



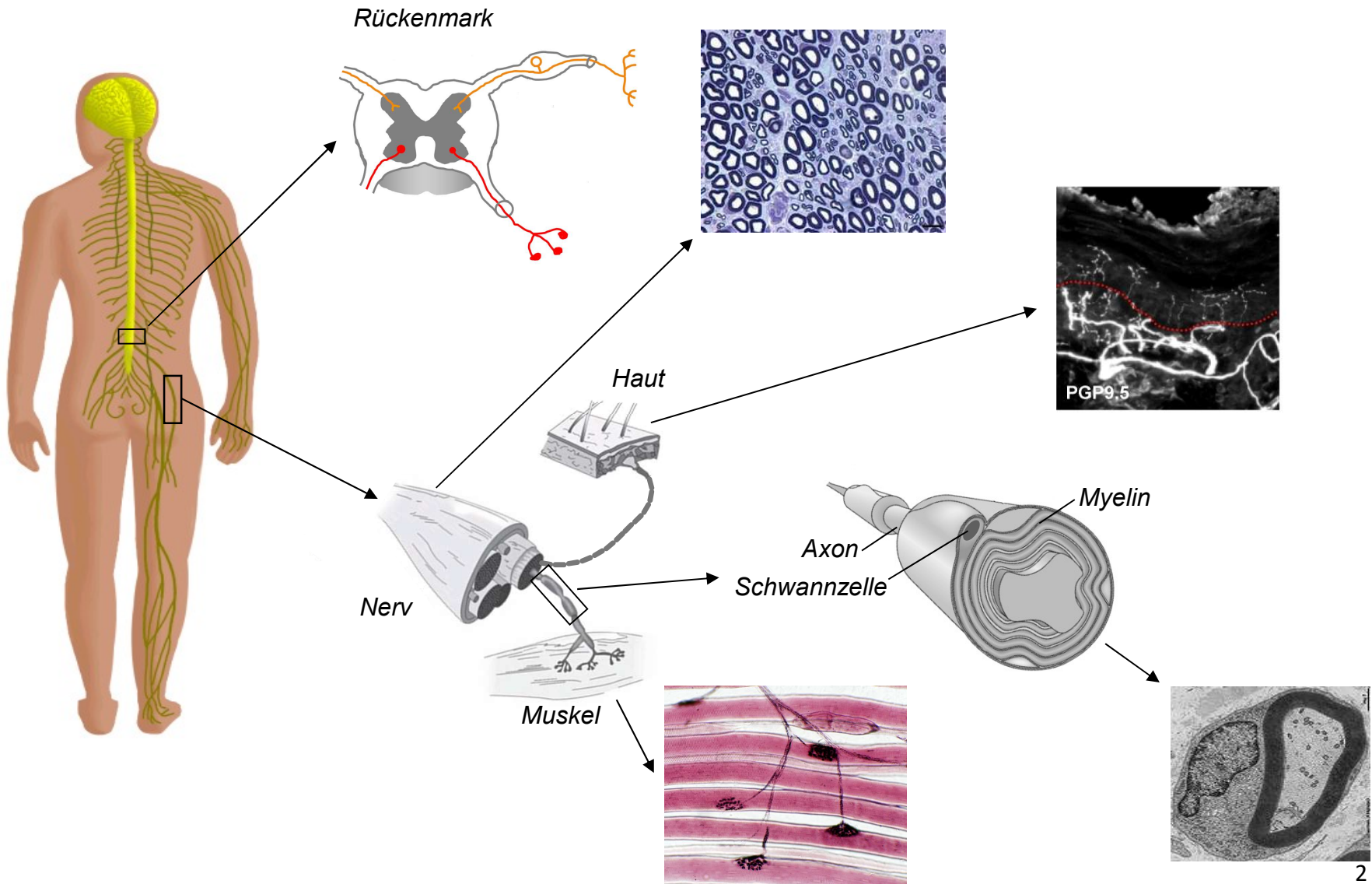
# Humangenetische Diagnostik und die Suche nach neuen Krankheitsgenen für CMT

Tagung der Diagnosegruppe CMT / HMSN in der DGM,  
Hessen Hotelpark Hohenroda, 27. – 29.08.2021

**Jan Senderek**

Friedrich-Baur-Institut, LMU München

# Peripheres Nervensystem



# Periphere Neuropathien

---

## Funktionsstörungen der Nerven, die

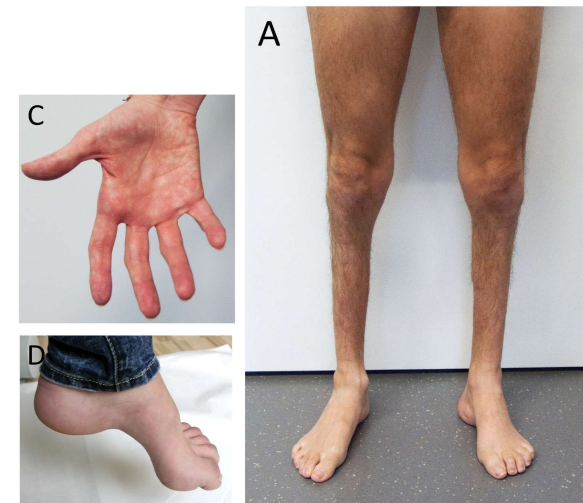
- Informationen aus der Peripherie zum Rückenmark und
- Bewegungsimpulse vom Rückenmark zur Muskulatur leiten

## Hauptsymptomatik

- Muskelschwäche und -atrophie (distal betont)
- Sensible Ausfälle (distal betont)
- Gangstörung (Steppergang)
- Ggf. autonome Funktionsstörungen

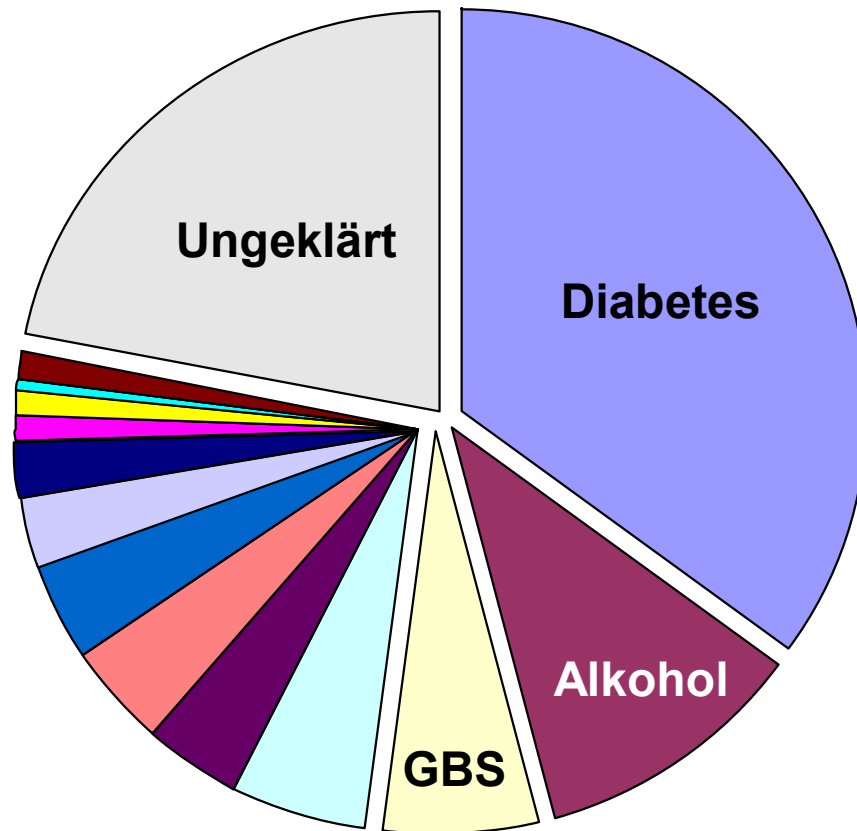
## Prävalenz

- 2-8% der Bevölkerung  
(altersabhängig)



[www.diabetes-ratgeber.net](http://www.diabetes-ratgeber.net) [www.neuromuscular.wustl.edu](http://www.neuromuscular.wustl.edu)

# Periphere Neuropathien: Ursachen

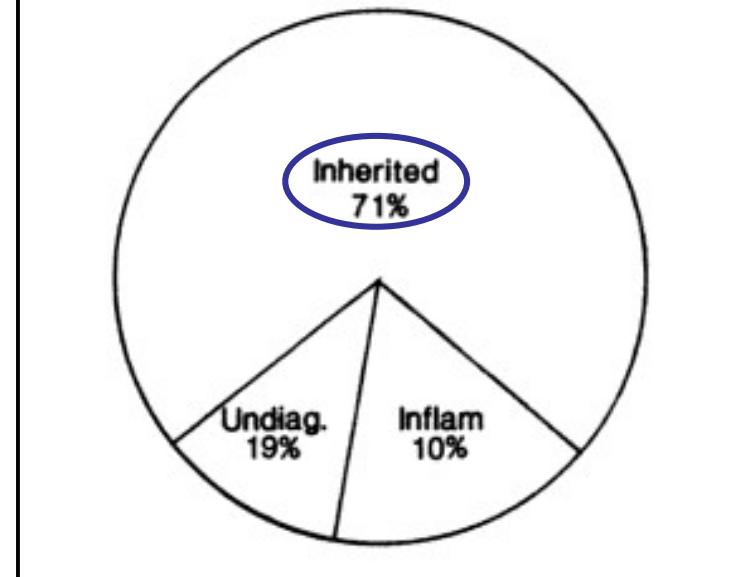


## Erbliche Neuropathien:

Prävalenz bis zu 1:2.500

30.000 Patienten in Deutschland

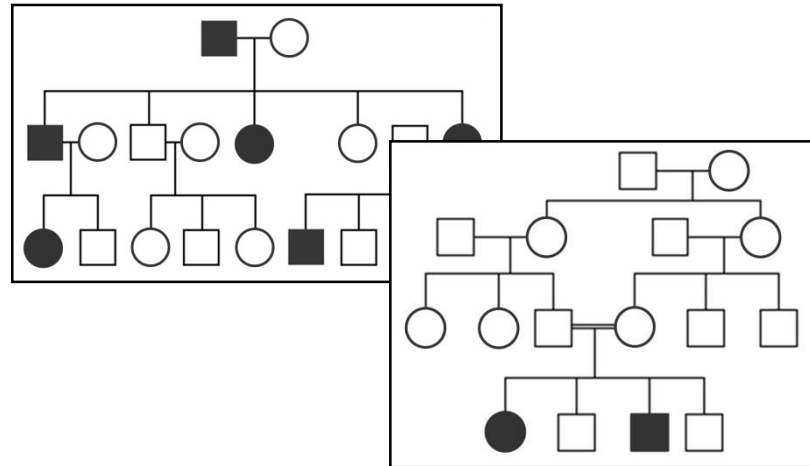
## Neuropathien bei Kindern



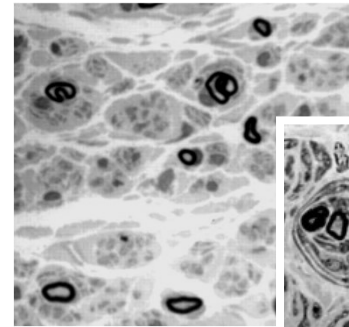
Ouvrier, Peripheral Neuropathy in Childhood, 1999

# Erbliche Neuropathien: Klassifikation

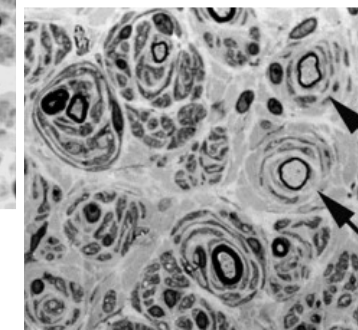
## Vererbungsmuster



## PNS-Läsionsmuster



axonal

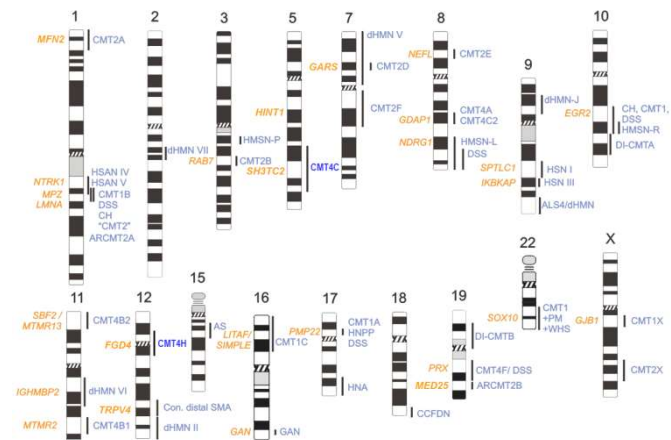


demyelinisierend

## Klinische Befunde



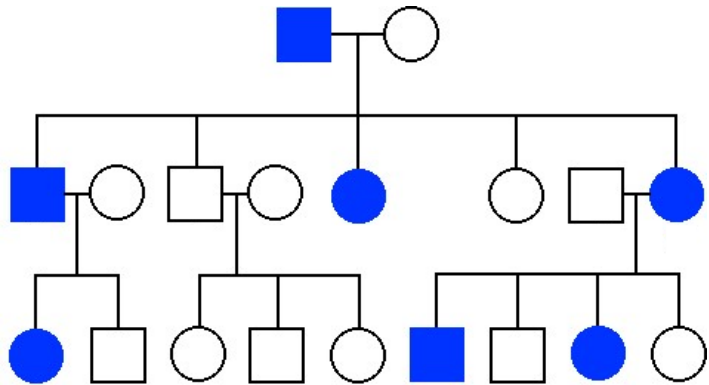
## Genorte und Gene



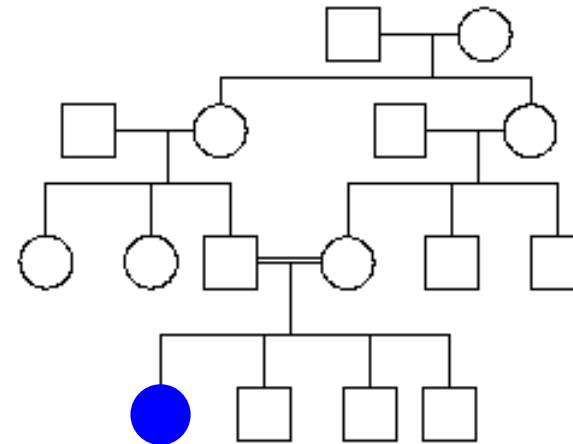
# Erbliche Neuropathien: Vererbungsmuster

---

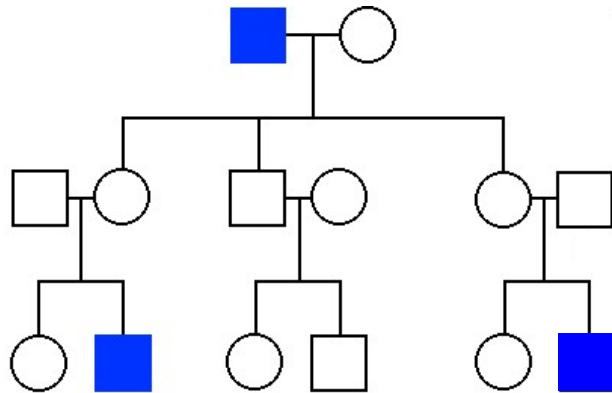
Autosomal dominant



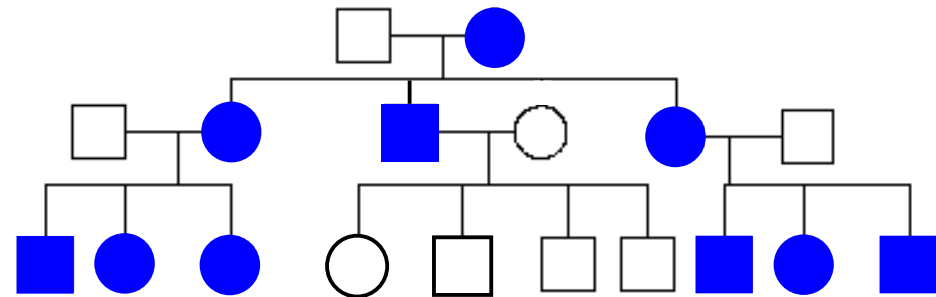
Autosomal rezessiv



X-chromosomal



Mitochondrial



# Nicht-syndromale erbliche Neuropathien

HMSN / CMT

HMN / dSMA

HSAN

Fokale Neuropathien

## Hereditäre motorische und sensible Neuropathie (HMSN) Charcot-Marie-Tooth Neuropathie (CMT)

### Prävalenz:

- Häufigste erbliche Neuropathie

### Klinisches Bild:

- Beginn meist im Kindes- oder Jugendalter
- Verlauf meist langsam progredient
- Symmetrisch, distal betont:
  - Muskelatrophie und -schwäche
  - Fußdeformitäten
  - Muskeleigenreflexe erloschen
  - Sensible Defizite

### Neurophysiologie / Nervenbiopsie:

- CMT1 (HMSN I): „demyelinisierend“
- CMT2 (HMSN II): „axonal“
- Intermediäre / gemischte Formen



<https://neuromuscular.wustl.edu>

### Genetik:

- Verschiedene Erbgänge
- > 80 bekannte Gene

# Nicht-syndromale erbliche Neuropathien

HMSN / CMT

HMN / dSMA

HSAN

Fokale Neuropathien

## Hereditäre motorische Neuropathie Distale spinale Muskelatrophie

- Distale Muskelatrophie und -schwäche
- Kein sensibles Defizit
- Beginn: Geburt bis Erwachsenenalter
- Vererbung: meist autosomal dominant
- Molekulargenetik heterogen
- Überschneidung mit HMSN II (klinisch u. genetisch)
- Unterformen mit deutlicher Handmuskelatrophie, Stimmband- oder Zwerchfellähmung, Kontrakturen





# Nicht-syndromale erbliche Neuropathien

HMSN / CMT

HMN / dSMA

HSAN

Fokale Neuropathien

## Hereditäre sensible und autonome Neuropathie

- Sehr selten
- Sensible Ataxie, Störung des Lagesinns; gestörtes Schmerz- und Temperaturempfinden, schmerzlose Ulzera, Mutilationen, Amputationen
- Einige Formen: autonome Dysfunktion, Schweißsekretionsstörung, stechende Schmerzen, Arthropathie
- Vererbung: meist autosomal dominant
- Molekulargenetik heterogen
- Überschneidung mit HMSN II, sensiblen Ataxien, congenital insensitivity to pain



Auer-Grumbach *et al.*,  
Neuromol Med 2006;8:147-58



# Nicht-syndromale erbliche Neuropathien

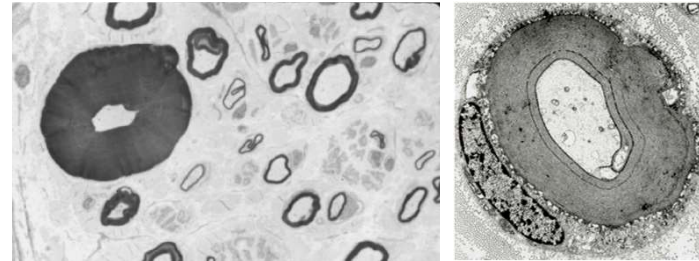
HMSN / CMT

HMN / dSMA

HSAN

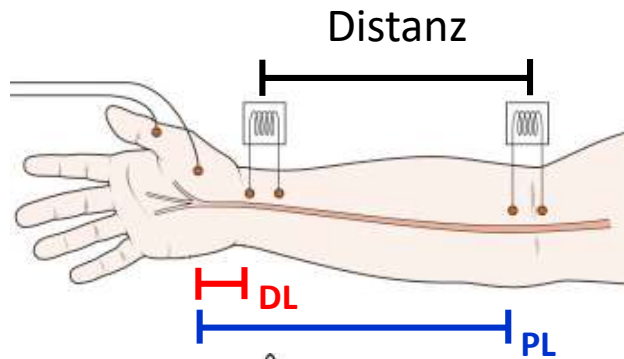
Fokale Neuropathien

- Transiente fokale Ausfälle
- Rezidivierender Verlauf
- Vererbung: autosomal dominant

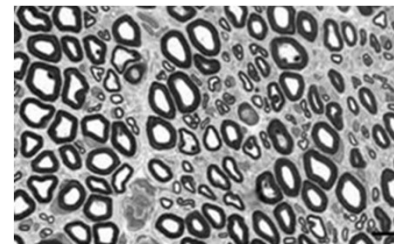
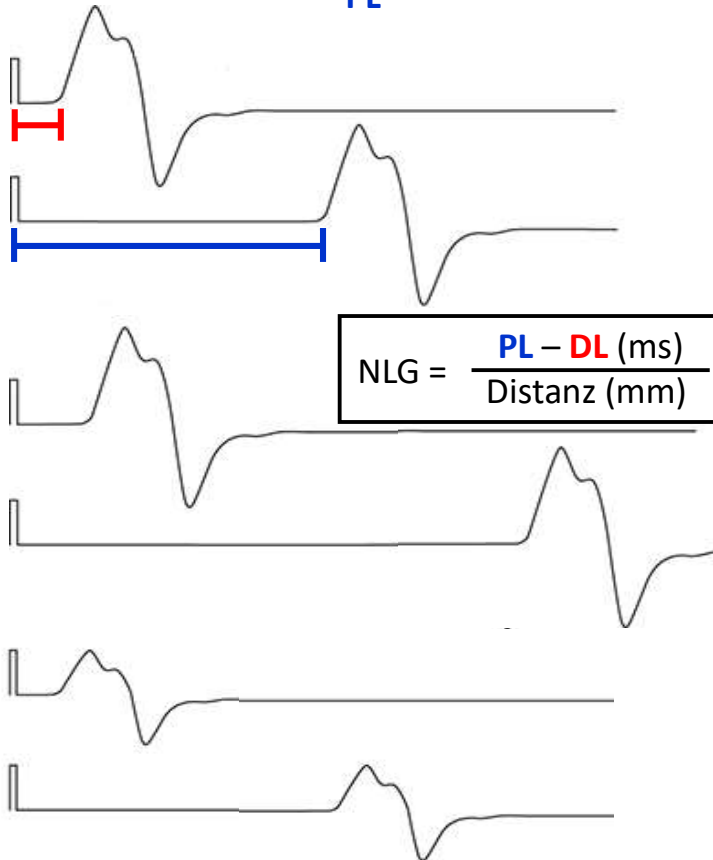


	<b>HNPP</b>	<b>HNA</b>
Auslöser	Kompression/Trauma	Infekte, Stress, Anstrengung
Lokalisation	physiologische Engstellen	Armplexus
Schmerzen	meistens schmerzlos	schmerzhaft
Verlauf	im Verlauf chron. PNP	keine Generalisierung
Elektrophysiologie	NLG ↓ , Leitungsblöcke	NLG normal (oder leicht ↓)
Nervenbiopsie	Tomakula	fokale axonale Degeneration
Genetik	<i>PMP22</i> -Deletion	<i>SEPT9</i> -Mutationen

