mutacja Leu239Phe nigdy nie została wykryta u pacjentów pochodzenia latynoskiego lub pacjentów z krajów Maghrebu. Jednak korelację fenotypowo-genotypową mutacji Leu239Phe utrudnia występowanie tej mutacji głównie w złożonej heterozygotcie. O ile mutacja homozygotyczna wydaje się być związana z umiarkowanie ciężkim fenotypem, to mutacje w heterozygotcie złożonej często powodują powstanie ciężkich postaci neuropatii (**poz. cyklu 1**). W większości przypadków uważa się, że mutacje nonsensowne charakteryzują się fenotypem o wczesnym początku występowania i bardzo ciężkim przebiegu oraz wczesnej utracie możliwości samodzielnego poruszania, podczas gdy mutacje typu zmiany sensu opisywano w przypadkach sporadycznych CMT o zmienny przebiegu choroby. [14 – 20] Wreszcie, niektóre

mutacje *GDAP1* są związane z łagodną formą CMT dziedziczną autosomalnie dominująco (**poz. cyklu 4**). Tak więc, podobnie jak inne zaburzenia dziedziczone autosomalnie recesywnie, mutacje nonsensowne w genie *GDAP1* powiązano z ciężkim fenotypem CMT, natomiast mutacje zmiany sensu kojarzą się raczej z łagodniejszym przebiegiem choroby.

Nie jest to jednak zgodne z wynikiem naszych badań, w których mutacja zmiany sensu Gly327Asp w genie *GDAP1* segreguje z ciężkim fenotypem AR-CMT2C. Fenotyp związany z tym wariantem można scharakteryzować jako ciężką neuropatię aksonalną o wczesnym początku, ze znaczną deformacją szkieletu. Mutacja leży w domenie transbłonowej białka GDAP1 i zakłóca kierowanie białka do błony mitochondrialnej. Efekt jest podobny do utraty domeny we wcześniej opisywanych mutacjach typu *nonsense* Gln163STOP i Ser194STOP. Mutacje prowadzące do powstania skróconego białka GDAP1 na C-końcu, powodują zaburzenia zakotwiczenia białka GDAP1 w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, a w konsekwencji prowadzą do zmian dynamiki mitochondriów. [28] Stwierdziliśmy, że utrata lokalizacji mitochondrialnej przez białko GDAP1 niezależnie od typu mutacji, związana jest z ciężkim przebiegiem choroby. Nasze badanie pokazuje ponadto, że objawy kliniczne choroby CMT spowodowane mutacjami w genie *GDAP1*, nie mogą być przewidywane wyłącznie na podstawie wyników genetycznych (mutacje zmiany sensu/nonsensowne). (**poz. cyklu 2**)

Mutacje w genie *GDAP1*, to nie tylko neuropatie o dziedziczeniu recesywnym, opisano ostatnio szereg mutacji w tym genie związanych z dziedziczeniem autosomalnym dominującym o łagodnym przebiegu (CMT2K). [29] O ile choroba CMT4A charakteryzuje się wczesnym początkiem i ciężkim przebiegiem klinicznym, prowadząc często do utraty zdolności samodzielnego poruszania, o tyle choroba CMT2K charakteryzuje się łagodnym przebiegiem klinicznym, o początku pierwszych objawów nawet w szóstej dekadzie życia. (**poz. cyklu 4**)

Do jednych z ciekawszych przypadków należą dwie rodziny CMT w których nowo zidentyfikowana mutacja Glu222Lys w obrębie genu *GDAP1* dziedziczy się zarówno autosomalnie dominująco jak i recesywnie (w złożonej heterozygocie). A zatem, poradnictwo genetyczne dla rodzin CMT4A/CMT2K wymaga bardziej obszernych danych dotyczących korelacji fenotyp-genotyp. (**poz. cyklu 4**) Co ciekawe, w naszym badaniu wykryliśmy nową mutację Glu222Asp w kilku konfiguracjach: (i) heterozygotyczna mutacja u 70-letniej klinicznie bezobjawowej kobiety z łagodnymi nieprawidłowościami ENG, których nabyte pochodzenie jest trudne do wykluczenia, (ii) heterozygotyczna mutacja dominująca u 74-letniego pacjenta z 4-letnią historią choroby i ewidentnymi nieprawidłowościami elektrofizjologicznymi, (iii) u 40-letniej kobiety z fenotypem CMT ograniczonym do utraty

odruchów skokowych i (iv) u dwóch pacjentów razem z heterozygotyczną mutacją recesywną Leu239Phe, manifestująca się jako ciężka postać choroby CMT.