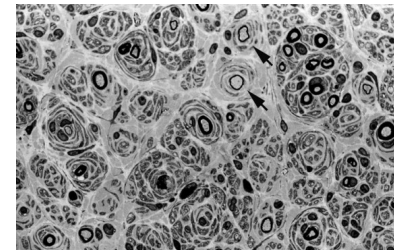
# Erbliche Neuropathien: Schädigungsmuster



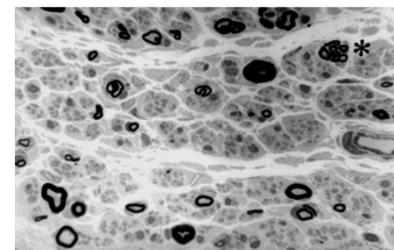
- Schwannzellen und Myelin: „demyelinisierend“
- Nervenzellen und ihre Fortsätze: „axonal“
- „Gemischt“, „intermediär“



normal

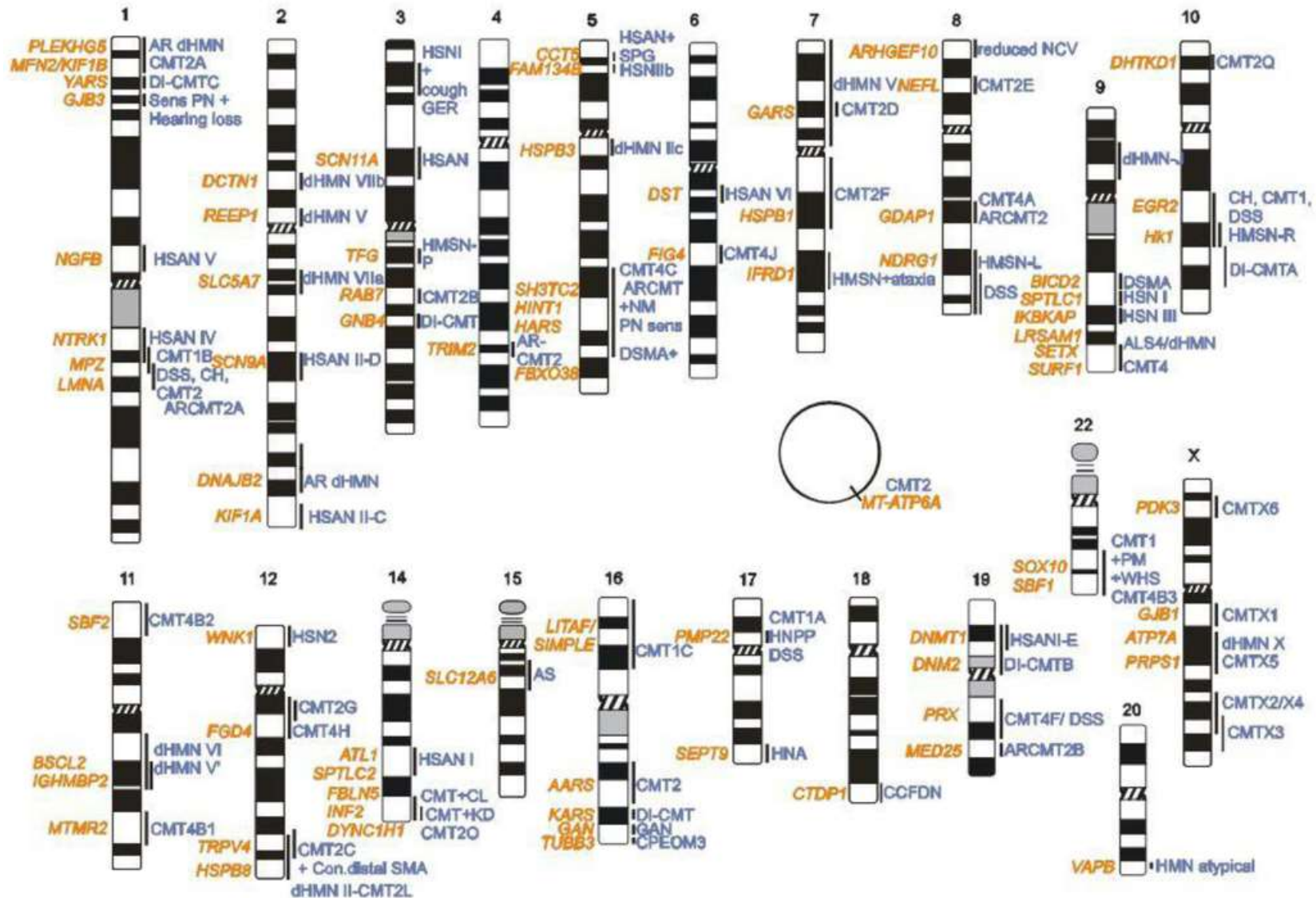


demyelinisierend



axonal

# Erbliche Neuropathien: Genorte und Gene



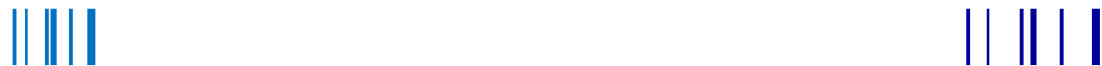
**Genomsequenzierung\***: vollständige Erbinformation (ca. 3.000.000.000 Nukleotide)



**Exomsequenzierung\***: alle proteinkodierenden Sequenzen (Exons, ca. 30.000.000 Nukleotide)



**Multi-Gen-Panel\***: meist Exons 50-100 ausgewählter Gene (ca. 50.000-300.000 Nukleotide)



**Einzelgenanalyse\*\***: Sequenzierung der Exons eines Gens (meist ca. 1.000-3.000 Nukleotide)



**\*Next-generation sequencing (NGS)**: gleichzeitige (parallele) Sequenzierung vieler DNA-Abschnitte oder der gesamten DNA

**\*\*Sanger-Sequenzierung**

# CMT / HMSN: Diagnostische Strategien

---

*PMP22*-Kopienzahlbestimmung (bei CMT1)  
Einzelgensequenzierung (Sanger)

Auswahl / Reihenfolge der Gene abhängig von

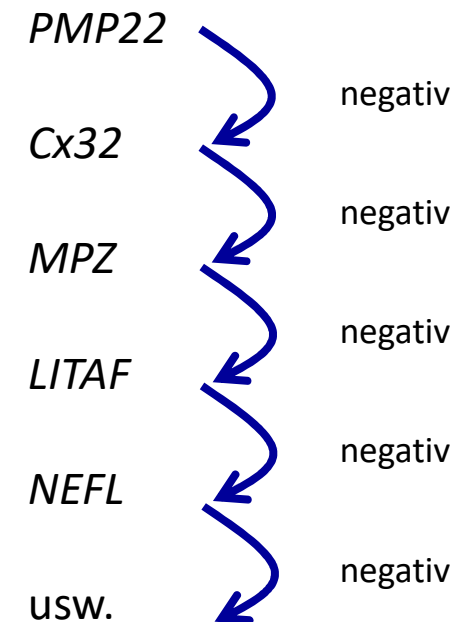
(angenommenem) Erbgang

Typ der Neuropathie (axonal, demyelinisierend)

klinischen Besonderheiten  
ethnischer Gruppe, Herkunftsland

Häufigkeit von Mutationen im jeweiligen Gen  
Größe (Zahl der Exons) der Gene

## Gen für Gen

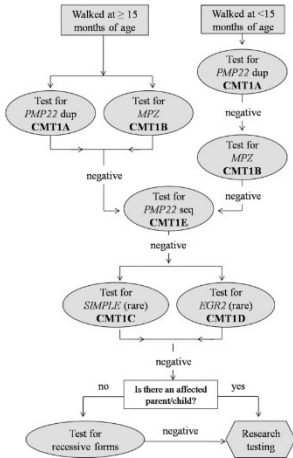


Kosten: bis zu mehreren 10.000 €

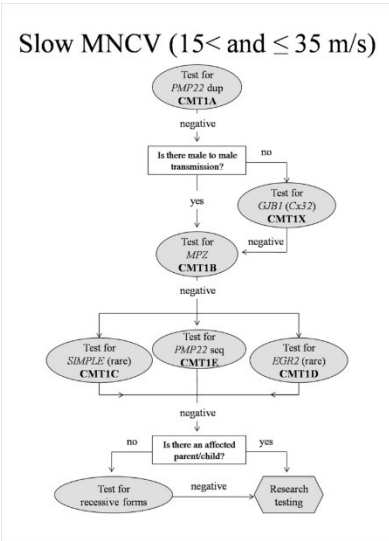
Dauer: Monate bis Jahre

# CMT / HMSN: Diagnostische Strategien

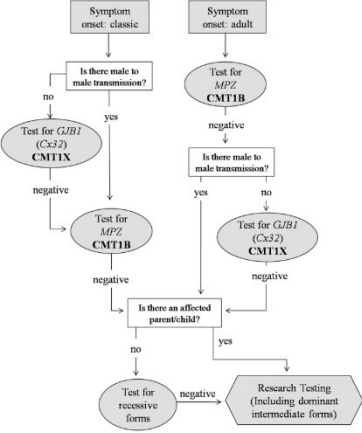
Very slow MNCV ( $\leq 15$  m/s)



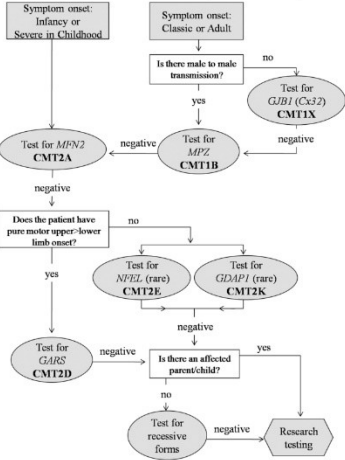
Slow MNCV ( $15 < \text{and} \leq 35$  m/s)



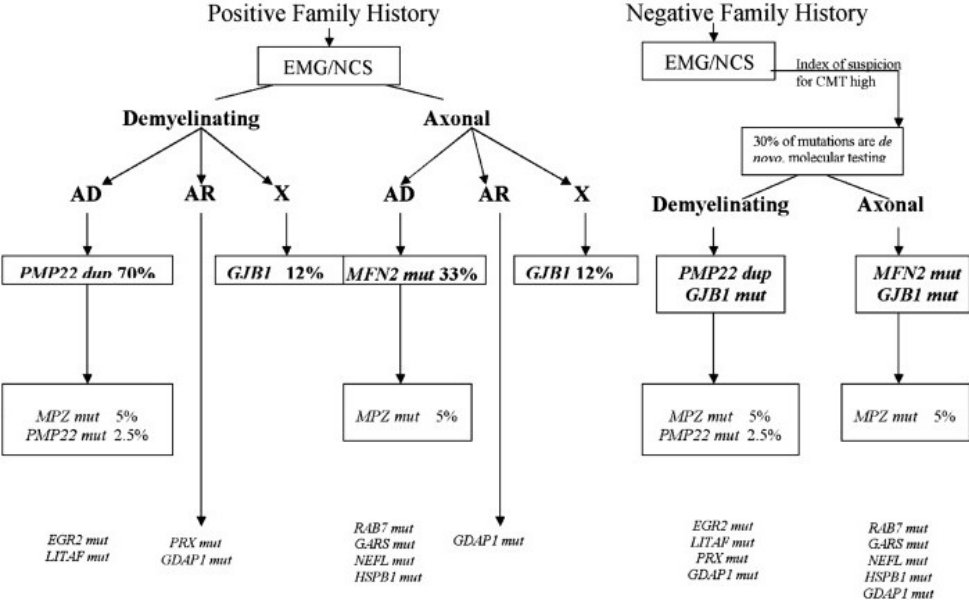
Intermediate MNCV ( $35 < \text{and} \leq 45$  m/s)



Normal MNCV ( $> 45$  m/s)



## Evaluation of Suspected Hereditary Neuropathies

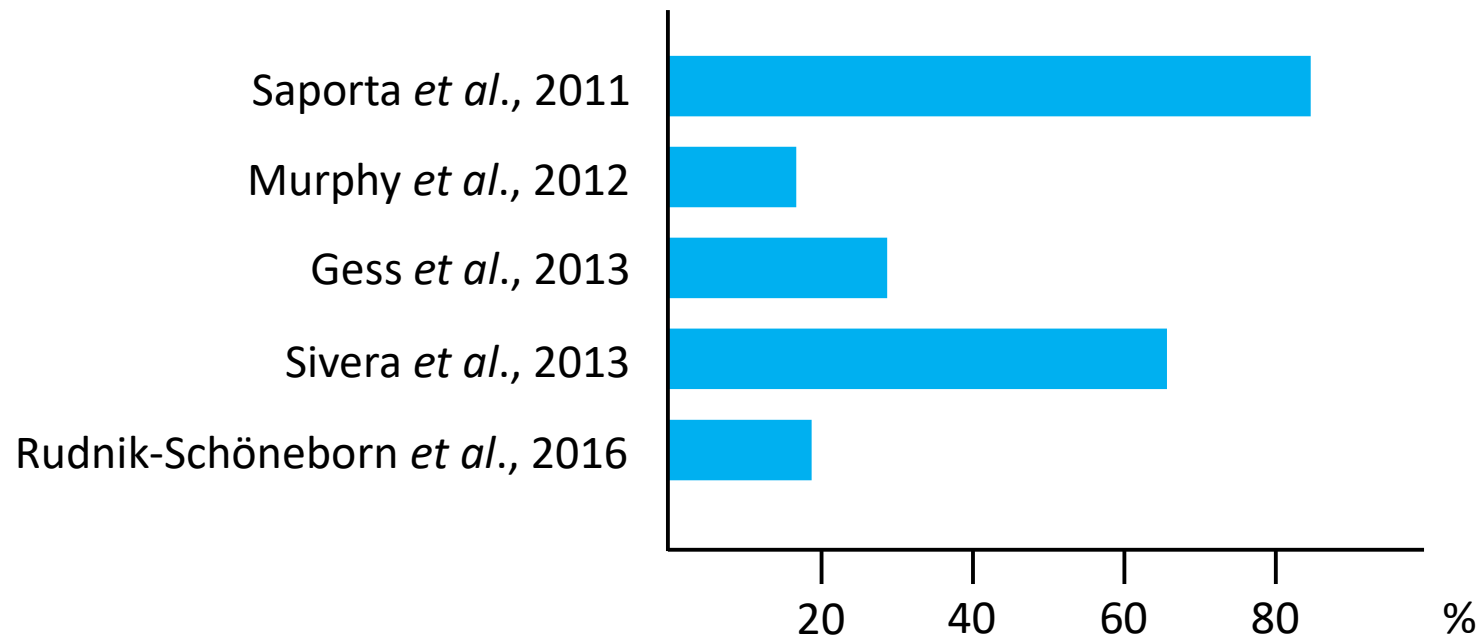


El-Abassi et al., PM&R 2014

Miller et al., Acta Myol 2011

## Detektionsraten bei nicht-*PMP22*-Dup. CMT1

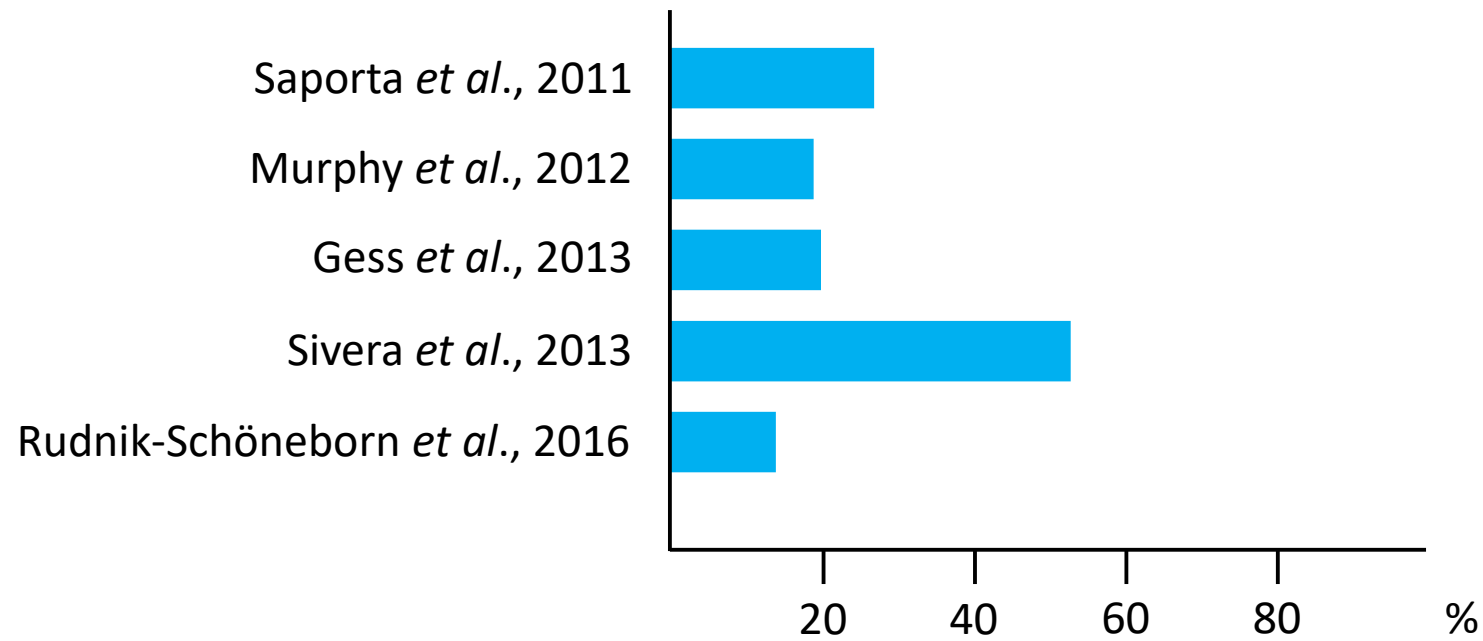
---





## Detektionsraten bei CMT2

---



# CMT / HMSN: Diagnostische Strategien

---

## Multi-Gen Panel

*PMP22*-Kopienzahlbestimmung (bei CMT1)

Gleichzeitige Sequenzierung vieler/aller CMT-Gene (NGS)

<i>RAB7</i>	<i>TRPV4</i>
<i>NEFL</i>	<i>GAN</i>
<i>MPZ</i>	<i>MTMR2</i>
<i>GJB1</i>	<i>SBF2</i>
<i>LITAF</i>	<i>HSJ1</i>
<i>PMP22</i>	<i>DCTN1</i>
<i>MFN2</i>	<i>FGD4</i>
<i>DNM2</i>	<i>GDAP1</i>
<i>FIG4</i>	<i>SH3TC2</i>

usw.

# CMT / HMSN: Diagnostische Strategien

---

## Virtuelles Panel

*PMP22*-Kopienzahlbestimmung (bei CMT1)

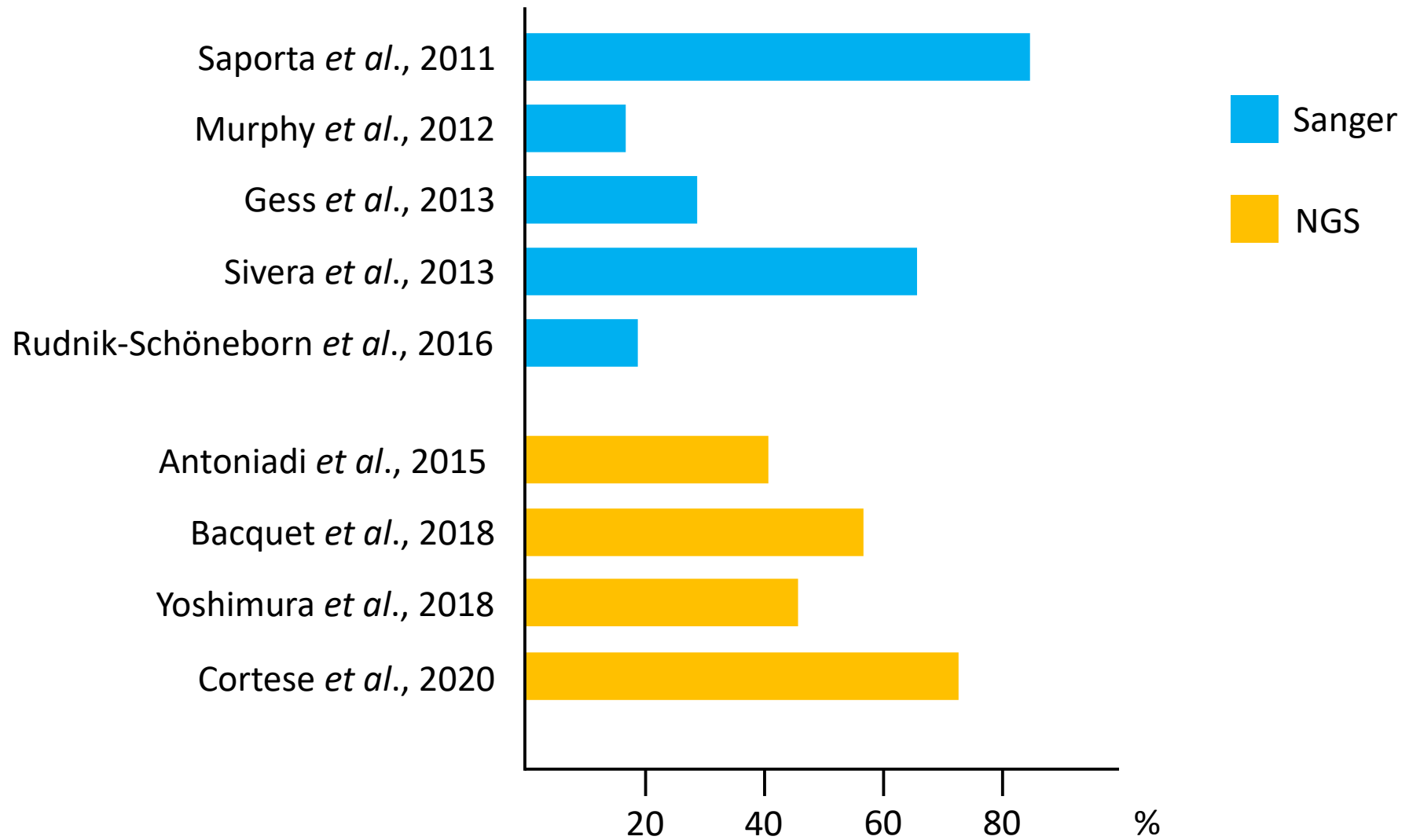
Gleichzeitige Sequenzierung vieler/aller CMT-Gene (NGS)

MPZ  
Gen #10 Gen #6  
Gen #12 LITAF Gen #11  
GJB1 Gen #8 Gen #13  
Gen #3 HSJ1 MFN2  
GAN Gen #14 Gen #15  
Gen #1 Gen #5 Gen #2  
Gen #7 GDAP1 Gen #17  
Gen #18 Gen #16 MTMR2  
DCTN1 Gen #4 Gen #9  
Gen #19