Nasze badanie pokazuje, że przynajmniej dla niektórych mutacji genu *GDAP1*, sposób dziedziczenia, nie powinien być ustalany na podstawie danych dla pojedynczej rodziny. Biorąc pod uwagę zmniejszoną penetrację mutacji Glu222Asp obserwowanej u pacjentów z wariantem w heterozygotycie (w rodzinie B), ciężki fenotyp u pacjentów z mutacjami Leu239Phe/Glu222Asp (w rodzinie A) jest zaskakujący. W rzeczywistości, nasze badanie potwierdza, że efektu końcowego dwóch mutacji nie można przewidzieć jako sumy dwóch różnych zmian w genie tj. silnej i słabej mutacji. (poz. cyklu 4)

Dziedziczne neuropatie czuciowe i autonomiczne HSAN

Z wszystkich rodzajów polineuropatii, neuropatie czysto czuciowe są chyba najrzadziej spotykanymi formami polineuropatii dziedzicznie uwarunkowanych. [30]

Dziedziczne neuropatie czuciowe i autonomiczne (HSAN) stanowią heterogenną grupę powoli postępujących zaburzeń neurologicznych charakteryzujących się postępującą utratą funkcji, która dotyczy głównie obwodowych nerwów czuciowych. Powoduje zniesienie lub osłabienie głębokich odruchów ścięgniastych, dystalną utratę czucia, zaburzone zdolności odczuwania bólu i temperatury oraz przewlekłe owrzodzenia stóp i rąk, którym mogą towarzyszyć auto amputacje dystalnych części kończyn.. Zaburzenia autonomiczne pojawiają się jako omdlenia, refluks żołądkowo-przelykowy, niedotlenienie, zaparcia i zaburzenia rytmu serca. Mogą również występować zaburzenia ruchowe oraz niedosłuch Degeneracji neuronów ruchowych, często towarzyszy zanik i osłabienie dystalnych mięśni kończyn. Początek choroby ma miejsce zarówno w wieku młodzieńczym jak i wieku dorosłym. Postęp jest zwykle powolny, a ciężkość przebiegu choroby może różnić się nawet w obrębie jednej rodziny. Badania ENG w HSAN wykazują przede wszystkim obecność neuropatii aksonalnej, z przewagą objawów w kończynach dolnych. Częstość występowania HSAN oszacowano na około 1 na 25000. Mutacje opisywane są najczęściej w genach *SPTLC1*, *NTRK1* i *RAB7*. [30,31]

Obecnie znanych jest 9 podtypów neuropatii czuciowych o dziedziczeniu autosomalnie recesywnym. Część z nich zdiagnozowano również u pacjentów w populacji polskiej. W naszych badaniach udało się zdiagnozować pacjentów z mutacjami w genie *WNKI/HSAN* oraz genie *NTRK1*.

Dziedziczna neuropatia czuciowa i autonomiczna typu 2 to rzadkie zaburzenie spowodowane dziedziczonymi się recesywnie mutacjami w genie *WNKI* zlokalizowanym na chromosomie 12p13.33. Fenotyp pacjentów charakteryzuje się ciężką utratą czucia, co wpływa na wszystkie

modalności sensoryczne. Prowadząc nasze badania opisaliśmy pierwszą polską rodzinę (oraz pierwszą rodzinę z Europy Wschodniej) z nowym homozygotycznym wariantem Lys965fsX968 w genie *WNK1*. Zmiana spowodowała wystąpienie ciężkiej neuropatii czuciowej we wczesnym dzieciństwie, ze zmianami troficznymi kończyn górnych i dolnych oraz dysfunkcją autonomiczną. **(poz. cyklu 3)**

Neuropatia w zespołach chorobowych

Dziedziczne neuropatie obwodowe mogą występować jako „czysta” neuropatia lub jako część bardziej złożonych zaburzeń neurologicznych lub wieloukładowych.