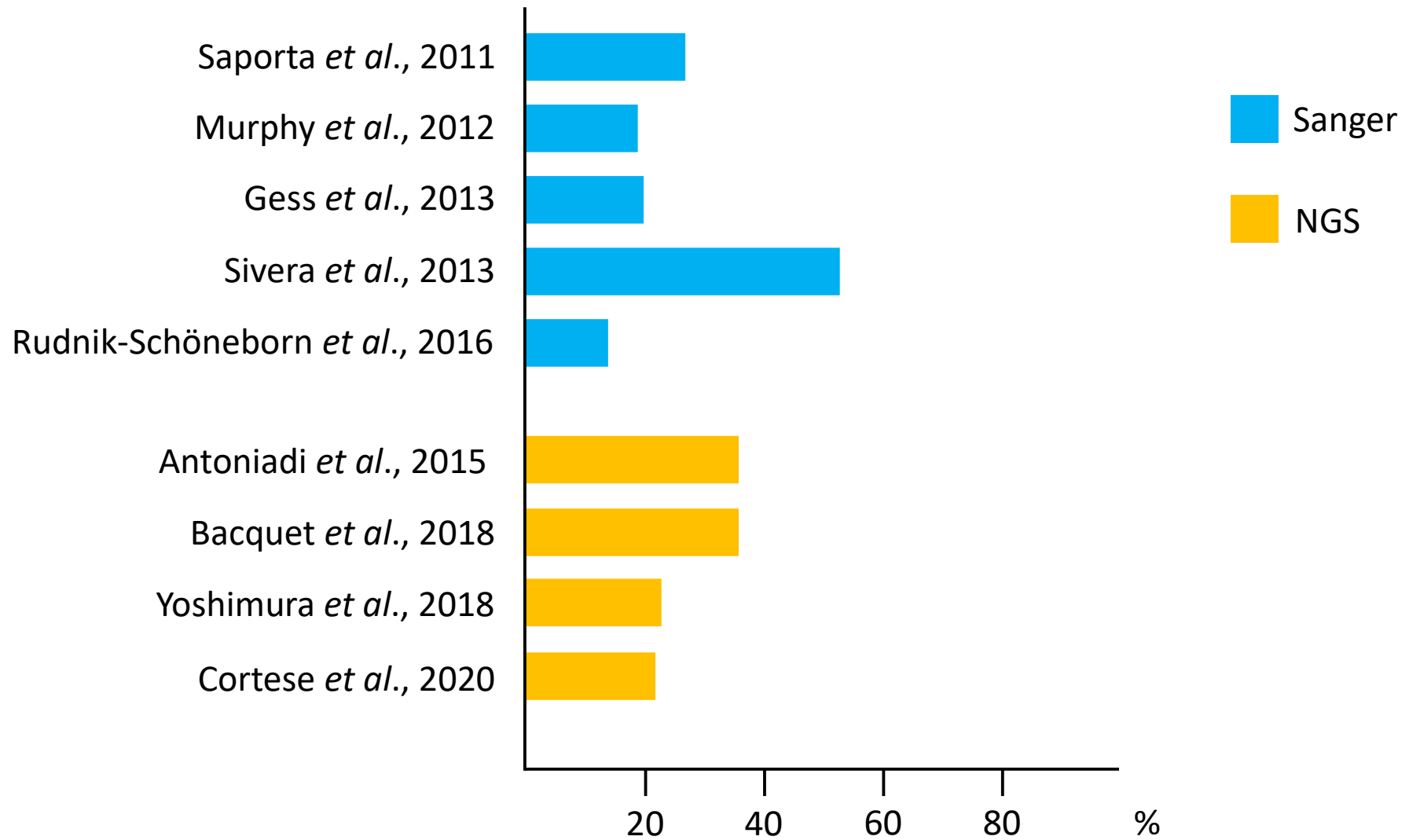
Kosten: ca. 5.000 €

Dauer: 2 Wochen - 3 Monate

## Detektionsraten bei nicht-*PMP22*-Dup. CMT1



# Detektionsraten bei CMT2



## **Wo sind die fehlenden Mutationen?**

**Varianten werden zwar erfasst, aber die Interpretation ist unklar.**

# Beurteilung unklarer Varianten

---

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: AMS 2

Wichtige Befunde: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Familienanamnese / Stammbaum: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

<u>Gen</u>	<u>Varianten</u>
<i>HINT1</i>	het. C38R het. A85T

# Beurteilung unklarer Varianten

---

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: HMSN 2

Wichtige Befunde: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Familienanamnese / Stammbaum: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

<u>Gen</u>	<u>Varianten</u>	<u>Literatur</u>	<u>gnomAD</u>
<i>HINT1</i>	het. C38R	nein	nein
	het. A85T	nein	nein



# Beurteilung unklarer Varianten

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: [REDACTED]

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: HMSN2

Wichtige Befunde: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Familienanamnese / Stammbaum: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

<u>Gen</u>	<u>Varianten</u>	<u>Literatur</u>	<u>gnomAD</u>
<i>HINT1</i>	het. C38R	nein	nein
	het. A85T	nein	nein

Konservierung

ja

ja

Mensch	F	E	D	D	R	C	L	A	F	H	D
Hund	F	K	D	D	R	C	L	A	F	H	D
Maus	F	E	D	D	R	C	L	A	F	H	N
Huhn	F	E	D	D	Q	C	L	A	F	H	D
Frosch	Y	E	D	D	Q	C	L	A	F	H	D
Fisch	F	E	D	D	Q	C	L	A	F	Y	Y

Mensch	V	G	K	K	C	A	A	D	L	G	L
Hund	V	G	K	K	C	A	A	D	L	G	L
Maus	V	G	K	K	C	A	A	D	L	G	L
Huhn	V	G	K	K	C	A	A	D	L	G	L
Frosch	V	G	K	K	C	A	A	D	L	G	L
Fisch	V	G	K	K	C	A	A	D	L	G	L

# Beurteilung unklarer Varianten

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: HMSN 2

Wichtige Befunde: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Familienanamnese / Stammbaum: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

<u>Gen</u>	<u>Varianten</u>	<u>Literatur</u>	<u>gnomAD</u>	<u>Konservierung</u>	<u>PolyPhen2</u>	<u>MutationTaster</u>
<i>HINT1</i>	het. C38R	nein	nein	ja	damaging	disease causing
	het. A85T	nein	nein	ja	damaging	disease causing

# Beurteilung unklarer Varianten

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: [REDACTED]

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: HMSN 2

Wichtige Befunde:

Familienanamnese / Stammbaum:

Telefonat mit dem Einsender:

„... ein Bruder auch betroffen, Eltern beide gesund...“

**autosomal rezessiv**

- AR CMT2-Gene**
- DNAJB2
  - GDAP1
  - HINT1
  - HSPBP1
  - IGHMBP2
  - LMNA
  - MFN2
  - MME
  - MPV17
  - NEFL
  - PNKP
  - SACS
  - SORD

<u>Gen</u>	<u>Varianten</u>	<u>Literatur</u>	<u>Konservierung</u>	<u>PolyPhen2</u>	<u>MutationTaster</u>
<i>HINT1</i>	het. C38R het. A85T	nein nein	ja ja	damaging damaging	disease causing disease causing

# Beurteilung unklarer Varianten

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: [REDACTED]

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: HMSN 2

Wichtige Befunde:

Familienanamnese / Stammbaum:

Telefonat mit dem Einsender:

„... ein Bruder auch betroffen, Eltern beide gesund...“

autosomal rezessiv

„... klagt häufig Steifigkeit in den Händen...“

**Myotonie**

- AR CMT2-Gene**
- DNAJB2
  - GDAP1
  - HINT1**
  - HSPBP1
  - IGHMBP2
  - LMNA
  - MFN2
  - MME
  - MPV17
  - NEFL
  - PNKP
  - SACS
  - SORD

Gen	Varianten	Literatur
<i>HINT1</i>	het. C38R het. A85T	nein nein

Konservativ  
ja  
ja

Nat Genet. 2012 Oct;44(10):1080-3. doi: 10.1038/ng.2406. Epub 2012 Sep 9.

**Loss of function mutations in HINT1 cause axonal neuropathy with neuromyotonia.**

Zimon M, Baets J, Almeida-Souza L, De Vriendt E, Nikodinovic J, Parman Y, Battaloglu E, Matur Z, Guergueltcheva V, Tournev I, Auer-Grumbach M, De Rijk P, Petersen BS, Müller T, Fransen E, Van Damme P, Löscher WN, Barišić N, Mitrovic Z, Previtali SC, Topaloğlu H, Bernert G, Beza-Meireles A, Todorovic S, Savic-Pavicevic D, Ishpekova B, Lechner S, Peeters K, Ooms T, Hahn AF, Züchner S, Timmerman V, Van Diick P, Rasic VM, Janecke AR, De Jonghe P, Jordanova A.

Molecular Neurogenomics Group, Department of Molecular Genetics, VIB, University of Antwerp, Antwerp, Belgium.

**Abstract**  
Inherited peripheral neuropathies are frequent neuromuscular disorders known for their clinical and genetic heterogeneity. In 33 families, we identified 8 mutations in HINT1 (encoding histidine triad nucleotide-binding protein 1) by combining linkage analyses with next-generation sequencing and subsequent cohort screening of affected individuals. Our study provides evidence that loss of functional HINT1 protein results in a distinct phenotype of autosomal recessive axonal neuropathy with neuromyotonia.

# Beurteilung unklarer Varianten

Begleitschein für molekulargenetische Untersuchungen

Name, Vorname: [REDACTED]

Geburtsdatum: 17.04.1991

Geschlecht:  männlich  weiblich

(Verdachts)diagnose: HMSN 2

Wichtige Befunde:

Familienanamnese / Stammbaum:

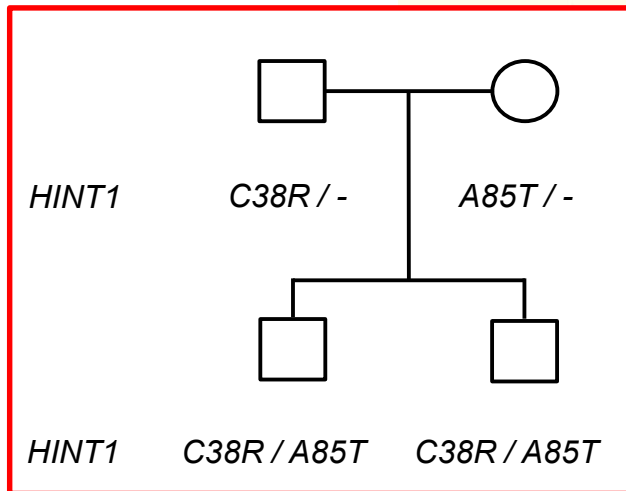
Telefonat mit dem Einsender:

„... ein Bruder auch betroffen, Eltern beide gesund...“

**autosomal rezessiv**

„... klagt häufig Steifigkeit in den Händen...“

**Myotonie**



## AR CMT2-Gene

- DNAJB2
- GDAP1
- HINT1**
- HSPBP1
- IGHMBP2
- LMNA
- MFN2
- MME
- MPV17
- NEFL
- PNKP
- SACS
- SORD

Konserv

ja  
ja

Nat Genet. 2012 Oct;44(10):1080-3. doi: 10.1038/ng.2406. Epub 2012 Sep 9.

**Loss of function mutations in HINT1 cause axonal neuropathy with neuromyotonia.**

Zimon M, Baets J, Almeida-Souza L, De Vriendt E, Nikodinovic J, Parman Y, Battaloglu E, Matur Z, Guergueltcheva V, Tournev I, Auer-Grumbach M, De Rijk P, Petersen BS, Müller T, Fransen E, Van Damme P, Löscher WN, Barišić N, Mitrovic Z, Previtali SC, Topaloglu H, Bernert G, Beza-Meireles A, Todorovic S, Savic-Pavicevic D, Ishpekova B, Lechner S, Peeters K, Ooms T, Hahn AF, Züchner S, Timmerman V, Van Diick P, Rasic VM, Janecke AR, De Jonghe P, Jordanova A.

Molecular Neurogenomics Group, Department of Molecular Genetics, VIB, University of Antwerp, Antwerp, Belgium.

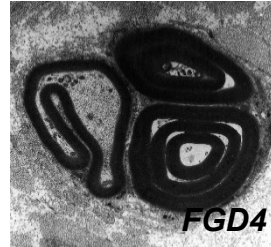
**Abstract**

Inherited peripheral neuropathies are frequent neuromuscular disorders known for their clinical and genetic heterogeneity. In 33 families, we identified 8 mutations in HINT1 (encoding histidine triad nucleotide-binding protein 1) by combining linkage analyses with next-generation sequencing and subsequent cohort screening of affected individuals. Our study provides evidence that loss of functional HINT1 protein results in a distinct phenotype of autosomal recessive axonal neuropathy with neuromyotonia.

# Gezielte Analyse bei bestimmten Befunden

## Charakteristische Pathologie

- Markscheidenauffaltungen: *MPZ*, *MTMR2*, *SBF2*, *FGD4*, *PRX*
- Basallamina-Zwiebelschalen: *SH3TC2*



## Rein motorische Ausfälle

→ HMN

## Stimmbandlähmung

- *TRPV4*, *GDAP1*

## Kleine Handmuskeln früh / deutlich betroffen

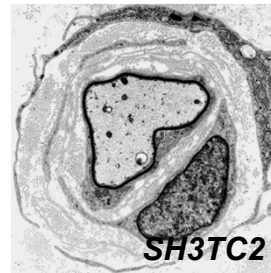
- *GARS*, *BSCL2*

## Früh beginnende Skoliose

- *SH3TC2*, *FGD4*

## Zeichen des 1. Motoneurons

- *MFN2*, *BSCL2*
- SPG, ALS



## Deutliche / überwiegende sensible Ausfälle

- *RAB7*
- HSAN

## Foundermutationen

- Roma: *NDRG1* (R148X), *SH3TC2* (R1109X)
- Türkei: *SH3TC2* (R831fs)

## Kongenitales Glaukom

- *SBF2*

## Optikusatrophie

- *MFN2*

## Handmyotonie

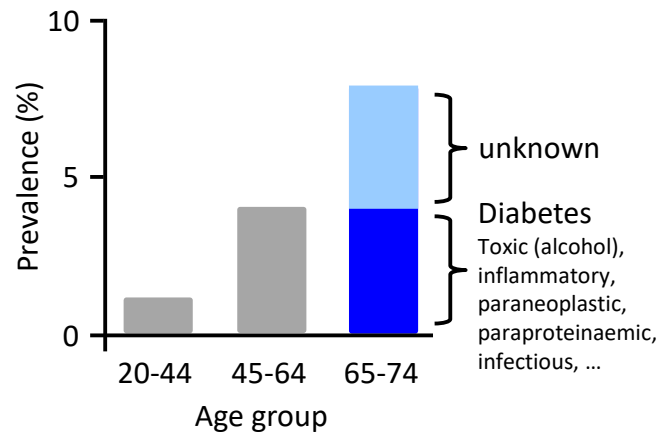
- *HINT1*

## Verzögerte motorische Entwicklung

- *PMP22*, *MPZ*, *EGR2*, *GDAP1*, *MTMR2*, *PRX*, *NEFL*

# Erbliche Neuropathien mit spätem Beginn ( $\geq 35$ Jahre)

Prävalenz von Polyneuropathien



Welche Rolle spielen genetische Faktoren?

*MPZ* (Auer-Grumbach *et al.*, 2003)

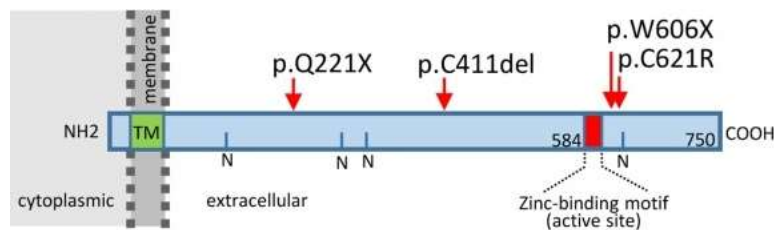
*MFN2* (Chung *et al.*, 2006)

*LRSAM1* (Nicolaou *et al.*, 2013)

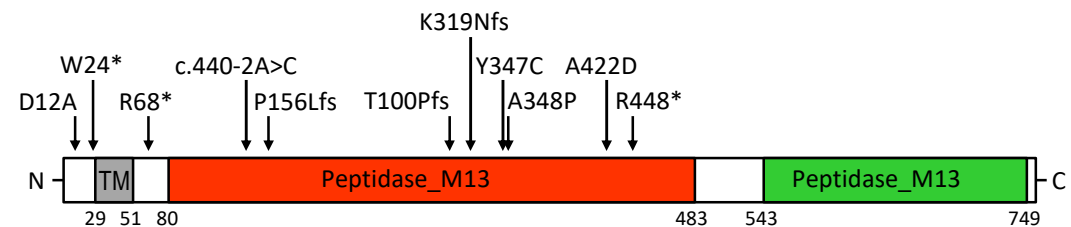
*MARS* (Gonzales *et al.*, 2013)

*HSPB1* (Oberstadt *et al.*, 2016)

## MME-Varianten in 29 CMT-Familien



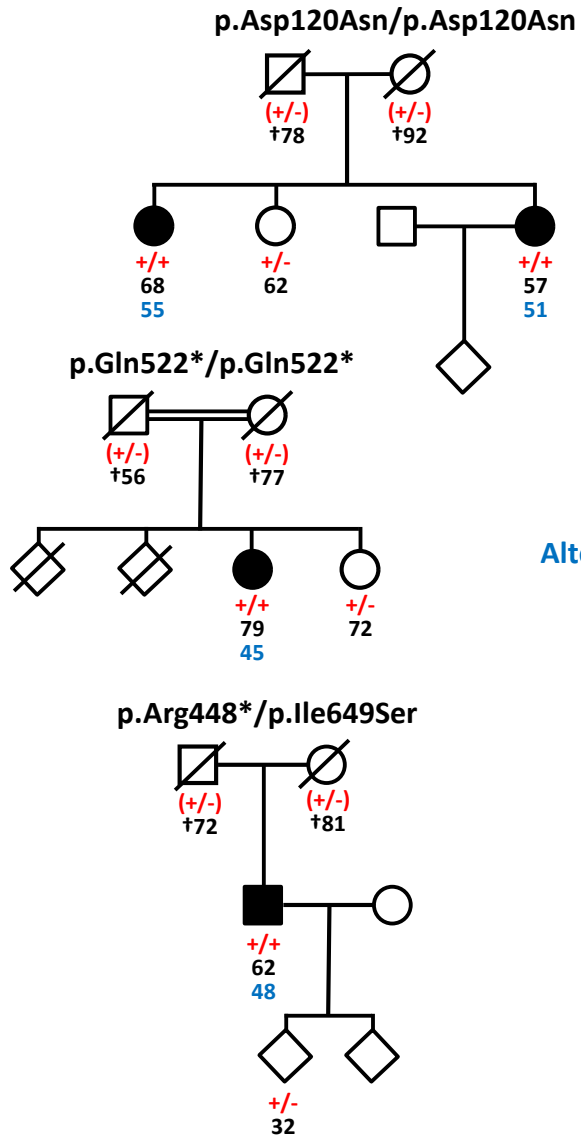
Higuchi *et al.*, Ann Neurol 2016;**79**:659-72



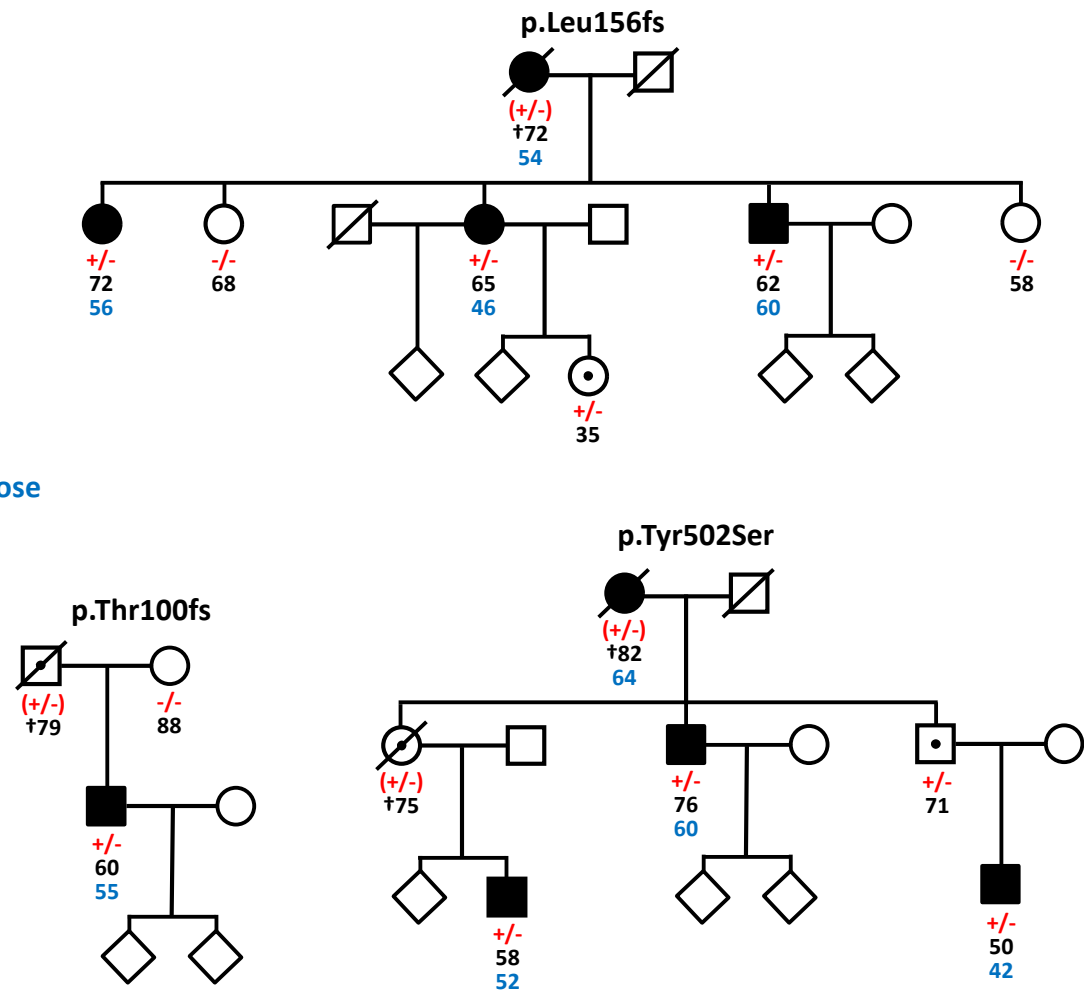
Auer-Grumbach *et al.*, Am J Hum Genet 2016;**99**:607-23

# Vererbung von *MME*-Varianten

Autosomal rezessiv



Autosomal dominant  
mit unvollständiger Penetranz

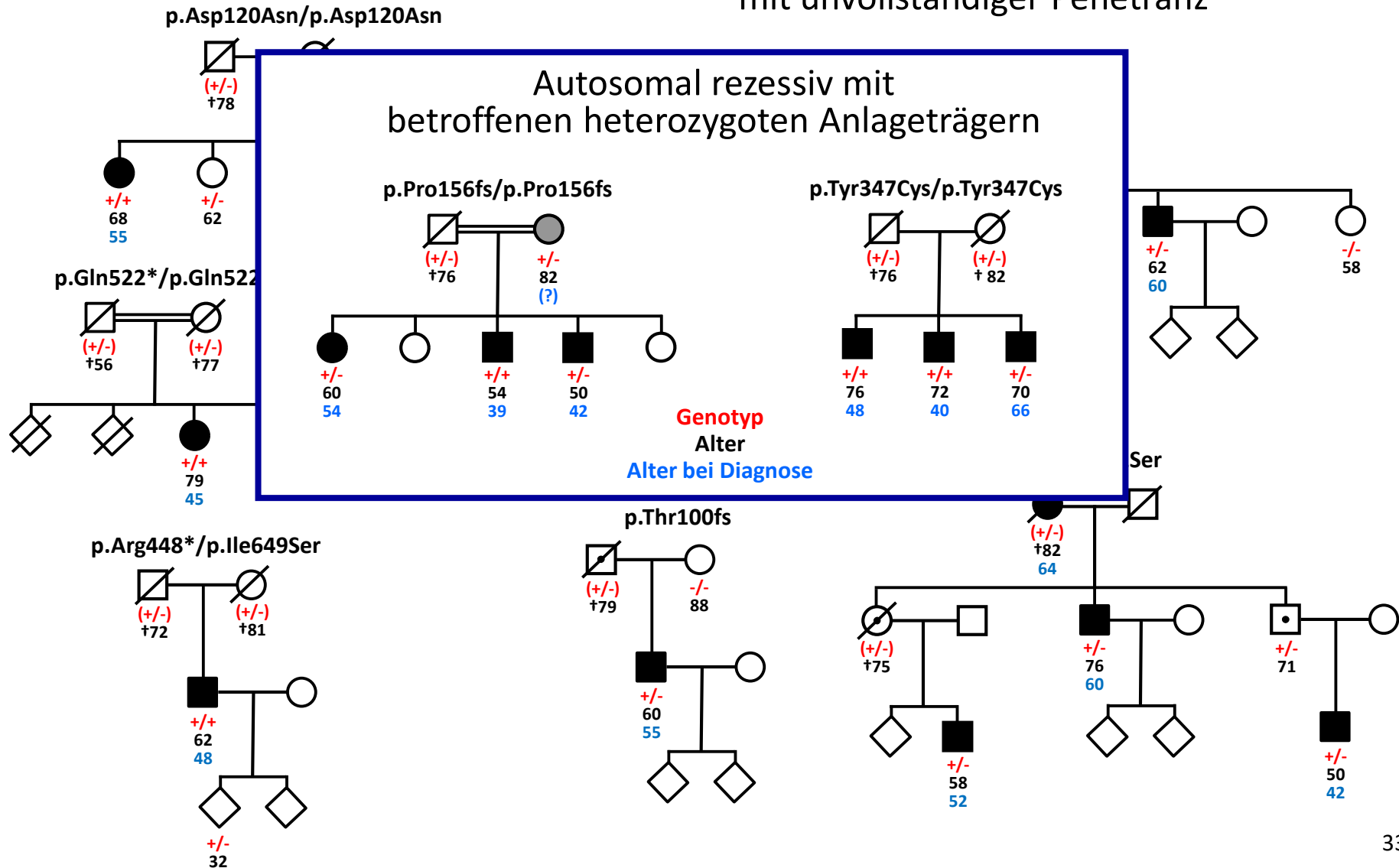




# Vererbung von MME-Varianten

Autosomal rezessiv

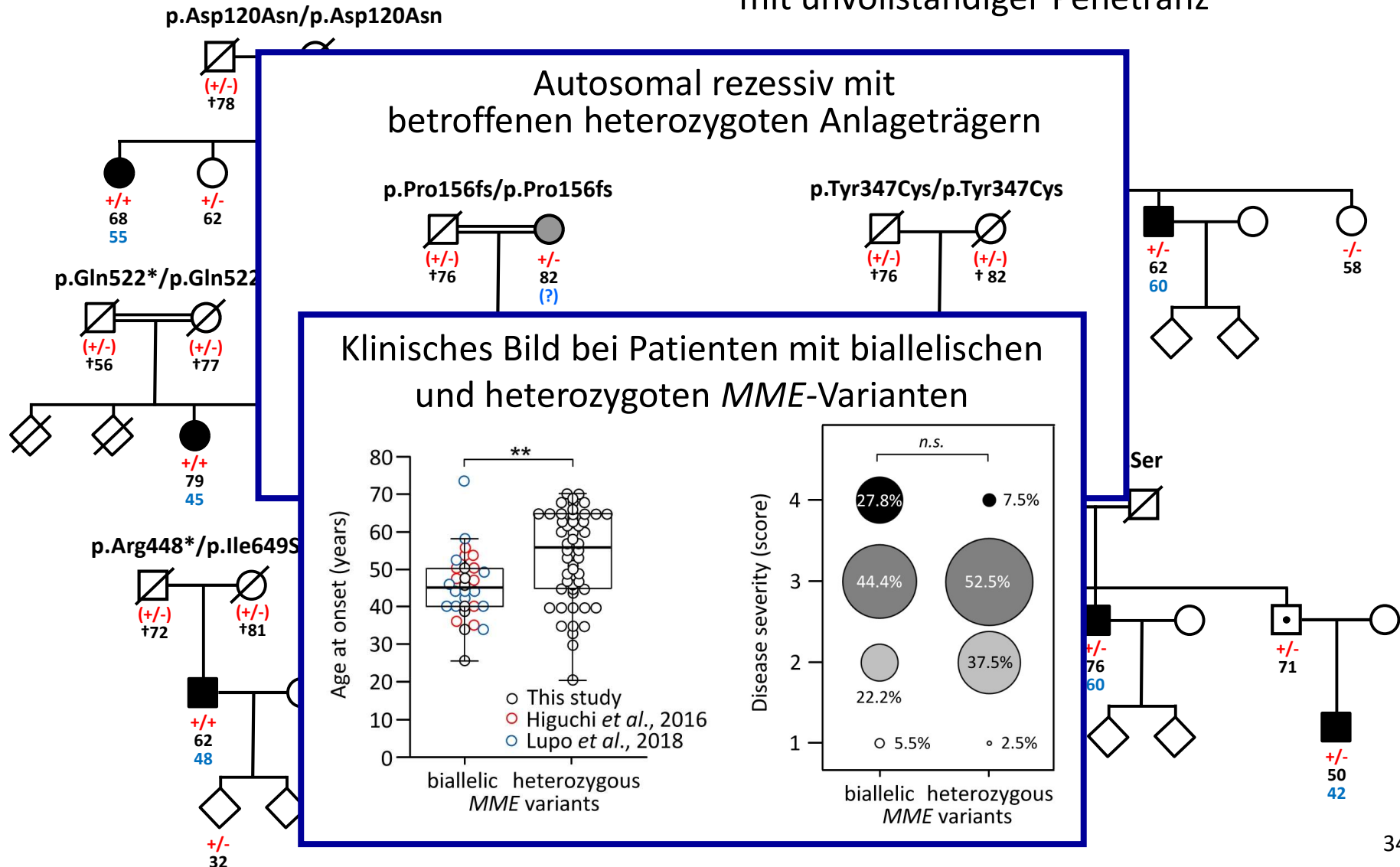
Autosomal dominant  
mit unvollständiger Penetranz



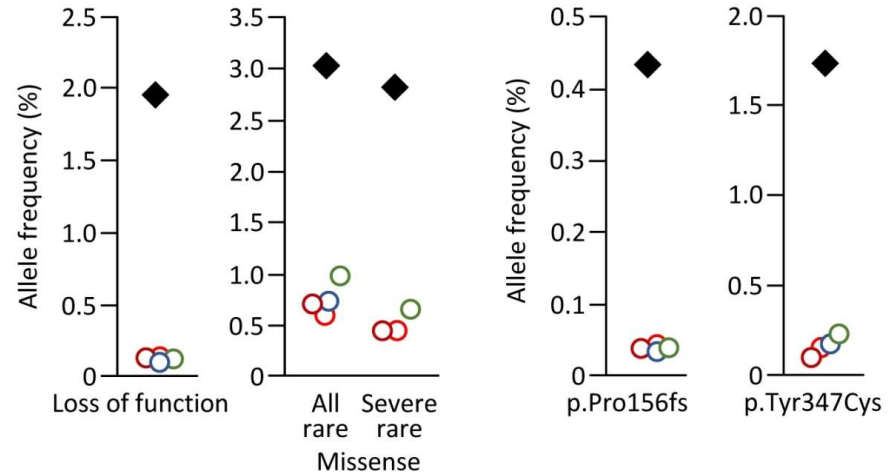
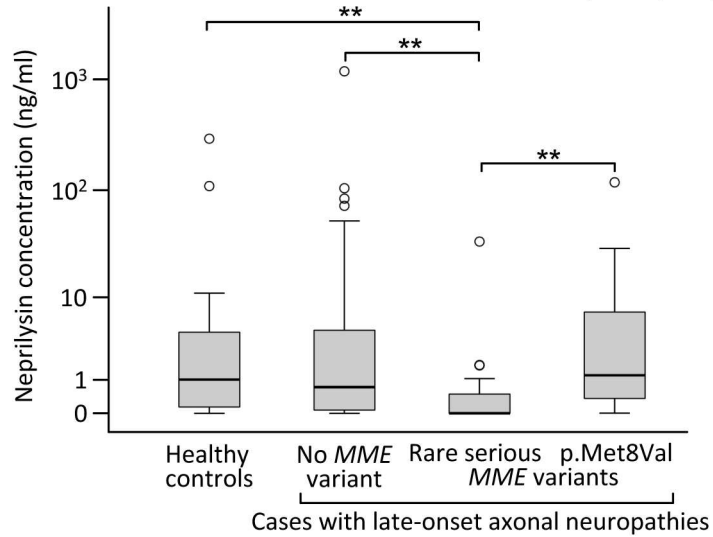
# Vererbung von MME-Varianten

Autosomal rezessiv

Autosomal dominant mit unvollständiger Penetranz



# Charakterisierung heterozygoter *MME*-Varianten



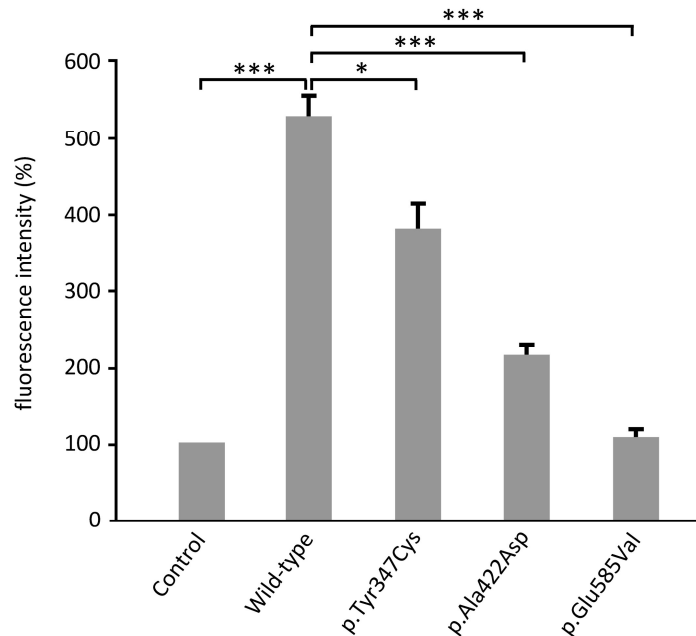
◆ Late-onset neuropathies

○ gnomAD all exomes

○ gnomAD European exomes

○ HZM exomes

○ HIHG exomes



W750fs	R468fs	T100fs											
R748W	C411del	W24*	G583R	Q569P				R23Q	D12A	c.1914+1G>A	C143Y		
H712Y	C621R	I649S	Y347C	W694fs	M273T	Y502S	K319fs	K177fs	C242F	c.958-4_958-3delinsG	c.1914C>T		
N689K	W606*	c.655-2A>G	Q522*	R448*	Q684*	R68*	c.536-1G>A	S547F	A422D	A306V	V345I		
A658T	P556S	c.196+1G>A	c.439+2T>A	D120N	P156fs	E449*	D591N	I201fs	E41K	R385Q	G225A		
		T77fs	Q221*	c.654+1G>A	V428M	c.440-2A>C	A348P	E504V	M8V				

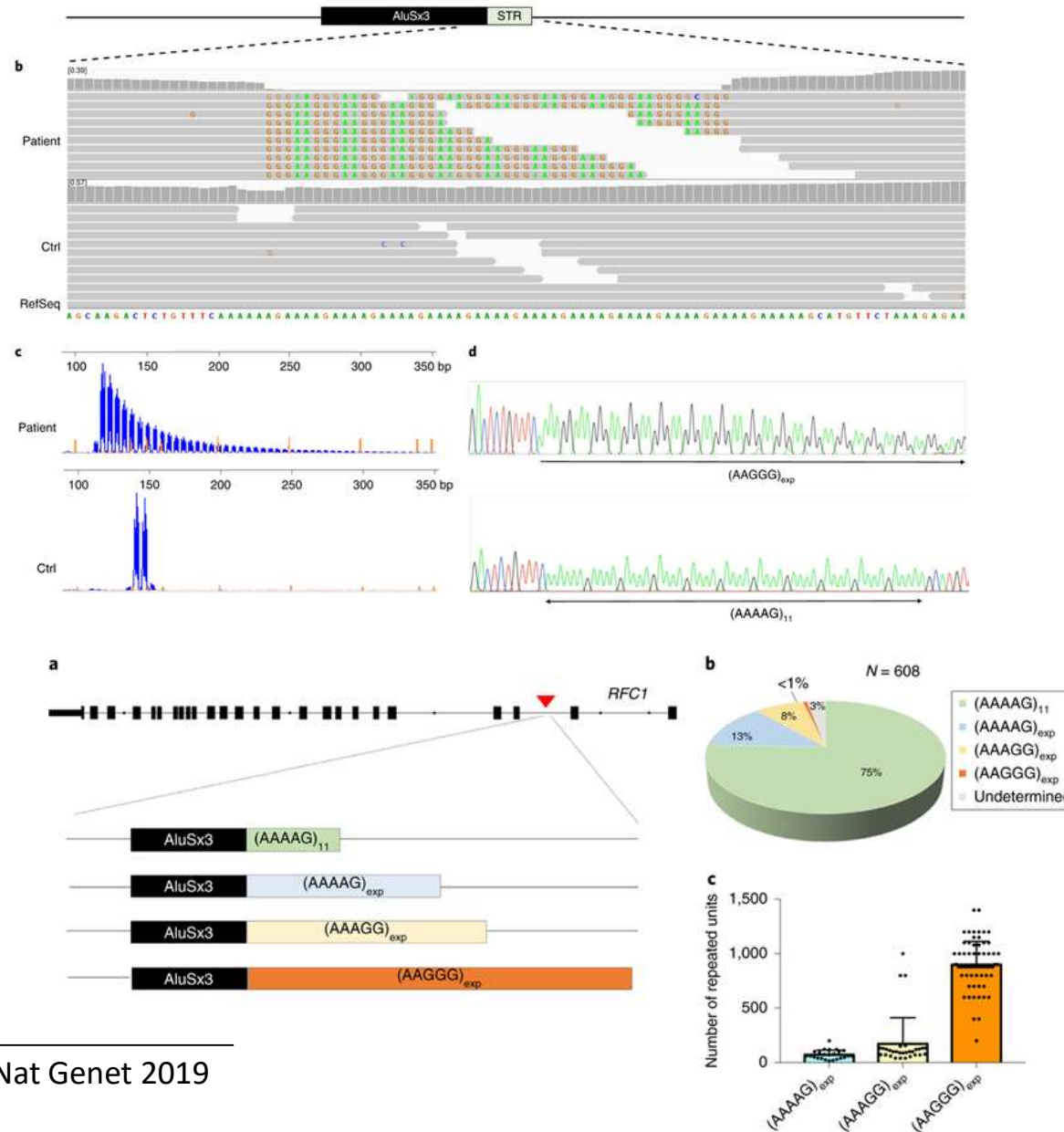


## Wo sind die fehlenden Mutationen?

Varianten werden zwar erfasst, aber die Interpretation ist unklar.

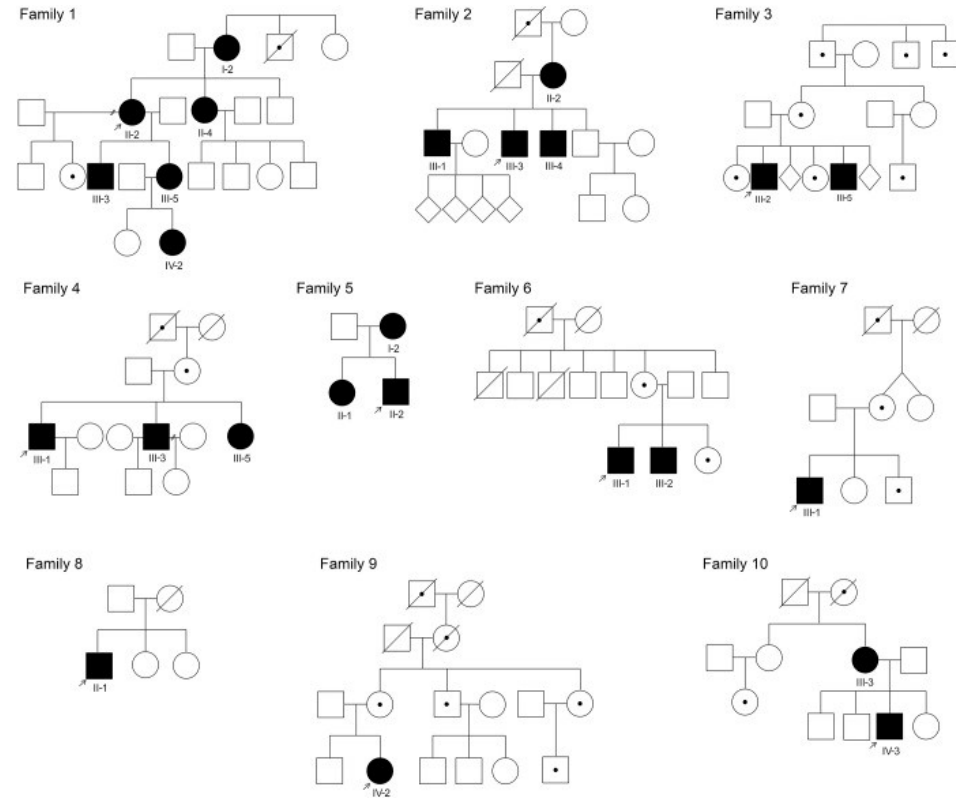
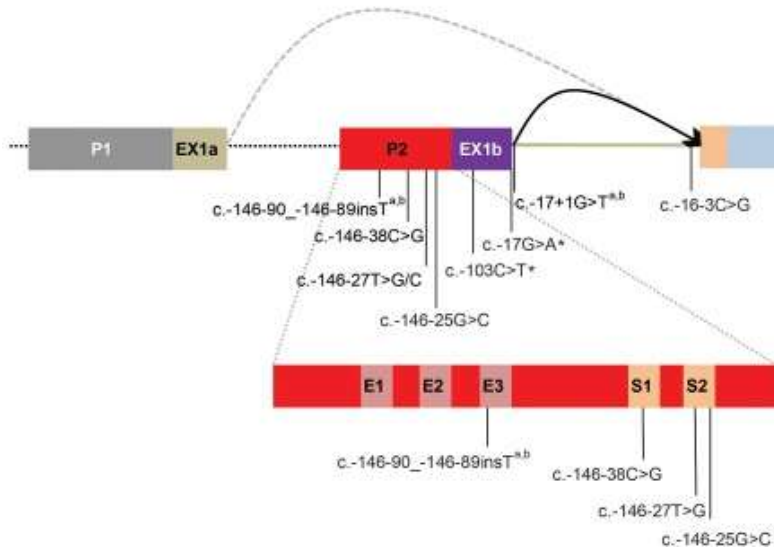
**Varianten werden aufgrund technischer Limitationen nicht erfasst.**

# Rein sensible PNP: intronische Repeatexpansion im *RFC1*-Gen



Cortese *et al.*, Nat Genet 2019

# GJB1-Varianten in nicht-kodierenden Bereichen



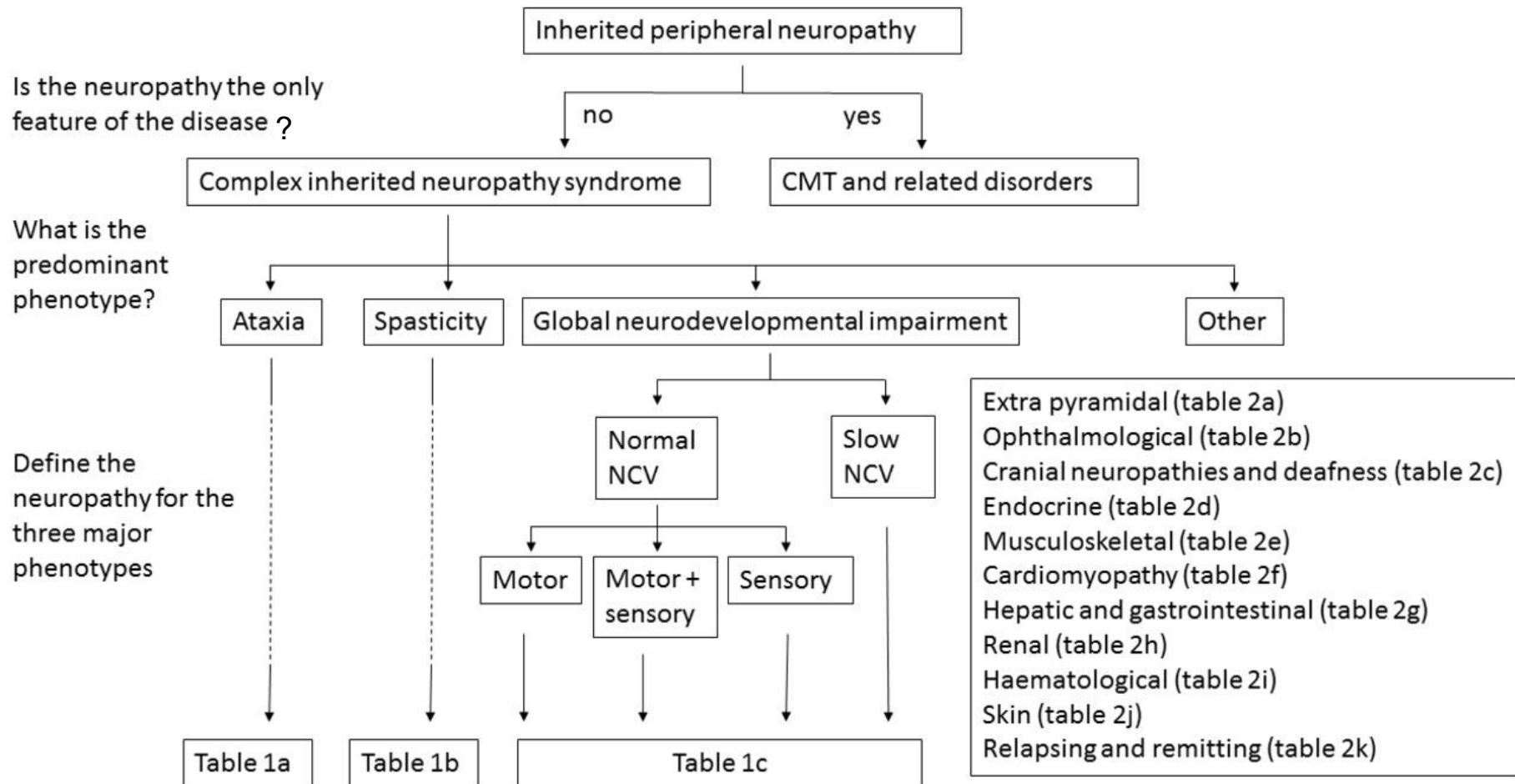
## Wo sind die fehlenden Mutationen?