W przypadku tzw. „czystych neuropatii jak HMSN, HSAN czy HMN (dziedziczna neuropatia ruchowa), diagnoza jest prostsza do postawienia, jakkolwiek dokładne określenie przyczyny genetycznej nawet z użyciem najnowszych technologii jak WES była bardzo trudne. Ale w przypadku złożonych zespołów, gdzie neuropatia jest częścią obrazu klinicznego, diagnoza jest znacznie trudniejsza.

Neuropatia towarzyszy częstą zespołom związanym z ataksją, spastycznością i ogólnym zaburzeniem neurorozwojowym. Wymienić tu można ponad 70 genów, których mutacje zaangażowane są w ujawnienie się złożonych zaburzeń neurologicznych lub chorób wieloukładowych, których jedną z cech jest neuropatia. [32]

Jednym z takich zespołów jest Zespół micro-Warburga z neuropatią i kardiomiopatią (WARBM1). Chorobę powodują mutacje w genie *RAB3GAP1*. Dziedziczy się w sposób autosomalnie recesywny. Na poziomie klinicznym WARBM charakteryzuje się mikrocefalią, małowoczem, małą rogówką, wrodzoną zaćmą, hipoplazją ciała modzelowatego, ciężkim upośledzeniem umysłowym i hipogonadyzmem. W niektórych rodzinach występują dodatkowe cechy kliniczne jak neuropatia obwodowa czy kardiomiopatia. **(poz. cyklu 5)**

Korzystając z sekwencjonowania nowej generacji (NGS), byliśmy w stanie zdiagnozować Zespół WARBM1 przez wykrycie nowej mutacji w genie *RAB3GAP1*. Ponadto wykryliśmy warianty, które mogą być odpowiedzialne za kardiomiopatię. Nie zidentyfikowaliśmy żadnych oczywistych patogennych mutacji w obrębie genów, o których wiadomo, że są odpowiedzialne za dziedziczną neuropatię ruchowo-czuciową (HMSN). Co sugeruje, że albo niektóre mutacje genu *RAB3GAP1* są odpowiedzialne również za wystąpienie objawów neuropatii, albo zmiana odpowiedzialna za wystąpienie neuropatii u pacjenta jest w genie nie powiązanym dotychczas z neuropatią, lub w rejonie nie badanym sekwencjonowaniem eksomowym.

Ponadto stwierdziliśmy, że: (i) w objawach klinicznych, klasyczne podejście zorientowane na jeden gen może nie być rozstrzygające, zwłaszcza w przypadku rzadkich cech klinicznych, (ii)