Varianten werden zwar erfasst, aber die Interpretation ist unklar.

Varianten werden aufgrund technischer Limitationen nicht erfasst.

**Das Gen-Panel beinhaltet nicht alle relevanten Gene.**

# Periphere Neuropathie bei syndromalen Erkrankungen



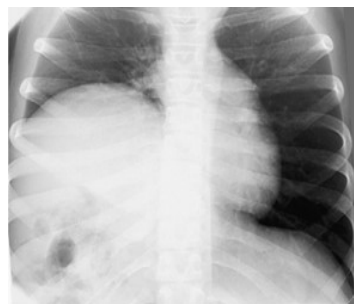


# SMARD ohne Ateminsuffizienz

## SMARD - klassischer Phänotyp:

- Biallelische *IGHMBP2*-Varianten
- Beginn erste Lebensmonate
- Ateminsuffizienz
- Zwerchfellhochstand
- Tetraplegie (distal>proximal)

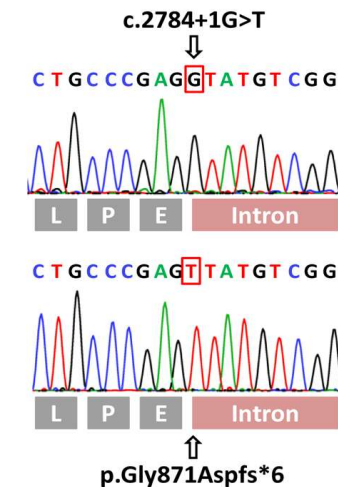
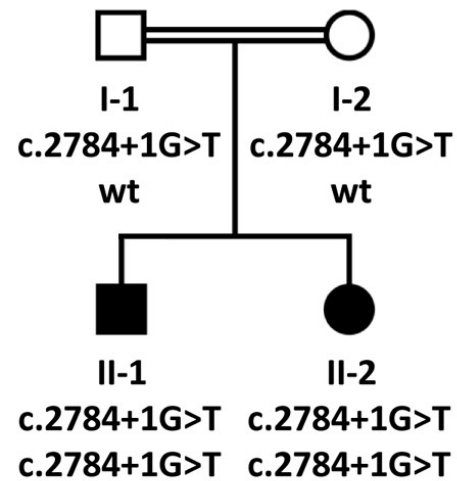
Grohmann *et al.*, Nat Genet 2001;29:75-7



Guenther *et al.*, J Mol Med 2009;87:31-41

## NP6 (Türkei):

- Patienten 18 und 14 Jahre
- Keine Ateminsuffizienz
- Rö-Thorax unauffällig
- Distale Schwäche, Hohlfüße
- *IGHMBP2*-Spleiß-Mutation

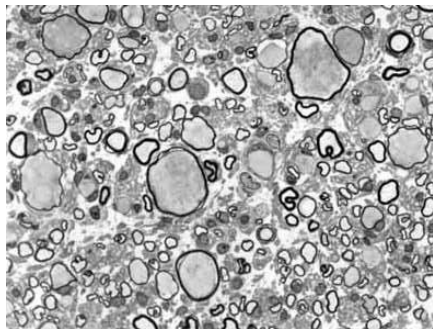


# Riesenaxon-Neuropathie ohne Riesenaxone

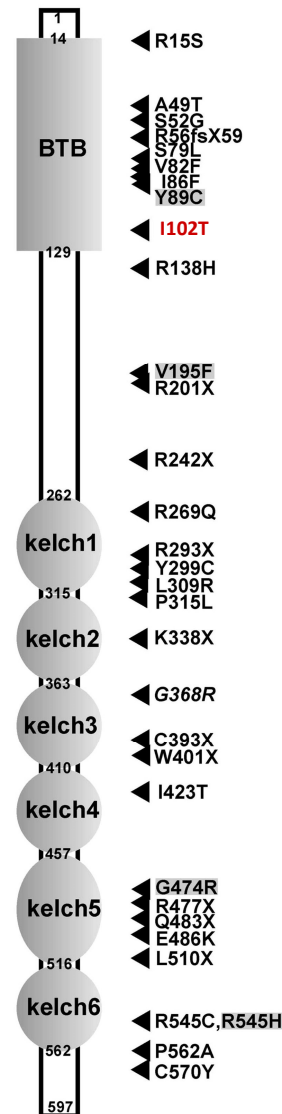
## GAN - klassischer Phänotyp:

- Generalisierte Muskelschwäche
- Beginn < 10a
- ZNS-Beteiligung
- Kraniale MRT: diffuse Signalanhebungen der weißen Substanz
- Biopsie: Neurofilament-Ansammlungen, Riesenaxone

Bomont *et al.*, Nat Genet 2000;26:370-4

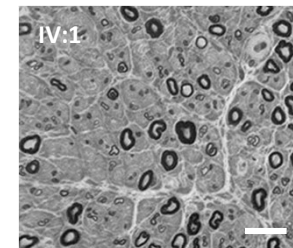
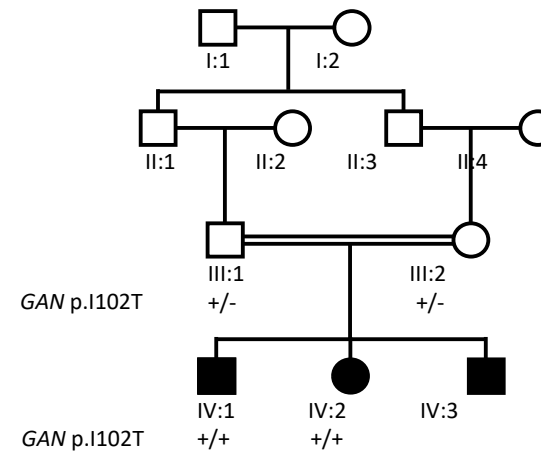


<https://neuromuscular.wustl.edu>



## NP 1148 (Syrien)

- Distale Paresen, Hohlfüße
- Erkrankungsbeginn 2. Dekade
- Zerebrale Bildgebung unauffällig
- Nervenbiopsie: Verlust großer Axone, Regenerationsgruppen



GAN: c.305T>C (p.I102T)

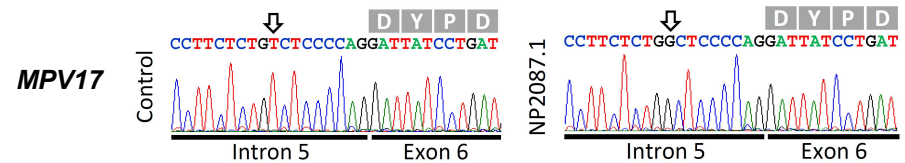
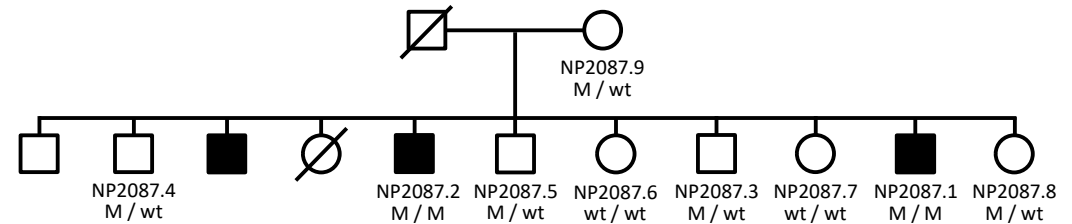
Hs	I	R	L	N	E	D	T	I	O	D	V	V	O	A	A
Pt	I	R	L	N	E	E	T	I	O	D	V	V	O	A	A
Cl	I	R	L	N	E	D	T	I	O	D	V	V	O	A	A
Mm	I	R	L	N	E	E	T	I	O	D	V	V	O	A	A
Gg	I	R	L	S	E	E	T	I	O	D	V	V	O	A	A
Xt	I	R	L	S	E	E	T	I	O	D	V	V	O	A	A
Dr	I	R	L	S	E	E	T	I	O	D	V	V	O	A	A

# Neurohepatopathie ohne Lebererkrankung

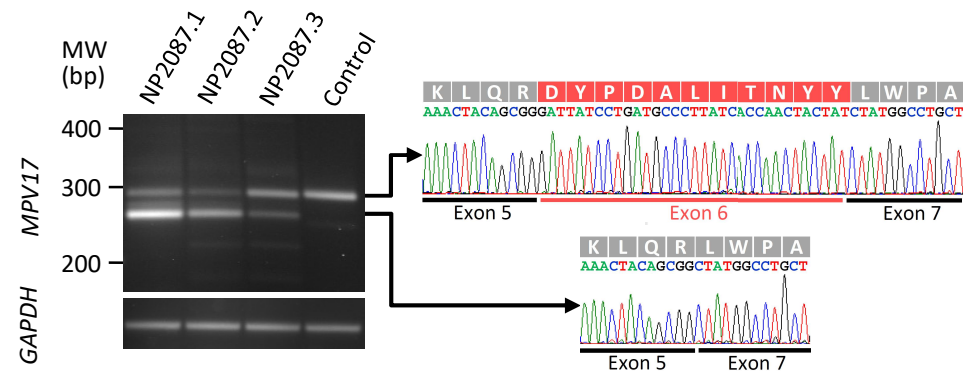
## Navajo-Neurohepatopathie:

- Biallelische *MPV17*-Mutationen
- Leberversagen
- Leukenzephalopathie
- Gedeihstörung
- Metabolische Azidose
- Periphere Neuropathie

Spinazzola *et al.*, Nat Genet 2006;**38**:570-5  
 Karadimas *et al.*, Am J Hum Genet 2006;**79**:544-8



***MPV17* c.376-9T>G → in-frame exon skipping**

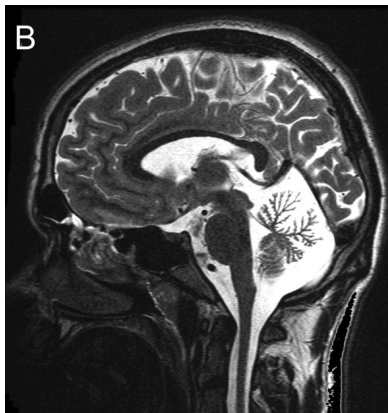


# ARSACS ohne Kleinhirnatrophie

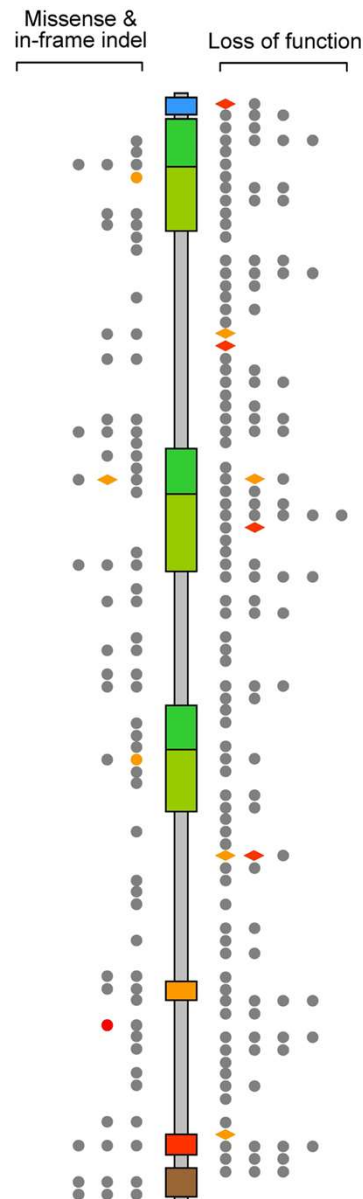
## ARSACS - klassischer Phänotyp:

- Biallelische SACS-Mutationen
- Zerebelläre Ataxie u. Atrophie
- PBZ, Spastik
- Neuropathie
- Blasenfunktionsstörung

Engert *et al.*, Nat Genet 2000;24:120-5

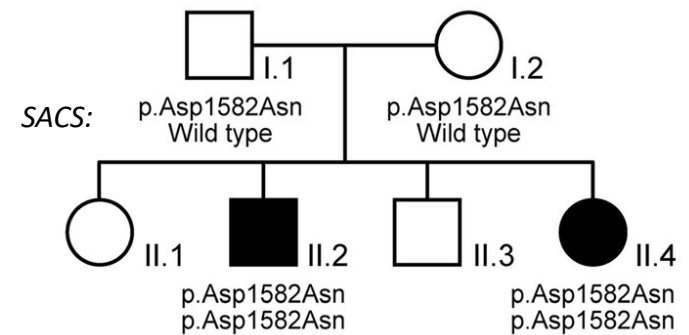


Gerwig *et al.*, Neurology 2010;75: 2133



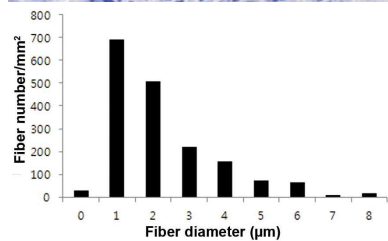
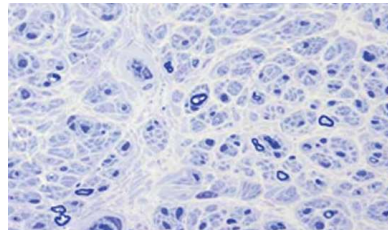
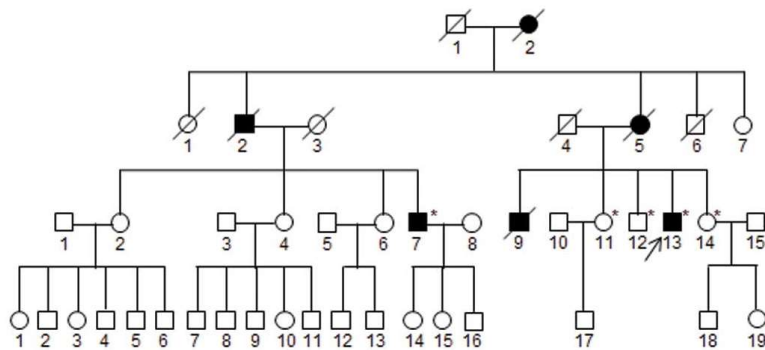
## NP2055 (Italy)

- Axonale Neuropathie
- Keine Kleinhirnzeichen
- Keine PBZ, keine Spastik
- Pes planus



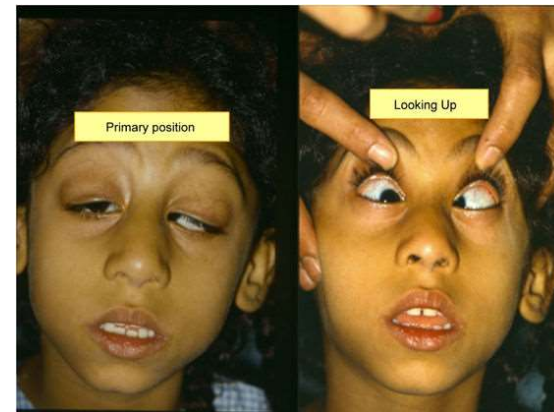
# CFEOM ohne Okulomotorikstörung

## TUBB3-Mutation p.D417N



Hong *et al.*, Mol Med Rep 2015;**11**:2279-34

## TUBB3 – CFEOM-Phänotyp:



### Congenital fibrosis of extraocular muscles

- Autosomal dominant
- Angeboren, nicht progredient
- Variable Ausprägung
- Lidptose
- Eingeschränkte Augenbewegungen
- Oft asymmetrisch
- Einige Patienten zusätzlich PNP
- Andere Mutationen: Polymikrogyrie

## **Wo sind die fehlenden Mutationen?**

Varianten werden zwar erfasst, aber die Interpretation ist unklar.

Varianten werden aufgrund technischer Limitationen nicht erfasst.

Das Gen-Panel beinhaltet nicht alle relevanten Gene.

**Die Qualität der Analyse oder Auswertung ist unzureichend.**

## Wo sind die fehlenden Mutationen?

Varianten werden zwar erfasst, aber die Interpretation ist unklar.

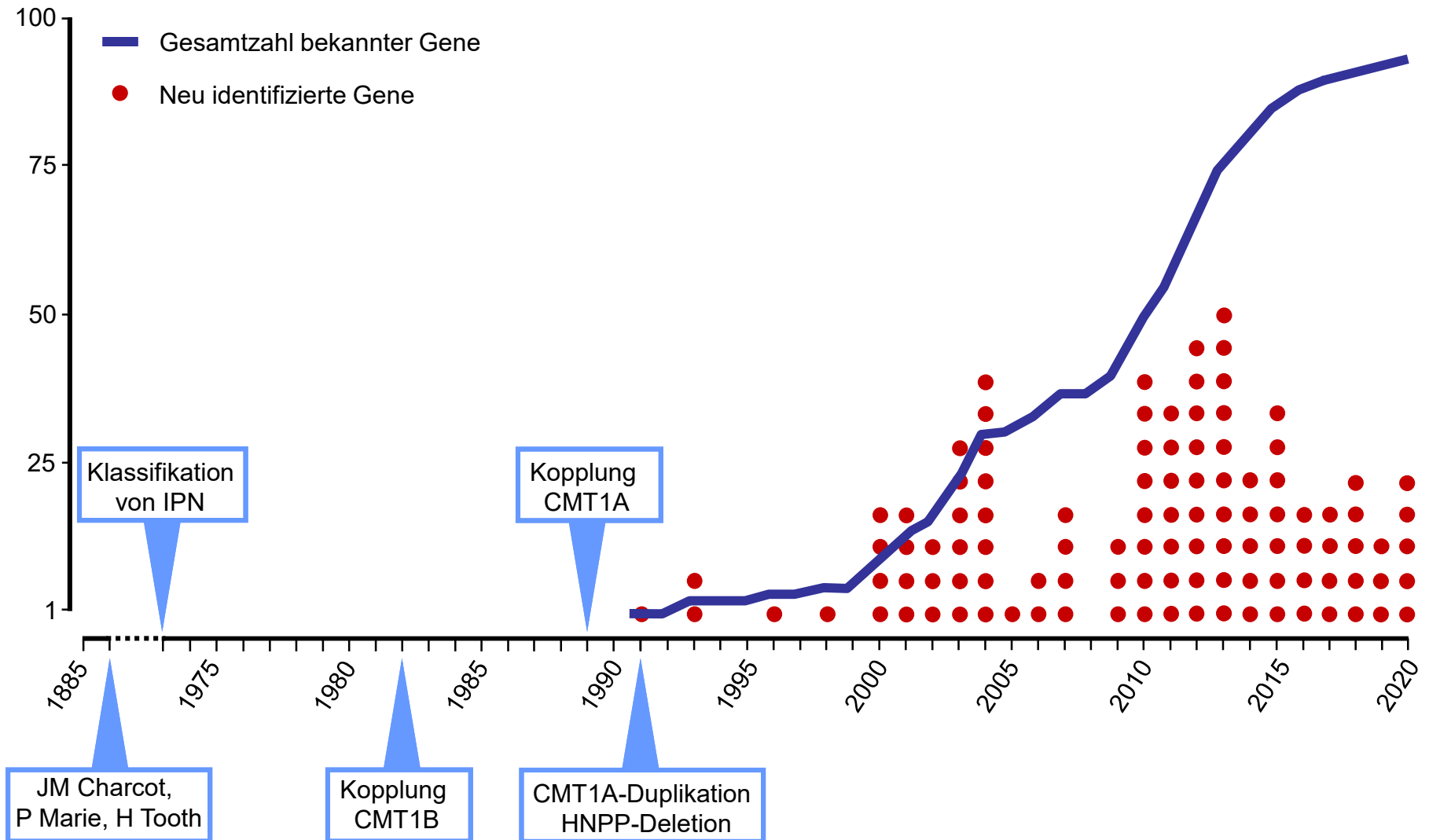
Varianten werden aufgrund technischer Limitationen nicht erfasst.

Das Gen-Panel beinhaltet nicht alle relevanten Gene.

Die Qualität der Analyse oder Auswertung ist unzureichend.