neuropatia obwodowa i kardiomiopatia są rzadkimi objawami dodatkowymi współwystępującymi z WARBM1, (iii) plejotropowy efekt pojedynczej mutacji punktowej jest wystarczający, aby być przyczyną WARBM1. Jednak aby określić dokładny fenotyp pacjentów z WARBM1 oraz ewentualny wpływ wariantów w innych genach, na wystąpienie dodatkowych cech fenotypowych, należałoby przebadać większą grupę pacjentów za pomocą sekwencjonowania eksomowego. Do tej pory pacjentów z podejrzeniem WARBM1 analizowano badając pojedyncze geny. Biorąc jednak pod uwagę, iż neuropatia w przypadku pacjentów z WARBM1, nie jest w tym przypadku objawem izolowanym, ale opisywana już była wcześniej w tej grupie chorych., oraz fakt iż w badaniu WES nie zidentyfikowano wariantów w innych genach, które mogłyby być odpowiedzialne za wystąpienie neuropatii, wydaje się uzasadnione stwierdzenie, że mutacje genu *RAB3GAP1* są przyczyną neuropatii w tym przypadku. **(poz. cyklu 5)** Powyższe badanie wykazało jak skutecznym narzędziem może być sekwencjonowanie eksomowe w przypadku niespecyficznych objawów wielu zaburzeń. Jak również rozstrzygnąć w wielu przypadkach, czy złożone zaburzenia wieloukładowe są wynikiem choroby monogenowej czy też tak naprawdę oligogenowej. W aktualnie prowadzonych badaniach u chorych z genetycznie uwarukowanymi neuropatiami, w kilku przypadkach stwierdziliśmy dodatkowe mutacje patogenne w innych genach neuropatii (dane nie publikowane), co zmienia w niektórych przypadkach nasz pogląd na nietypowe fenotypowo dziedziczne neuropatie. Między innymi w przypadku nietypowo ciężkiego przebiegu neuropatii z homozygotyczną mutacją w genie *GDAP1*, dodatkowo zidentyfikowaliśmy zmianę w innym genie neuropatii. W kolejnej rodzinie stwierdziliśmy nakładanie się neuropatii CMT1A (duplikacja regionu z genem *PMP22*) oraz neuropatii ruchowej z mutacją w genie *BSCL2* (dane nie publikowane). Ponadto nakładanie się różnych chorób, jak w przypadku rodziny z SMA (rdzeniowy zanik mięśni) oraz CMT1A [33], znacznie komplikuje poradnictwo genetyczne w takich rodzinach. Ponieważ fenotyp choroby jest w tym przypadku związany nie z jedną lecz dwoma jednostkami chorobowymi. Do tej pory gdy nie dysponowaliśmy technikami takimi jak WES, nie mieliśmy możliwości określenia, w jak wielu przypadkach jednostek chorobowych, którym towarzyszą nie typowe objawy dodatkowe, zmienny fenotyp jest efektem nałożenia się wariantów patogennych w innych genach. Nowe technologie mogą zupełnie zmienić naszą ocenę i korelacje genotyp-fenotyp, nie tylko w przypadku dziedzicznych neuropatii obwodowych.

Podsumowanie

Przedstawione powyżej wyniki badań pokazały, jak skomplikowanym obszarem do analizy pozostają dziedziczne polineuropatie, szczególnie tak rzadkie jak neuropatie o dziedziczeniu recesywnym. Pozwoliły na określenie genu, najczęściej zaangażowanego w wystąpienie recesywnych neuropatii w populacji polskiej. Stanowią one również wstęp do prowadzonych obecnie badań nad białkiem GDAP1. Pozwoliły na zdiagnozowanie niezwykle rzadkich przypadków neuropatii czuciowej oraz neuropatii w zespole wieloukładowym. Wraz z prowadzonymi badaniami innych genów neuropatii o dziedziczeniu recesywnym, pozwoliły na wypracowanie drogi diagnostycznej u pacjentów z tymi neuropatiami w populacji polskiej. A prowadzone badania sekwencjonowania eksomowego, dały nam informacje o możliwej oligogenowości niektórych przypadków neuropatii i zmieniły nasz pogląd na dotychczasowe wyniki badań w przypadku dodatkowych, niecharakterystycznych cech fenotypowych.

Mimo dotychczasowych badań prowadzonych na całym świecie wciąż jeszcze niewiele wiadomo o przyczynach, przebiegu naturalnym, rokowaniu, epidemiologii, patogenezie, diagnostyce, nie wspominając o leczeniu neuropatii o dziedziczeniu recesywnym.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych.

Po podjęciu pracy w Zespole Nerwowo-Mięśniowym IMDiK PAN zaczęłam się zajmować problematyką chorób nerwowo-mięśniowych, na której od lat koncentrował się ówczesny kierownik Zespołu Pani Prof. Irena Hausmanowa-Petrusewicz. W tamtych latach nasz ośrodek był jedynym w Polsce, który zajmował się tą tematyką. Początkowo zaangażowałam się w badania molekularne w dystrofii twarzoło-łopatkowo-ramieniowej (FSHD), związane z badaniem delecji w chromosomie 4 (region 4q35). Wraz z (dr hab. Małgorzatą Dorobek) wprowadziłam nowe techniki do laboratorium: jak Southern blot, znakowanie sond oraz PCR. Efektem tych badań były prace 34-36.