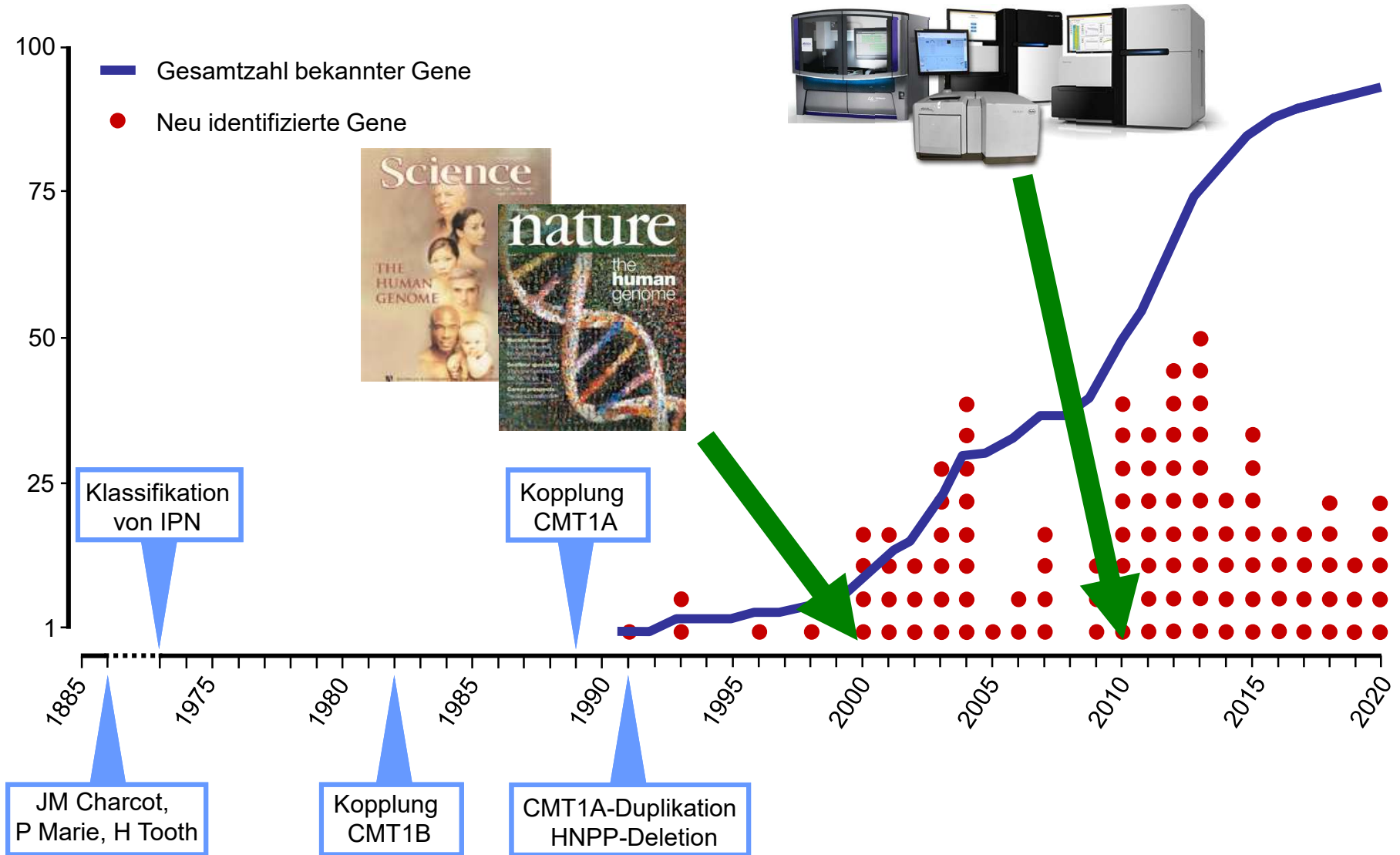
**Mutationen sind in bisher nicht identifizierten Krankheitsgenen.**

# Erbliche Neuropathien: Genidentifizierung

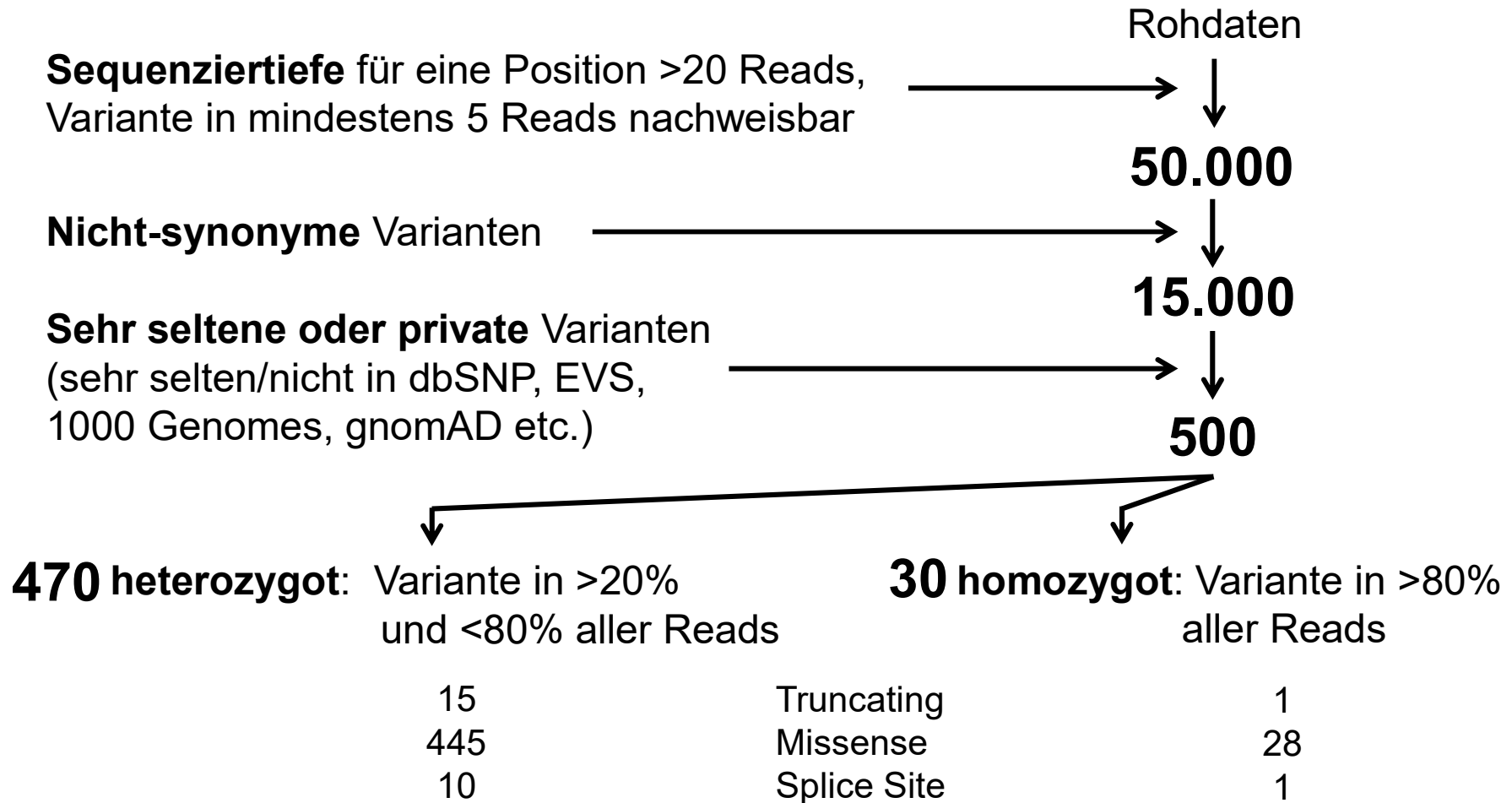




# Hereditäre Neuropathien: Genidentifizierung



# Auswertung von WES-Daten



# Strategien zur Identifizierung von Krankheitsgenen

## Funktionelle Kandidatengene

Kopplungsanalyse in großen Familien

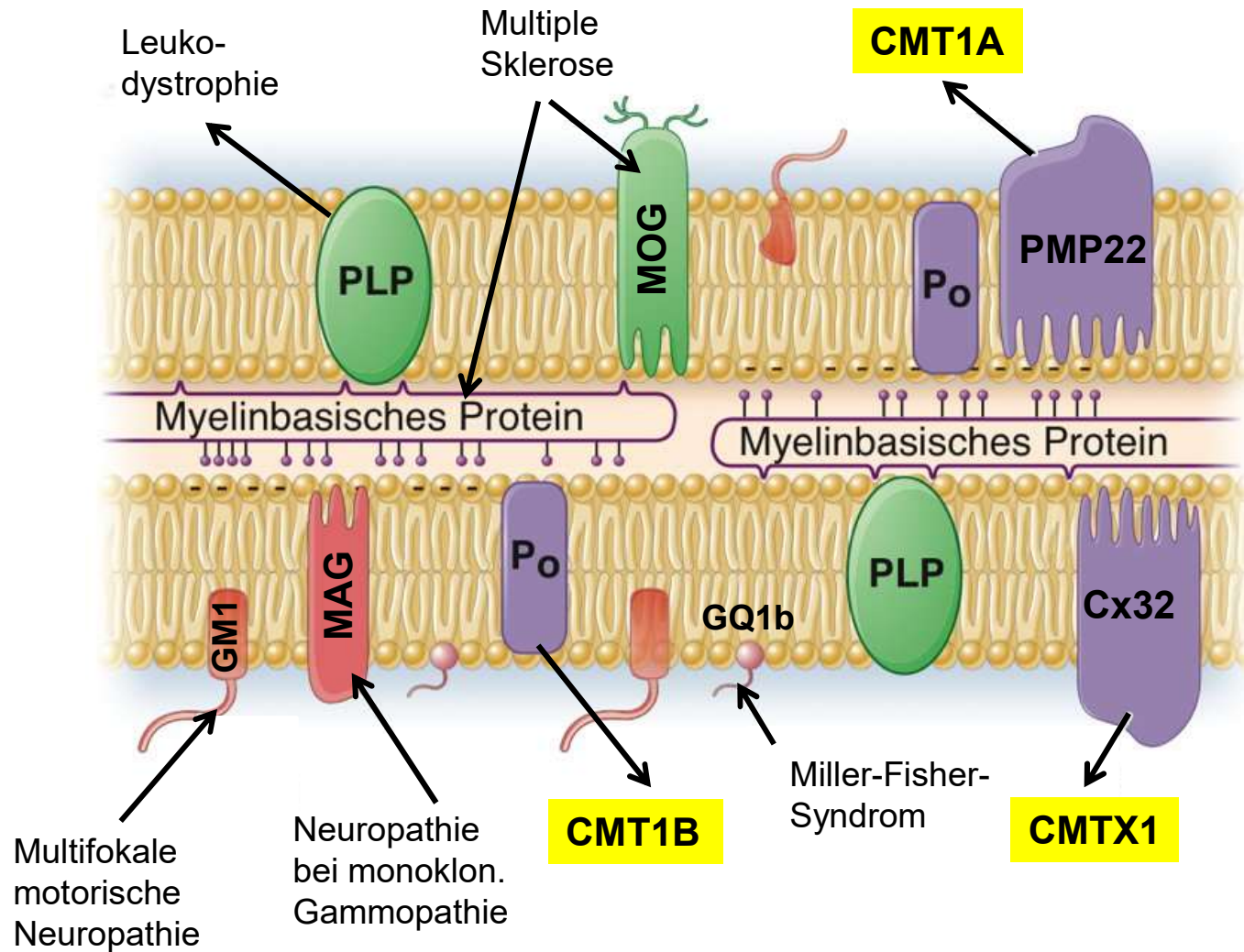
Homozygotiekartierung

Überlappende Mutationen in kleinen Familien

*De novo*-Mutationen

Häufigkeit von Varianten bei Patienten vs. Kontrollen

# Demyelinisierende Neuropathien: Myelinproteine

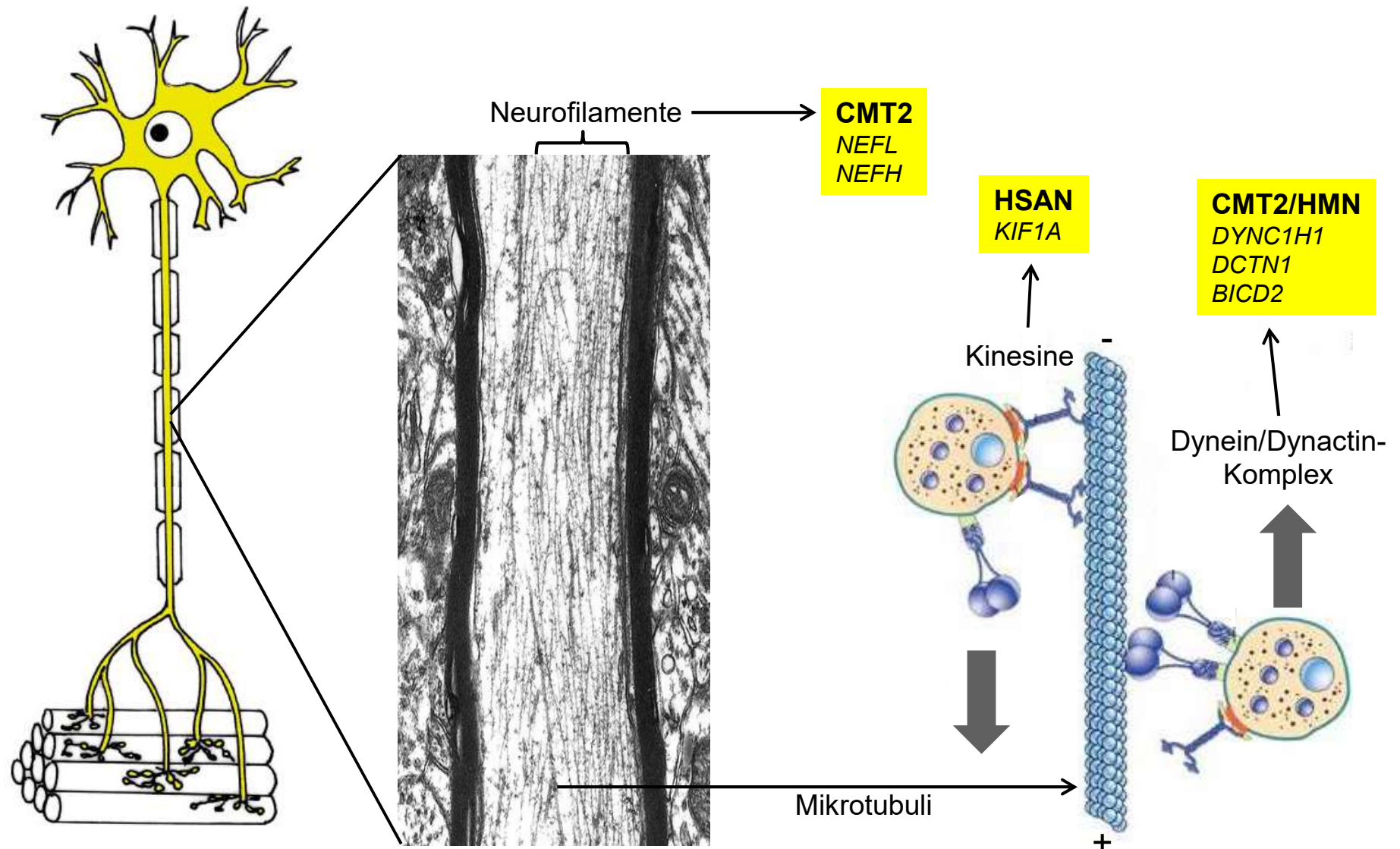


Nur im ZNS-Myelin

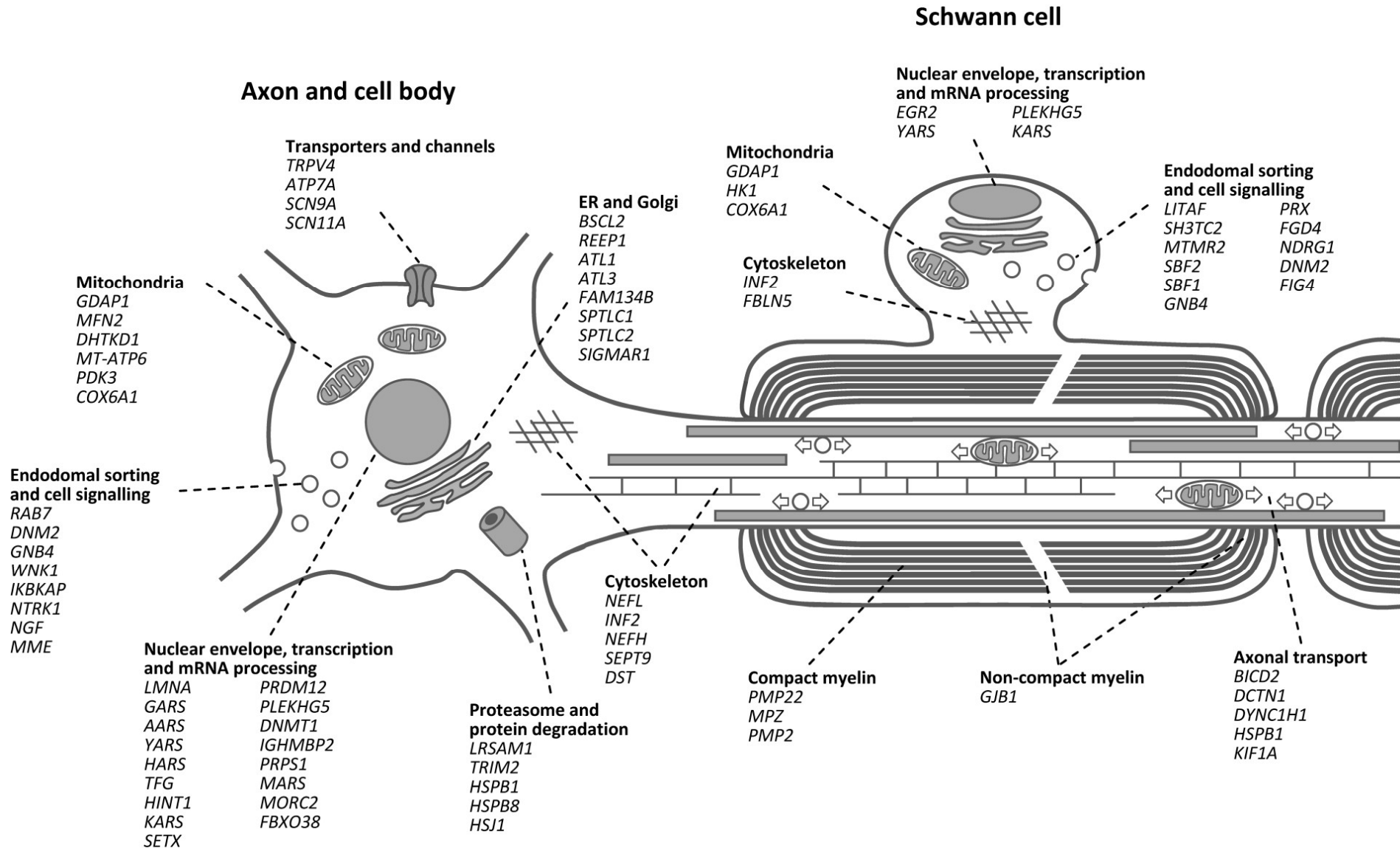
Nur im PNS-Myelin

ZNS- und PNS-Myelin

# Axonale Neuropathien: Axonskelett und Transport



# Funktion der Genprodukte von CMT-Genen



## **Strategien zur Identifizierung von Krankheitsgenen**

Funktionelle Kandidatengene

### **Kopplungsanalyse in großen Familien**

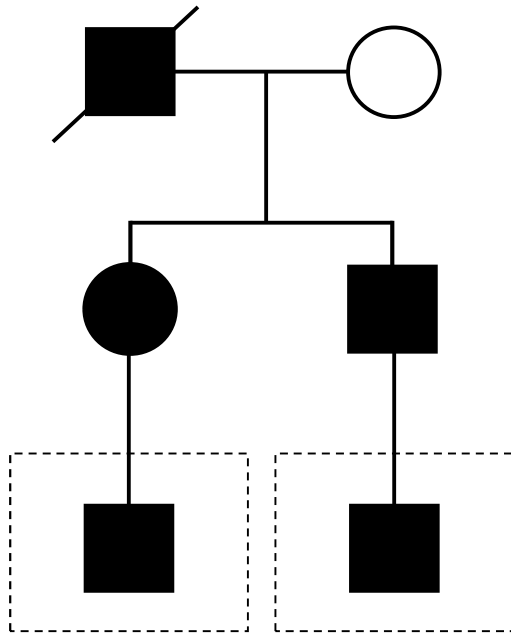
Homozygotiekartierung

Überlappende Mutationen in kleinen Familien

*De novo*-Mutationen

Häufigkeit von Varianten bei Patienten vs. Kontrollen

# Kopplungs-/Linkagestrategie

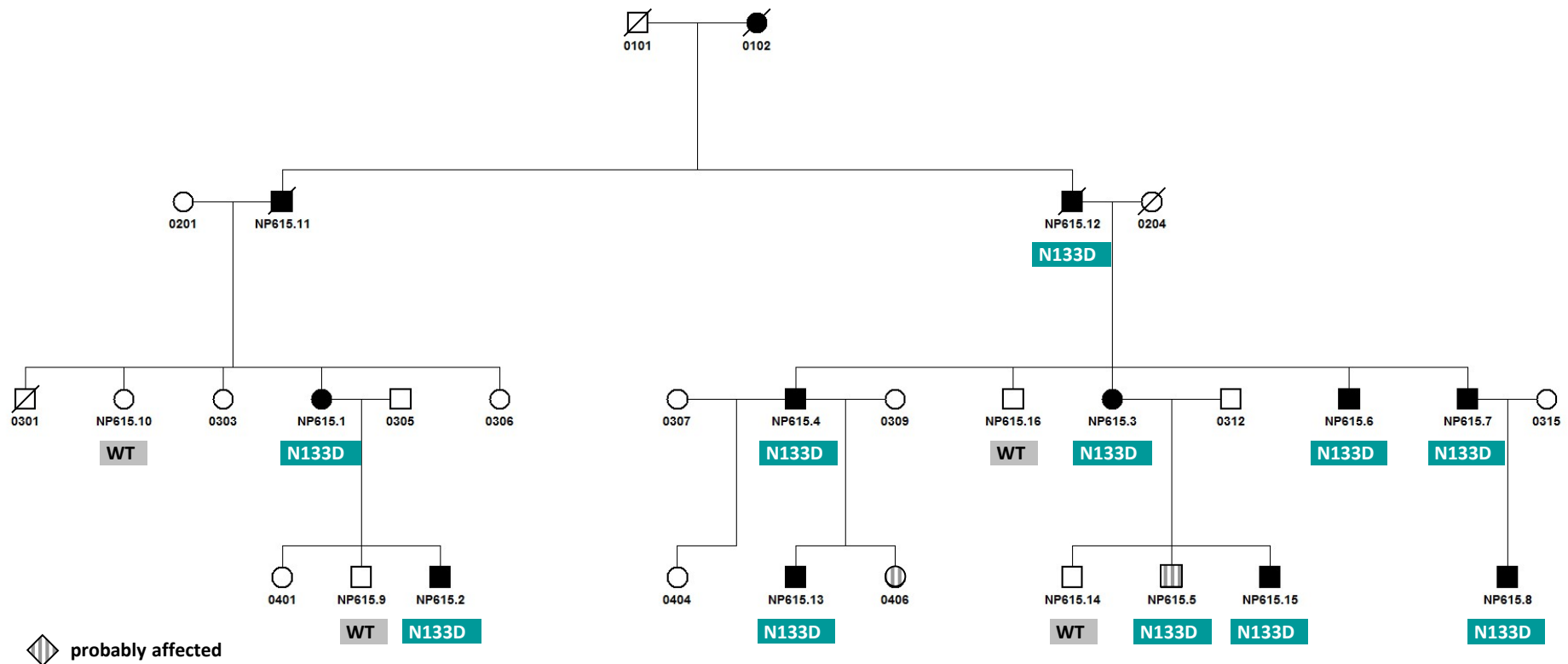


- Mehrere betroffene Familienmitglieder
- Überlappende Varianten bei zwei oder mehr Erkrankten
- Erwartet: hier (Cousins 1. Grades) ca. 20-60 gemeinsame Varianten



## Familie NP615: *ACTR1A*-Variante p.Asn133Asp

- Autosomal dominante CMT2
- Beginn 2.-3. Dekade
- Variante nicht in gnomAD, EVS, 1000 genomes

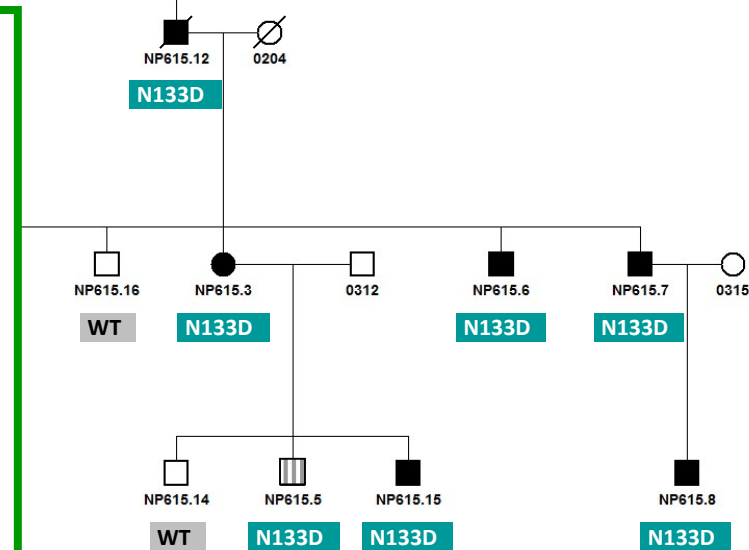
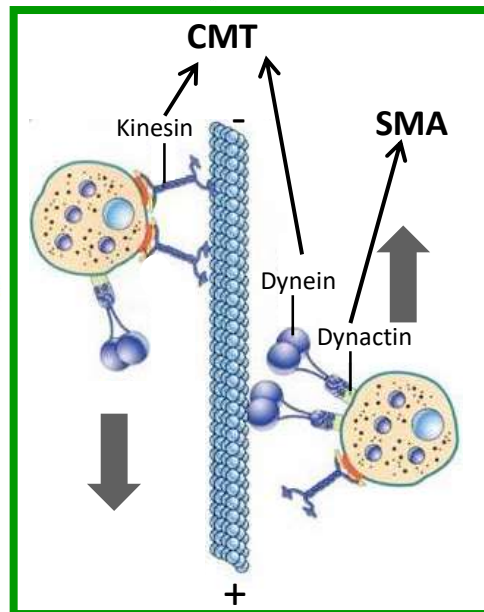
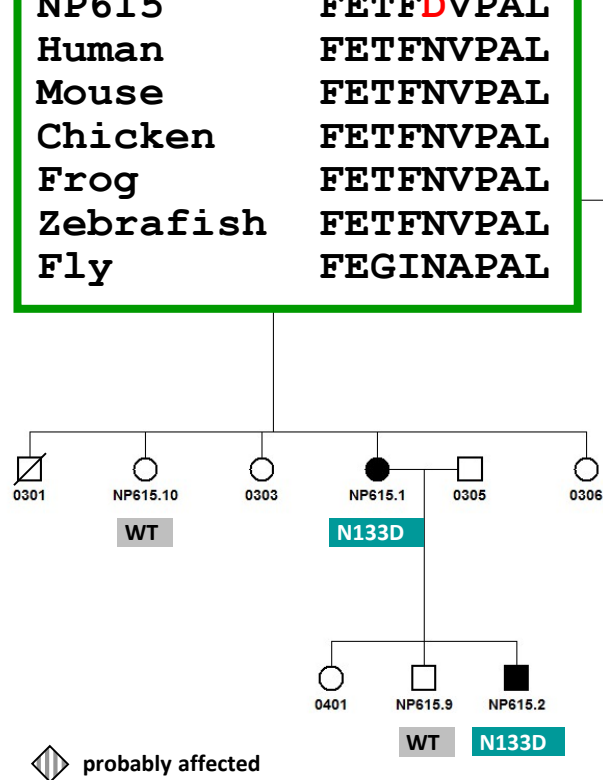


# Familie NP615: *ACTR1A*-Variante p.Asn133Asp

- Autosomal dominante CMT2
- Beginn 2.-3. Dekade
- Variante nicht in gnomAD, EVS, 1000 genomes
- Asn133 ist in der Evolution konserviert
- Änderung der Proteineigenschaften von Algorithmen vorhergesagt
- Bestandteil des Dynactin-Komplexes

NP615	FETF <b>D</b> VPAL
Human	FETFNVPAL
Mouse	FETFNVPAL
Chicken	FETFNVPAL
Frog	FETFNVPAL
Zebrafish	FETFNVPAL
Fly	FETGINAPAL

Algorithmus	Vorhersage
PROVEAN	Damaging
SIFT	Deleterious
Mutation Taster	Disease causing
PolyPhen-2	Possibly damaging



# Familie NP615: *ACTR1A*-Variante p.Asn133Asp

- Autosomal dominante CMT2
- Beginn 2.-3. Dekade
- Variante nicht in gnomAD, EVS, 1000 genomes
- Asn133 ist in der Evolution konserviert
- Änderung der Proteineigenschaften von Algorithmen vorhergesagt
- Bestandteil des Dynactin-Komplexes

Algorithmus	Vorhersage
PROVEAN	Damaging

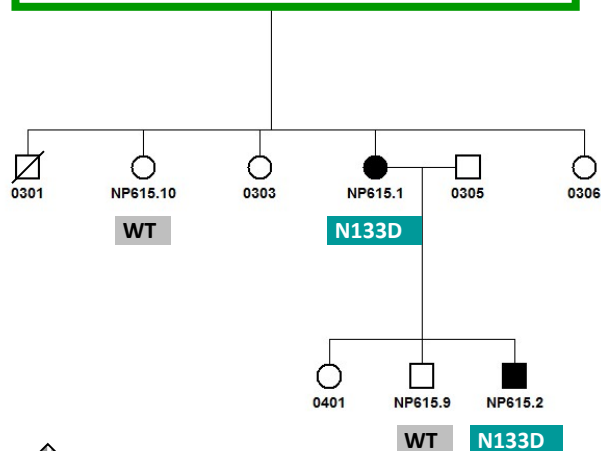
NP615 FETEDVPAL

**Keine weitere CMT-Familie mit *ACTR1A*-Variante** (unser Kollektiv, GeneMatcher, GENESIS, ...)

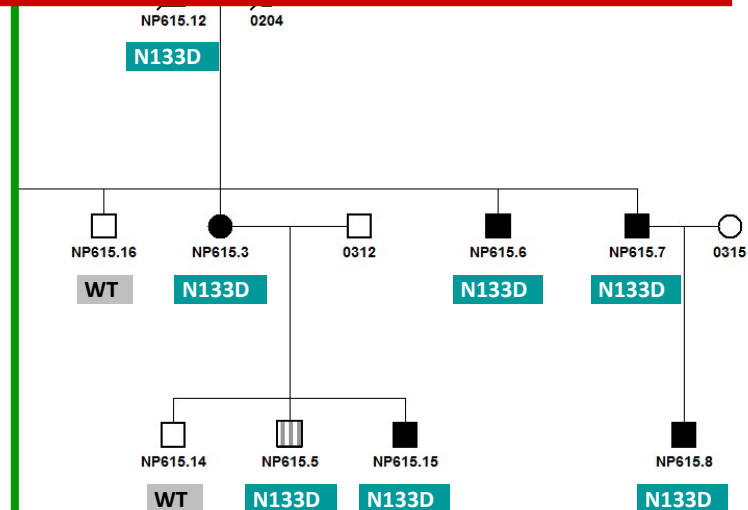
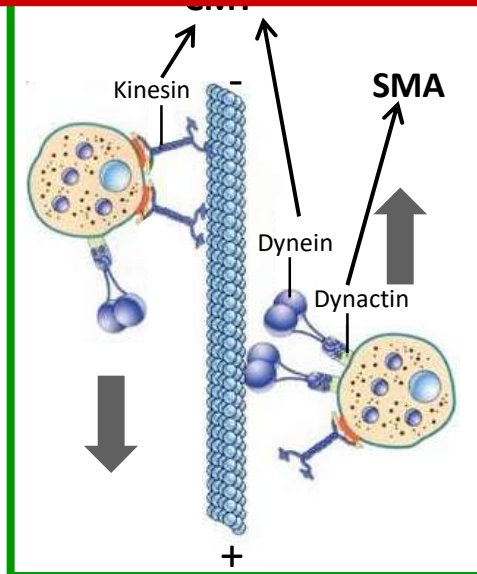
**Keine *ACTR1A*-Variante in einer Familie mit Linkage auf 10q24** (Verhoeven *et al.* 2001)

**Keine Varianten in Dynactin-Komplex-Genen bei CMT-Patienten** (Tey *et al.* 2018)

Fly FEGINAPAL



◊ probably affected



## Strategien zur Identifizierung von Krankheitsgenen

Funktionelle Kandidatengene

Kopplungsanalyse in großen Familien

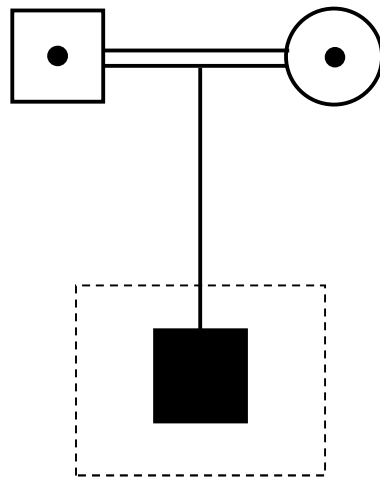
### **Homozygotiekartierung**

Überlappende Mutationen in kleinen Familien

*De novo*-Mutationen

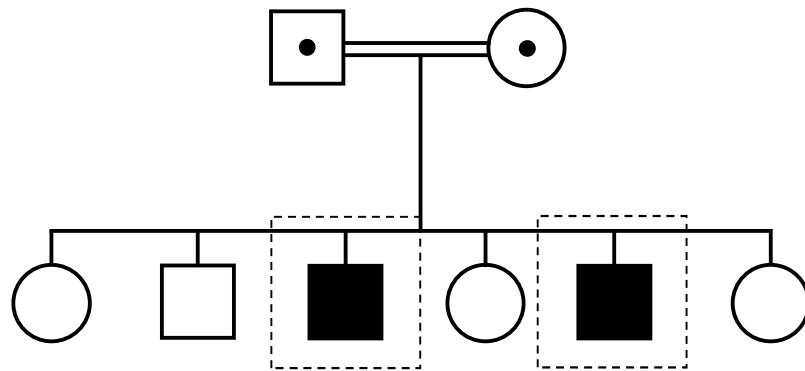
Häufigkeit von Varianten bei Patienten vs. Kontrollen

# Homozygotiestrategie



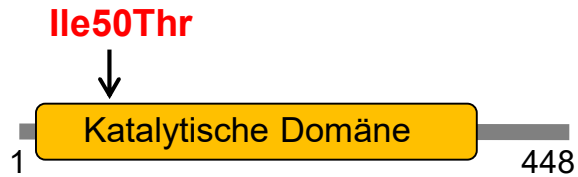
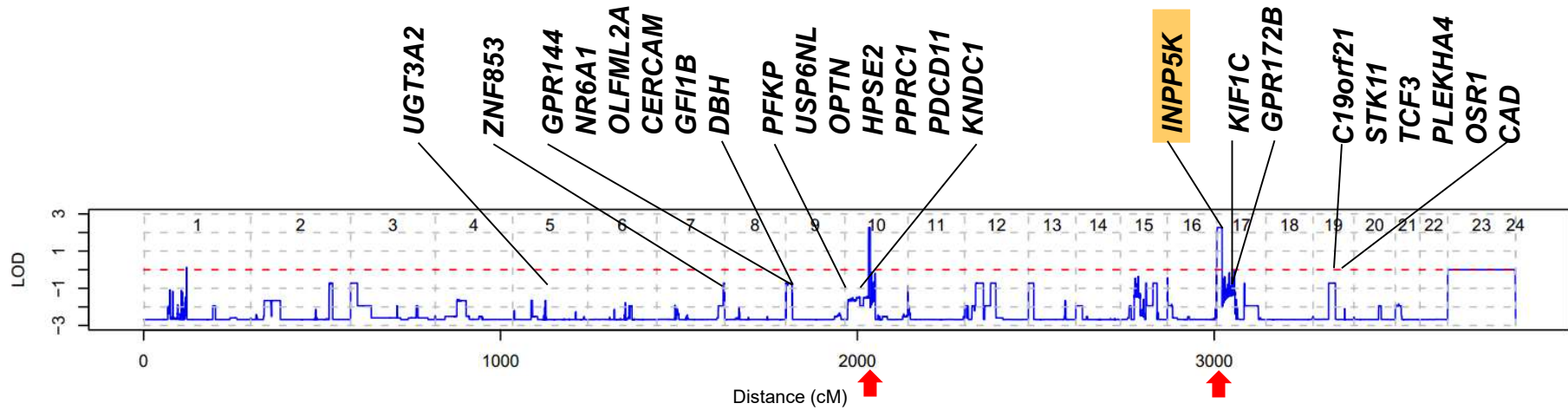
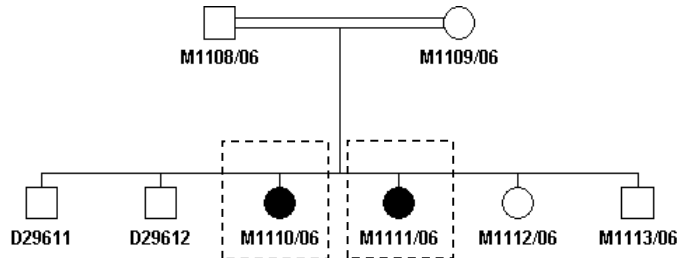
- Rezessive Erkrankung, elterliche Blutsverwandtschaft
- Homozygote Mutation innerhalb eines homozygoten Abschnitts
- Erwartet: ca. 15-20 Varianten

# Homozygotie- und Kopplungsstrategie

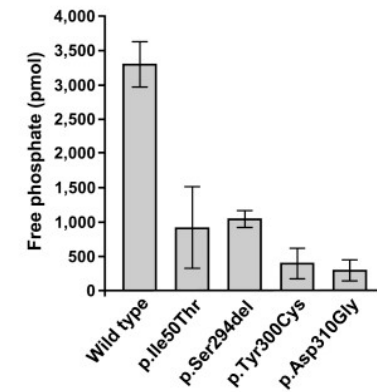


- Rezessive Erkrankung, elterliche Blutsverwandtschaft
- Mehrere betroffene (und ggf. gesunde) Kinder
- Homozygote Mutation in einem homozygoten Abschnitt, den nur die Betroffenen gemeinsam haben
- Erwartet: hier 1-3 Varianten

# Familie MSS16: Muskeldystrophie und Katarakt



Mensch	RN--LNL	DIYV	I	GLOELNSGI
Maus	QN--ANL	DIYI	I	GLOELNSGI
Huhn	QN--ANL	DIYI	I	GLOELNSGI
Frosch	QN--ANL	DIYI	I	GLOELNSGI
Zebrafisch	QN--ANL	DIYI	I	GLOELNSGI



# Strategien zur Identifizierung von Krankheitsgenen

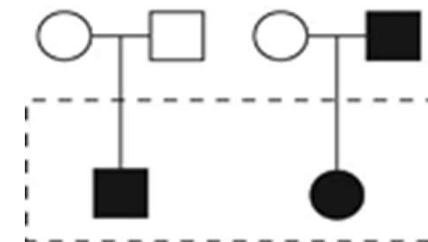
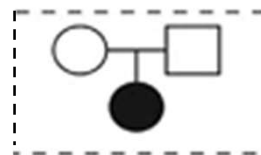
Funktionelle Kandidatengene

Kopplungsanalyse in großen Familien

Homozygotiekartierung

## Überlappende Mutationen in kleinen Familien

*De novo*-Mutationen





## **Strategien zur Identifizierung von Krankheitsgenen**

Funktionelle Kandidatengene

Kopplungsanalyse in großen Familien

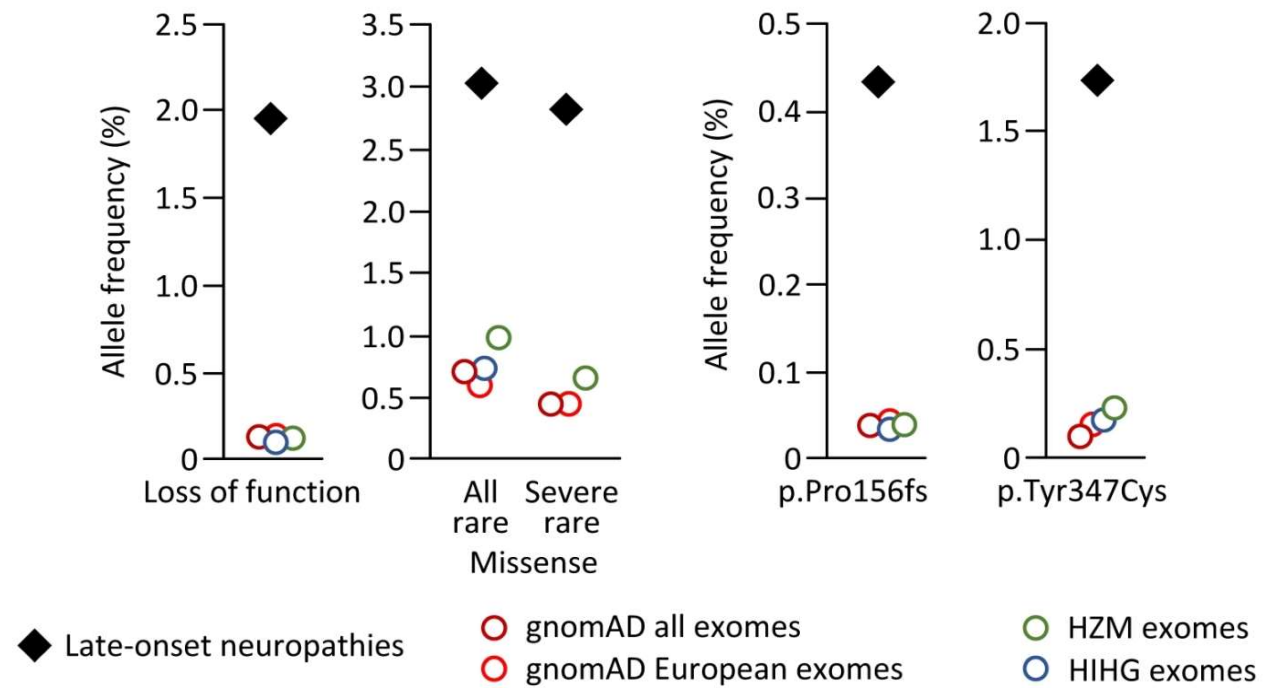
Homozygotiekartierung

Überlappende Mutationen in kleinen Familien

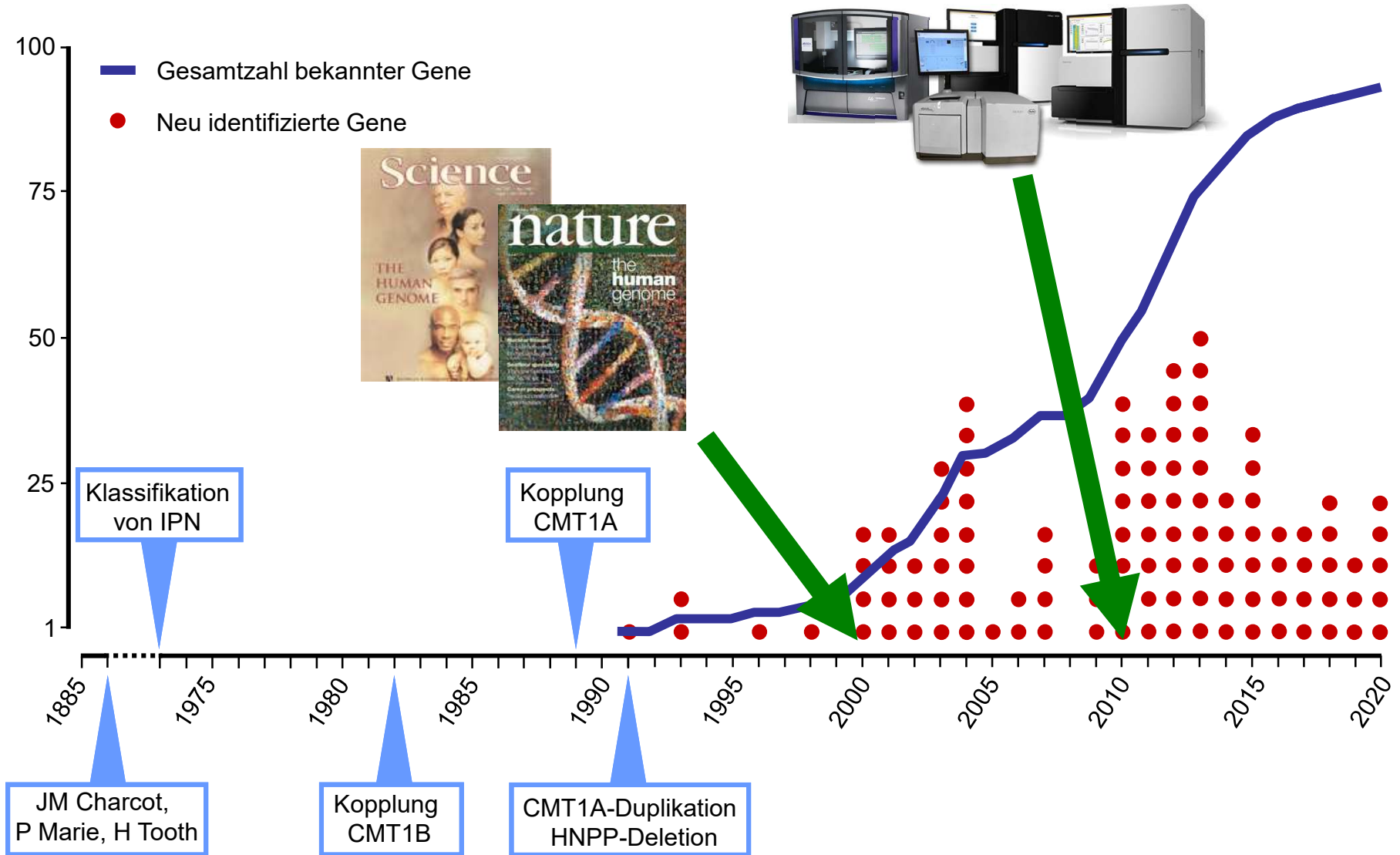
*De novo*-Mutationen

**Häufigkeit von Varianten bei Patienten vs. Kontrollen**

## MME-Varianten bei Patienten und Kontrollen



# Hereditäre Neuropathien: Genidentifizierung



## Genidentifizierung bei CMT: Schwierigkeiten und Lösungsansätze

nicht beurteilbare/nicht erfasste Varianten

Vererbung nicht immer eindeutig

Kandidatengen-Ansatz wenig aussichtsreich

sehr seltene (“private“) Gene

umfangreiche „follow-up“-Untersuchungen

Zielzellen/-gewebe nicht verfügbar

Tiermodelle (Maus) oft nicht aussagekräftig

Rekrutierung von Patienten schwierig

## Genidentifizierung bei CMT: Schwierigkeiten und Lösungsansätze

nicht beurteilbare/nicht erfasste Varianten

technologische Verbesserungen,  
Datenbanken, Expertenwissen

Vererbung nicht immer eindeutig

unvollständige Penetranz/  
variable Expressivität berücksichtigen

Kandidatengen-Ansatz wenig aussichtsreich

sehr seltene (“private“) Gene

umfangreiche „follow-up“-Untersuchungen

Zielzellen/-gewebe nicht verfügbar

Tiermodelle (Maus) oft nicht aussagekräftig

Rekrutierung von Patienten schwierig

## Genidentifizierung bei CMT: Schwierigkeiten und Lösungsansätze

nicht beurteilbare/nicht erfasste Varianten	technologische Verbesserungen, Datenbanken, Expertenwissen
Vererbung nicht immer eindeutig	unvollständige Penetranz/ variable Expressivität berücksichtigen
Kandidatengen-Ansatz wenig aussichtsreich	Modellierung von Proteinnetzwerken
sehr seltene (“private“) Gene	internationale Kooperation, „genetic matchmaking“
umfangreiche „follow-up“-Untersuchungen	
Zielzellen/-gewebe nicht verfügbar	
Tiermodelle (Maus) oft nicht aussagekräftig	
Rekrutierung von Patienten schwierig	