Równolegle zaczęłam prowadzić badania nad genetyką dziedzicznych neuropatii ruchowo-czuciowych. Pierwsze badania molekularne chorób kręgu Charcot-Marie-Tooth w Polsce zapoczątkowane zostały w 1997 r. przez Prof. Andrzeja Kochańskiego (obecnego Kierownika Zespołu Nerwowo-Mięśniowego). Wprowadził on w Polsce pierwszą diagnostykę genetyczną duplikacji 1,5 Mb regionu 17p11-p12, w którym zlokalizowany jest gen *PMP22*. Badania sugerujące sprzężenie z locus na krótkim ramieniu chromosomu 17 z dziedziczną neuropatią pochodzą z 1989 roku [37], a w 1990 opisano sprzężenie choroby CMT1A z regionem 17p11.2-p12 [38]. Dwa lata później w zmapowanym regionie opisano lokalizację genu *PMP22*. [39]

Wiedza dotycząca genetyki dziedzicznych neuropatii ruchowo-czuciowych na początku lat 2000, była nie wielka i ograniczała się do znajomości trzech genów zaangażowanych w powstanie CMT. Zaczynałam zatem od diagnostyki duplikacji (CMT1A) oraz delecji (HNPP) regionu 17p11-p12, oraz brałam udział we wprowadzaniu badań genów *PMP22*, *MPZ* oraz *GJB1*. Efektem pierwszych prac jest cały cykl publikacji 40-47.

Następnie zaangażowałam się w pierwsze badania nad chorobami kręgu Charco-Marie-Tooth o dziedziczeniu recesywnym (AR-CMT). W przypadku neuropatii AR-CMT podobnie zresztą jak w przypadku innych neuropatii, nie istniały ówczas żadne dane populacyjne, epidemiologiczne, nie było precyzyjnych opisów fenotypów poszczególnych podtypów. Skłoniło mnie to do podjęcia badań nad podłożem molekularnym neuropatii AR-CMT w populacji polskiej, co stało się tematem mojej pracy doktorskiej. Skutkując powstaniem szeregu prac opisujących genetykę oraz klinikę pacjentów z AR-CMT i mutacjach w genach *GDAP1*, *PRX*. [14, 16, 17, 48]

Przez następne lata po doktoracie, aż do dnia obecnego cały czas zajmuję się tematyką dziedzicznych neuropatii recesywnych, wiele pracy poświęcając badaniu genu *GDAP1*, nie tylko zajmując się aspektem genetycznym lecz również jego biologią, co złożyło się wraz z badaniami innych genów na cykl prac włączonych do habilitacji. (poz. cyklu 1-5)

W międzyczasie nadal kontynuowałam prace nad szerokim spektrum dziedzicznych neuropatii, wprowadzając do badań kolejne geny, opracowując nową metodykę i wprowadzając nowe techniki badawcze. Badania rozszerzyłam również na zagadnienie neuropatii czysto czuciowych oraz czysto ruchowych.

Pomimo iż główną osią mojego zainteresowania cały czas pozostają dziedziczne neuropatie, to prowadziłam, także badania w dystrofiach obręczowo-łopatkowych, jak również w badaniach mitochondrialnego DNA.

W ostatnich latach rozwój zaawansowanych technologii sekwencjonowania, wszedł również do naszych badań. Wykorzystując sekwencjonowanie eksomowe nowej generacji, staramy się rozwikłać nie tylko nietypowe przypadki neuropatii oraz zespołów z neuropatią, ale również określić różnice tła genetycznego w kontekście różnic fenotypowych u pacjentów z już znanymi mutacjami w pojedynczym genie. Dzięki temu zdiagnozowaliśmy przypadki neuropatii, wywołane mutacjami w genach, które do tej pory nie były specjalnie wiązane z neuropatiami (dane w druku), oraz zespoły z neuropatią. Pozwoliło nam, to również na rozpoznanie oligogenowego charakteru neuropatii, u niektórych z naszych pacjentów.

Obecnie jestem współwykonawcą projektu dotyczącego patomechanizmu choroby Charcot-Marie-Tooth typu 4A i genu *GDAP1*, gdzie koncentrujemy się na badaniach podstawowych, związanych z biologią i funkcją tego m.in. prowadząc badania w liniach komórkowych.

W trakcie pracy w Instytucie przyznano mi jeden grant na prowadzenie badań, w którym byłam kierownikiem. W siedmiu kolejnych byłam wykonawcą. Efektem mojej pracy naukowej w IMDiK PAN jest 40 publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej o łącznym IF = 108,545 oraz 13 prac w czasopismach bez IF. Oraz 60 doniesień zjazdowych prezentowanych z krajowych i zagranicznych sympozjach naukowych.