# Genidentifizierung bei CMT: Schwierigkeiten und Lösungsansätze

nicht beurteilbare/nicht erfasste Varianten	technologische Verbesserungen, Datenbanken, Expertenwissen
Vererbung nicht immer eindeutig	unvollständige Penetranz/ variable Expressivität berücksichtigen
Kandidatengen-Ansatz wenig aussichtsreich	Modellierung von Proteinnetzwerken
sehr seltene (“private“) Gene	internationale Kooperation, „genetic matchmaking“
umfangreiche „follow-up“-Untersuchungen	Kooperationen mit Experten im jeweiligen Feld
Zielzellen/-gewebe nicht verfügbar	
Tiermodelle (Maus) oft nicht aussagekräftig	
Rekrutierung von Patienten schwierig	

# Genidentifizierung bei CMT: Schwierigkeiten und Lösungsansätze

nicht beurteilbare/nicht erfasste Varianten	technologische Verbesserungen, Datenbanken, Expertenwissen
Vererbung nicht immer eindeutig	unvollständige Penetranz/ variable Expressivität berücksichtigen
Kandidatengen-Ansatz wenig aussichtsreich	Modellierung von Proteinnetzwerken
sehr seltene (“private“) Gene	internationale Kooperation, „genetic matchmaking“
umfangreiche „follow-up“-Untersuchungen	Kooperationen mit Experten im jeweiligen Feld
Zielzellen/-gewebe nicht verfügbar	iPSC, Genomeditierung
Tiermodelle (Maus) oft nicht aussagekräftig	zelluläre Assays
Rekrutierung von Patienten schwierig	



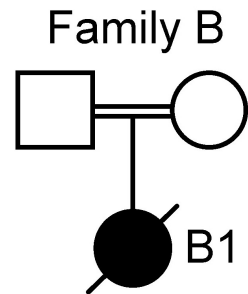
# Genidentifizierung bei CMT: Schwierigkeiten und Lösungsansätze

nicht beurteilbare/nicht erfasste Varianten	technologische Verbesserungen, Datenbanken, Expertenwissen
Vererbung nicht immer eindeutig	unvollständige Penetranz/ variable Expressivität berücksichtigen
Kandidatengen-Ansatz wenig aussichtsreich	Modellierung von Proteinnetzwerken
sehr seltene (“private“) Gene	internationale Kooperation, „genetic matchmaking“
umfangreiche „follow-up“-Untersuchungen	Kooperationen mit Experten im jeweiligen Feld
Zielzellen/-gewebe nicht verfügbar	iPSC, Genomeditierung
Tiermodelle (Maus) oft nicht aussagekräftig	zelluläre Assays
Rekrutierung von Patienten schwierig	bessere Einbindung/Information der Patienten

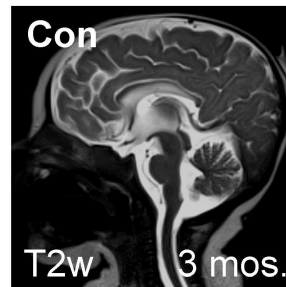
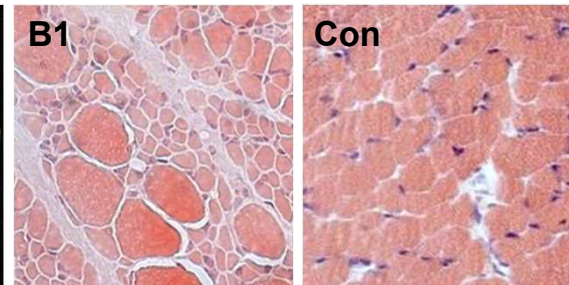
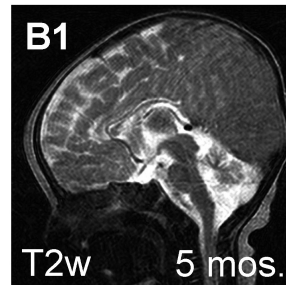




# CCP1: Kleinhirnatrophie und motorische Neuropathie



- Kleinhirnatrophie
- Motorische Neuropathie
- Ernährungsprobleme
- Tetraplegie
- Massive motor. Entwicklungsverzögerung
- Mit 16 Monaten verstorben
- *EXOSC3* (PCH1): Keine Mutation

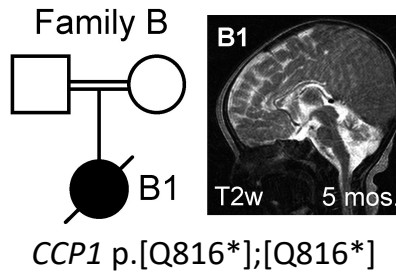
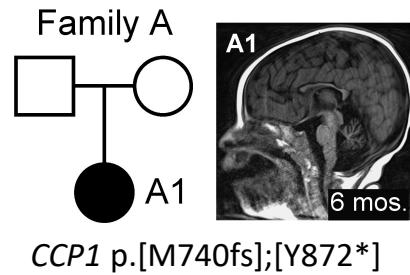


		<b>B1 (11 mos.)</b>
MNCV /	Median	30 m/s / <b>0.4 mV</b>
CMAP	Tibial	<b>18 m/s / 0.1 mV</b>
EMG	M. tib. ant.	pathological spontaneous activity, polyphasic MUPs

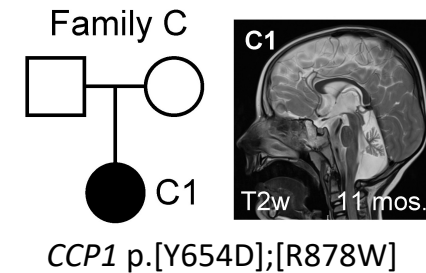
**WES: Homozygote *CCP1*-Variante c.2446C>T (p.Gln816\*)**

# Rekrutierung weiterer Familien

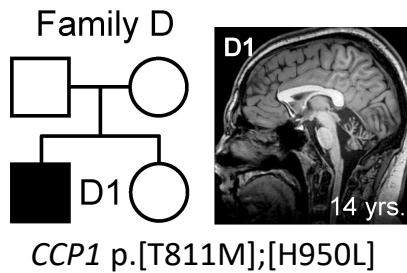
V. Shashi, Duke University (USA)



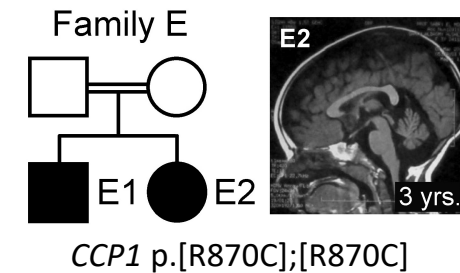
E. Kamsteeg, Radboud University (NL)



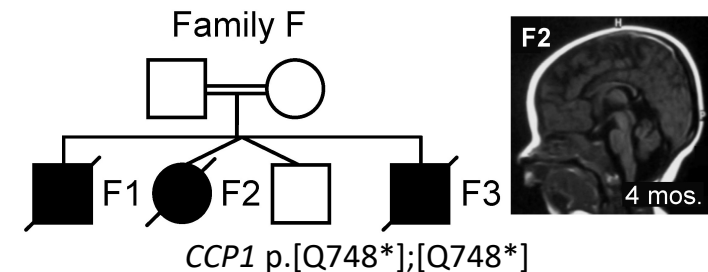
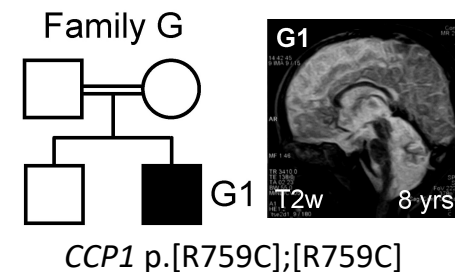
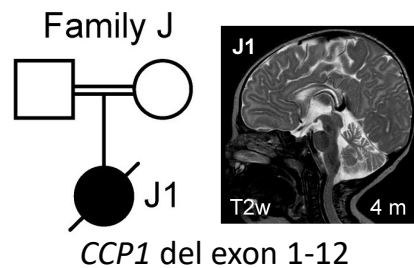
C. Bönnemann, NIH (USA)



J. Gleason, University of California (USA)

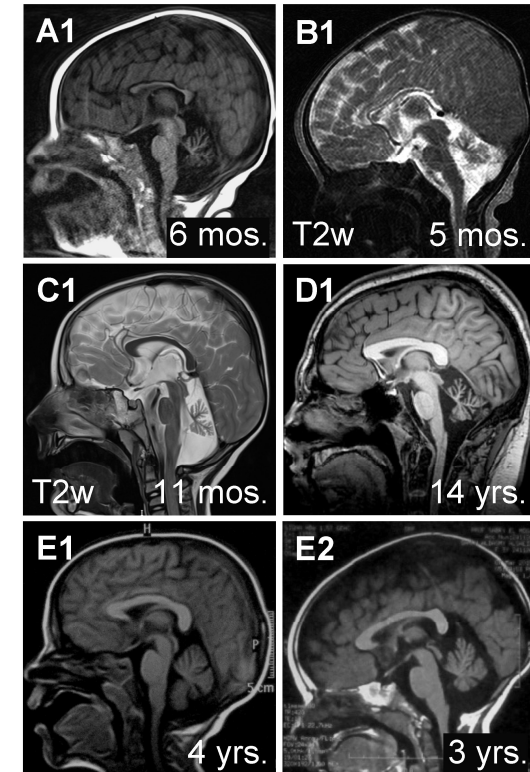
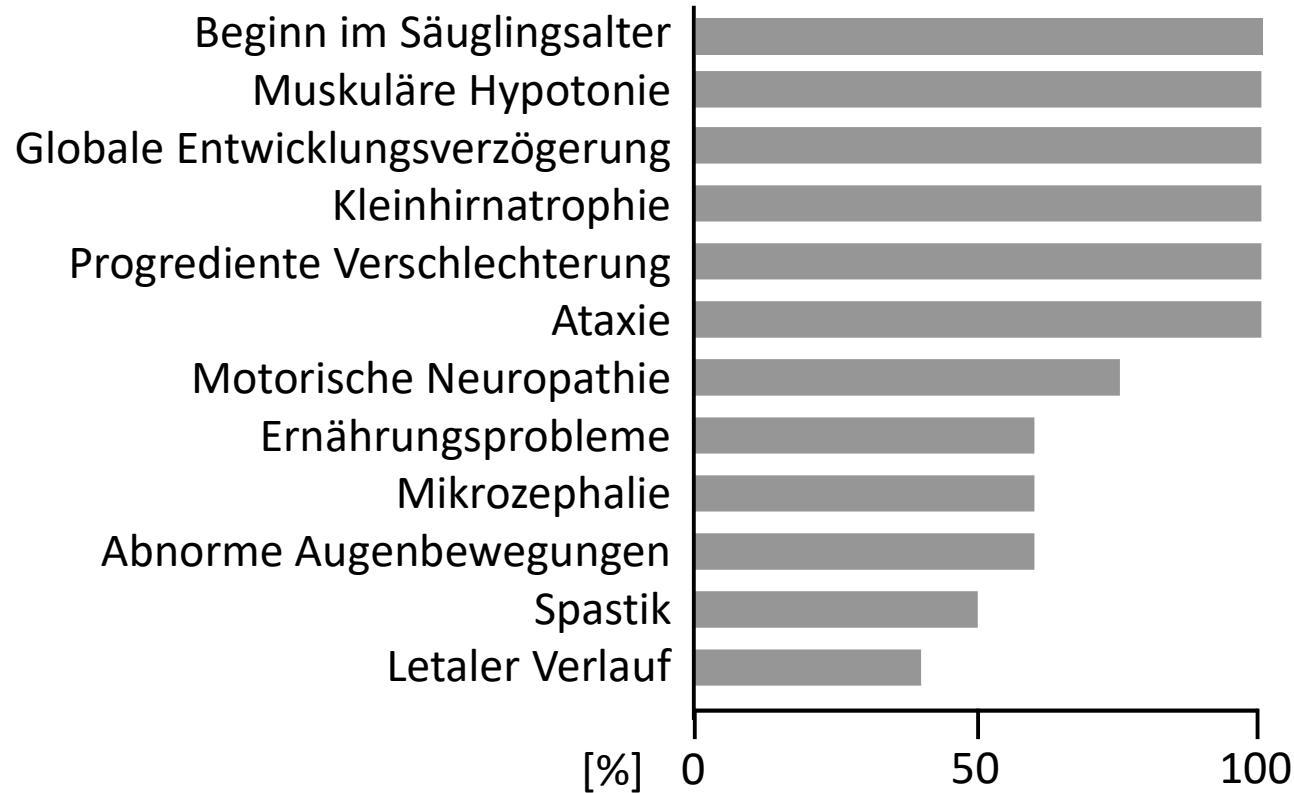


V. Capra, Istituto G. Gaslini (Italy)



Shashi *et al.*, EMBO J 2018;**37**:e100540

## Klinische Befunde bei Kindern mit biallelischen *CCP1*-Varianten



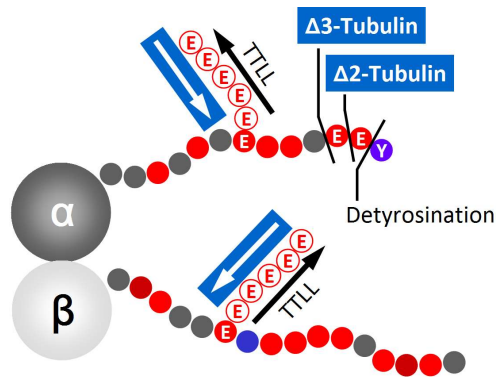
### Schwer:

- lebensbedrohlich kranke Säulinge
- einige letaler Ausgang
- massive globale Entwicklungsverzögerung
- zusätzliche Hirnpathologie

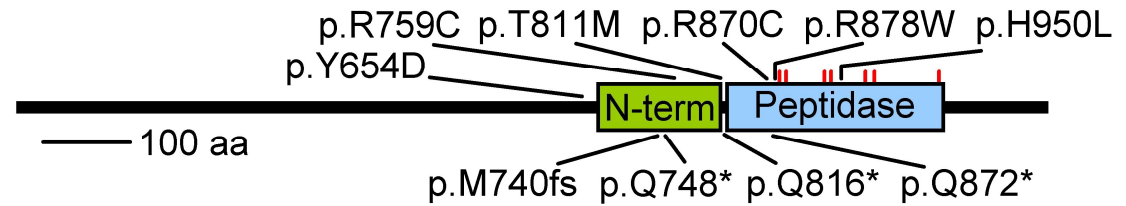
### “Mild”:

- längeres Überleben (bis zu > 14 Jahre)
- spastisch-ataktische Bewegungsstörung
- motor. Entwicklung variabel verzögert
- variable mentale Einschränkungen

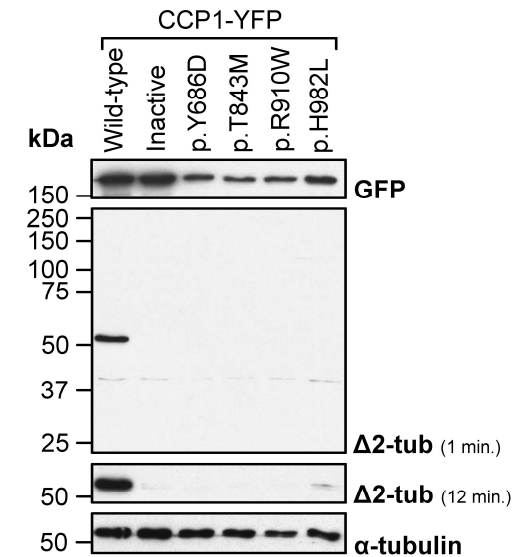
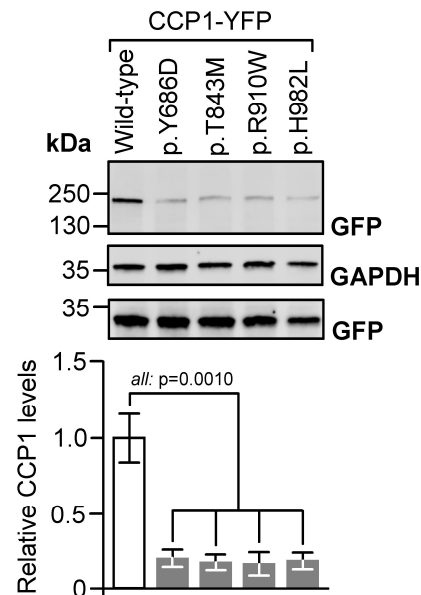
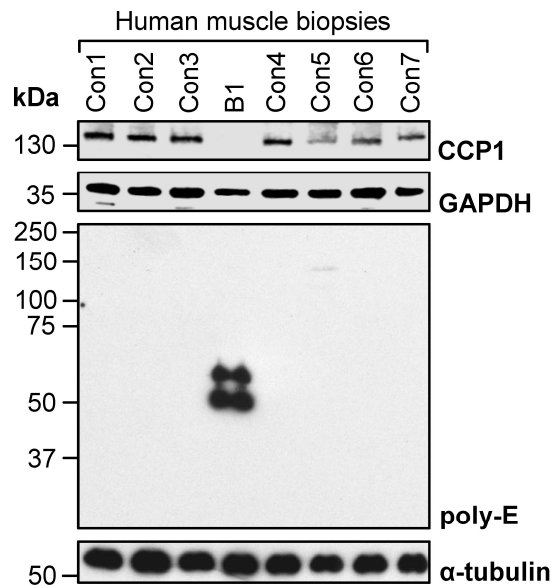
# Auswirkungen der Mutationen auf das CCP1-Protein



Janke *et al.*, Science 2005  
 van Dijk *et al.*, Mol Cell 2007  
 Rogowski *et al.*, Cell 2009  
 Rogowski *et al.*, Cell 2010  
 Tort *et al.*, Mol Biol Cell 2014

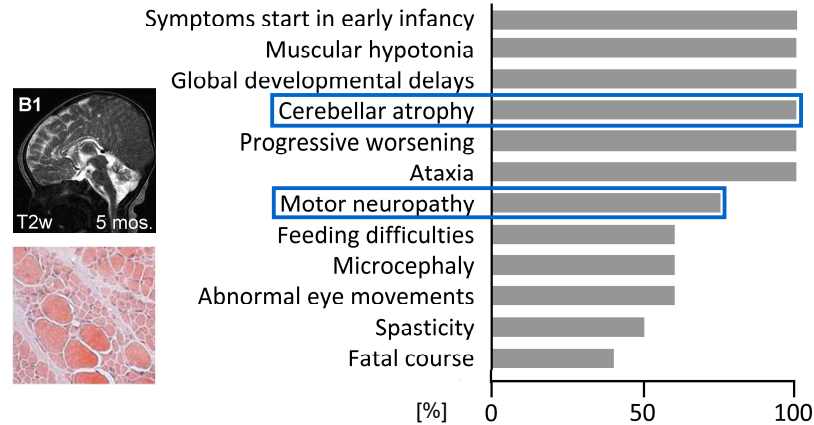


Species	654	759	811	870	878	950
Human	IDRVVYDLDNP	RPWWIRMGTDI	YHYPYTYSTLQ	CHFRNRPYVFLSARVHPGE	PSPDLHPTIYH	
Mouse	IDRVVYDLDNP	RPWWIRMGTDI	YHYPYTYSTLQ	CQFRTRPYIFLSARVHPGE	PNPDLHPTIYH	
Chicken	IDRVVYDLDNS	RPSWTRVGTDI	YHYPYTYSTLK	CQFRNRPYIFLSARVHPGE	PNPDLHPTIYH	
Frog	IDRVIYDLDNP	RPWWYRVGTDI	YHYPYTYSTLK	YQFRNRPYIFLTSRVHPGE	PNSDLHSTIYH	
Fish	LDKVVYDLDNQ	SPHWVRTGSDI	YHYPYTYSMK	SQFRSRPVIFLSARVHPGE	PNAELHPTIYH	
Worm	SNQVIYDLDTA	---WRRVGENV	YHYPYTYSTLN	AEIAAREVIVLSARVHPGE	PNEALHPEVFA	
Insect	TPEVVYDLDAI	RPGWVRTGADI	YHFPYTYSLLM	NPIQNRKMIFLTSTRVHPGE	PNQVLHPVIYH	

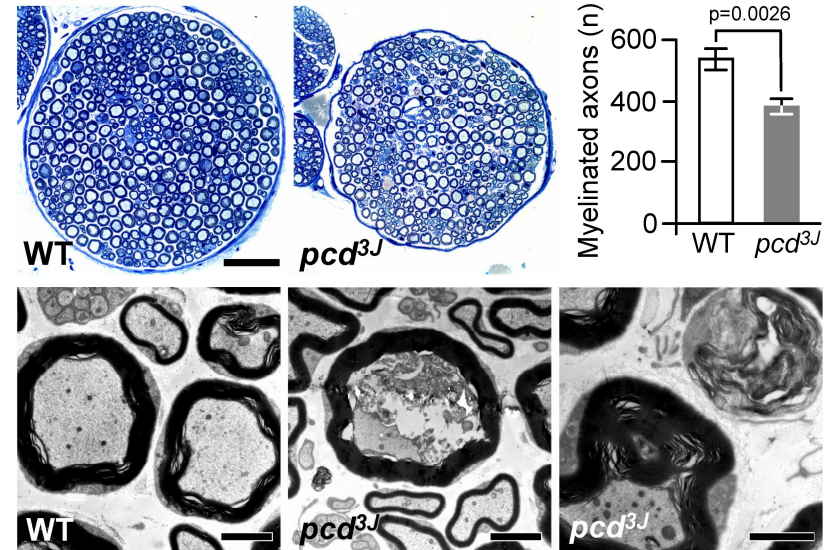


# *Pcd<sup>3J</sup>*-Mäuse sind ein Modell der humanen Erkrankung

## Symptoms and signs in human patients

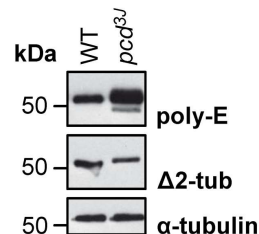
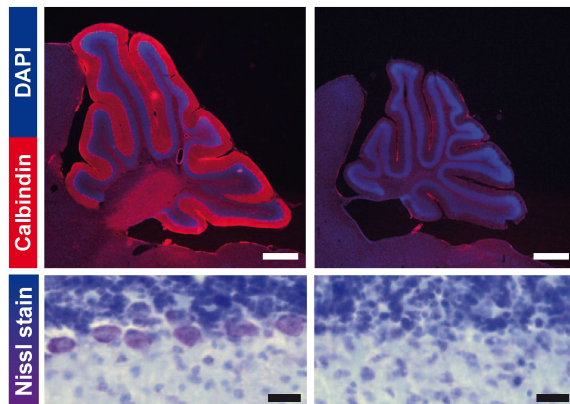


## Femoral nerve (motor branch)



Wild type

*pcd<sup>3J</sup>*



## Lumbar spinal cord