Literatura

1. Rinaldi R, Patel A. Inherited polyneuropathies. *PM R.* 2013 May;5(5Suppl):S63-73. Tazir M, Hamadouche T, Nouioua S, Mathis S, Vallat JM. Hereditary motor and sensory neuropathies or Charcot-Marie-Tooth diseases: an update. *J Neurol Sci.* 2014;347:14-22.
2. Barreto LC, Oliveira FS, Nunes PS, de França Costa IM, Garcez CA, Goes GM, Neves EL, de Souza Siqueira Quintans J, de Souza Araújo AA. Epidemiologic Study of Charcot-Marie-Tooth Disease: A Systematic Review. *Neuroepidemiology.* 2016;46(3):157-65.
3. Pareyson D, Saveri P, Pisciotta C. New developments in Charcot-Marie-Tooth neuropathy and related diseases. *Curr Opin Neurol.* 2017 Oct;30(5):471-480
4. Reilly MM, Murphy SM, Laurá M. Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst.* 2011 Mar;16(1):1-14.
5. Saporta MA, Shy ME. Inherited peripheral neuropathies. *Neurol Clin.* 2013 May;31(2):597-619.
6. Weis J, Claeys KG, Roos A, Azzedine H, Katona I, Schröder JM, Senderek J. Towards a functional pathology of hereditary neuropathies. *Acta Neuropathol.* 2017 Apr;133(4):493-515.
7. Dohrn MF, Glöckle N, Mulahasanovic L i wsp. Frequent genes in rare diseases: panel-based next generation sequencing to disclose causal mutations in hereditary neuropathies. *J Neurochem.* 2017 Dec;143(5):507-522.
8. van Paassen BW, van der Kooi AJ, van Spaendonck-Zwarts KY i wsp. PMP22 related neuropathies: Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies. *Orphanet J Rare Dis.* 2014; 9:38.
9. El-Abassi R, England JD, Carter GT. Charcot-Marie-Tooth disease: an overview of genotypes, phenotypes, and clinical management strategies. *PM R.* 2014; 6:342-55.
10. Ekins S, Litterman NK, Arnold RJ i wsp. A brief review of recent Charcot-Marie-Tooth research and priorities. *F1000Res.* 2015;4:53.
11. Cottenie E, Kochanski A, Jordanova A, i wsp. Truncating and missense mutations in *IGHMBP2* cause Charcot-Marie Tooth disease type 2. *Am J Hum Genet.* 2014 Nov 6;95(5):590-601.

12. Rossor AM, Tomaselli PJ, Reilly MM. Recent advances in the genetic neuropathies. *Curr Opin Neurol*. 2016 Oct;29(5):537-48.
13. Kabzińska D, Hausmanowa-Petrusewicz I, Kochanski A. Charcot-Marie-Tooth disorders with an autosomal recessive mode of inheritance. *Clin Neuropathol*. 2008 Jan-Feb;27(1):1-12.
14. Kabzińska D, Kochański A, Drac H, i wsp.. Autosomal recessive axonal form of Charcot-Marie-Tooth Disease caused by compound heterozygous 3'-splice site and Ser130Cys mutation in the *GDAP1* gene. *Neuropediatrics*. 2005 Jun;36(3):206-9.
15. Kabzińska D, Saifi GM, Drac H, i wsp. Charcot-Marie-Tooth disease type 4C4 caused by a novel Pro153Leu substitution in the *GDAP1* gene. *Acta Myol*. 2007 Oct;26(2):108-11.
16. Kabzińska D, Drac H, Rowinska-Marcinska K, i wsp. Early onset Charcot-Marie-Tooth disease caused by a homozygous Leu239Phe mutation in the *GDAP1* gene. *Acta Myol*. 2006 Jun;25(1):34-7.
17. Kabzińska D, Kochański A, Drac H, i wsp. A novel Met116Thr mutation in the *GDAP1* gene in a Polish family with the axonal recessive Charcot-Marie-Tooth type 4 disease. *J Neurol Sci*. 2006 Feb 15;241(1-2):7-11.
18. Kabzińska D, Niemann A, Drac H, i wsp. A new missense *GDAP1* mutation disturbing targeting to the mitochondrial membrane causes a severe form of AR-CMT2C disease. *Neurogenetics*. 2011 May;12(2):145-53. (poz 2)
19. Kabzińska D, Kotruchow K, Cegielska J, i wsp. A severe recessive and a mild dominant form of Charcot-Marie-Tooth disease associated with a newly identified Glu222Lys *GDAP1* gene mutation. *Acta Biochim Pol*. 2014;61(4):739-44. (poz 4)
20. Kabzińska D, Strugalska-Cynowska H, Kostera-Pruszczyk A, i wsp. L239F founder mutation in *GDAP1* is associated with a mild Charcot-Marie-Tooth type 4C4 (CMT4C4) phenotype. *Neurogenetics*. 2010 Jul;11(3):357-66. (poz 6)
21. Laššuthová P, Mazanec R, Vondráček P, i wsp. High frequency of SH3TC2 mutations in Czech HMSN I patients. *Clin Genet*. 2011 Oct;80(4):334-45.
22. Ben Othmane K, Hentati F, Lennon F, i wsp. Linkage of a locus (CMT4A) for autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease to chromosome 8q. *Hum Mol Genet*. 1993 Oct;2(10):1625-8.
23. Baxter RV, Ben Othmane K, Rochelle JM, i wsp. Ganglioside-induced differentiation-associated protein-1 is mutant in Charcot-Marie-Tooth disease type 4A/8q21. *Nat Genet*. 2002 Jan;30(1):21-2.
24. Cuesta A, Pedrola L, Sevilla T, García-Planells J, i wsp. The gene encoding ganglioside-induced differentiation-associated protein 1 is mutated in axonal Charcot-Marie-Tooth type 4A disease. *Nat Genet*. 2002 Jan;30(1):22-5.
25. Kabzińska D, Kochański A, Drac H, i wsp. Autosomal recessive axonal form of Charcot-Marie-Tooth Disease caused by compound heterozygous 3'-splice site and Ser130Cys mutation in the *GDAP1* gene. *Neuropediatrics*. 2005 Jun;36(3):206-9.
26. Boerkoel CF, Takashima H, Nakagawa M, i wsp. CMT4A: identification of a Hispanic *GDAP1* founder mutation. *Ann Neurol*. 2003 Mar;53(3):400-5.

27. Di Maria E, Gulli R, Balestra P, i wsp. A novel mutation of GDAP1 associated with Charcot-Marie-Tooth disease in three Italian families: evidence for a founder effect. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004 Oct;75(10):1495-8.
28. Niemann A, Ruegg M, La Padula V, Schenone A, Suter U. Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J Cell Biol*. 2005 Sep 26;170(7):1067-78.
29. Zimoń M, Baets J, Fabrizi GM, i wsp. Dominant GDAP1 mutations cause predominantly mild CMT phenotypes. *Neurology*. 2011 Aug 9;77(6):540-8.
30. Mroczek M, Kabzińska D, Kochański A. Molecular pathogenesis, experimental therapy and genetic counseling in hereditary sensory neuropathies. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2015;75(2):126-43. Review.
31. Auer-Grumbach M. Hereditary sensory and autonomic neuropathies. *Handb Clin Neurol*. 2013;115:893-906.
32. Rossor AM, Carr AS, Devine H, i wsp. Peripheral neuropathy in complex inherited diseases: an approach to diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017 Oct;88(10):846-863.
33. Jedrzejowska M, Ryniewicz B, Kabzińska D, i wsp. A patient with both Charcot-Marie-Tooth disease (CMT 1A) and mild spinal muscular atrophy (SMA 3). *Neuromuscul Disord*. 2008 Apr;18(4):339-41.
34. Dorobek M, Kabzinska D. A severe case of facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) with some uncommon clinical features and a short 4q35 fragment. *Eur J Paediatr Neurol*. 2004;8(6):313-6.
35. Dorobek M, Kabzinska D, Ryniewicz B, Fidzianska-Dolot A, Hausmanowa-Petrusewicz I. [Genetic investigations in facioscapulohumeral muscular dystrophy: a preliminary report] *Neurol Neurochir Pol*. 2004 Mar-Apr;38(2):83-8.
36. Dorobek M, van der Maarel SM, Lemmers RJ, Ryniewicz B, **Kabzińska D**, Frants RR, Gawel M, Walecki J, Hausmanowa-Petrusewicz I. Early-onset facioscapulohumeral muscular dystrophy type 1 with some atypical features. *J Child Neurol*. 2015 Apr;30(5):580-7.
37. Raeymaekers P, Timmerman V, De Jonghe P, Swerts L, Gheuens J, Martin JJ, Muylle L, De Winter G, Vandenberghe A, Van Broeckhoven C. Localization of the mutation in an extended family with Charcot-Marie-Tooth neuropathy (HMSN I). *Am J Hum Genet*. 1989 Dec;45(6):953-8.
38. Timmerman V, Raeymaekers P, De Jonghe P, De Winter G, Swerts L, Jacobs K, Gheuens J, Martin JJ, Vandenberghe A, Van Broeckhoven C. Assignment of the Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1 (CMT 1a) gene to 17p11.2-p12. *Am J Hum Genet*. 1990 Oct;47(4):680-5.
39. Takahashi E, Takeda O, Himoro M, Nanao K, Takada G, Hayasaka K. Localization of PMP-22 gene (candidate gene for the Charcot-Marie-Tooth disease 1A) to band 17p11.2 by direct R-banding fluorescence in situ hybridization. *Jpn J Hum Genet*. 1992 Dec;37(4):303-6.
40. Kochanski A, Ryniewicz B, Jedrzejowska H, Kabzinska D. [Charcot-Marie Tooth type X (CMTX) disease: clinical and genetic characteristics of eleven patients] *Neurol Neurochir Pol*. 2002 Nov-Dec;36(6):1087-94.

41. Kochanski A, Kabzinska D. Molecular genetic analysis of the *GJB1* gene: a study of six mutations. *J Appl Genet.* 2004;45(1):95-100.
42. Kochanski A, Kabzinska D, Drac H, Ryniewicz B, Rowinska-Marcinska K, Hausmanowa-Petrusewicz I. Early onset Charcot-Marie-Tooth type 1B disease caused by a novel Leu190fs mutation in the myelin protein zero gene. *Eur J Paediatr Neurol.* 2004;8(4):221-4.
43. Kochanski A, Kabzinska D. De novo Ser72Leu mutation in the peripheral myelin protein 22 in two Polish patients with a severe form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Acta Biochim Pol.* 2004;51(4):1047-50
44. Kochanski A, Drac H, Kabzinska D, Ryniewicz B, Rowinska-Marcinska K, Nowakowski A, Hausmanowa-Petrusewicz I. A novel *MPZ* gene mutation in congenital neuropathy with hypomyelination. *Neurology.* 2004 Jun 8;62(11):2122-3.
45. Kochanski A, Drac H, Kabzinska D, Hausmanowa-Petrusewicz I. A novel mutation, Thr65Ala, in the *MPZ* gene in a patient with Charcot-Marie-Tooth type 1B disease with focally folded myelin. *Neuromuscul Disord.* 2004 Mar;14(3):229-32.
46. Kochanski A, Kabzinska D, Nowakowski A, Drac H, Hausmanowa-Petrusewicz I. An axonal form of Charcot-Marie-Tooth disease with a novel missense mutation in the myelin protein zero gene. *J Peripher Nerv Syst.* 2004 Mar;9(1):1-2.
47. Kochanski A, Nowakowski A, Kawulak M, Kabzinska D, Hausmanowa-Petrusewicz I. Somatic mosaicism in Charcot-Marie-Tooth type X disease. *Neurology.* 2004 Jan 27;62(2):336-7.
48. Kabzinska D, Drac H, Sherman DL, Kostera-Pruszczyk A, Brophy PJ, Kochanski A, Hausmanowa-Petrusewicz I. Charcot-Marie-Tooth type 4F disease caused by S399fsx410 mutation in the *PRX* gene. *Neurology.* 2006 Mar 14;66(5):745-7.

J. Kabzinska