

Hereditárne polyneuropatie – genetické príčiny, klinická manifestácia, diagnostika a terapia

Ján Chandoga¹, Peter Špalek², Katarína Lexová Kolejáková¹,
Marcel Repiský¹, Ivan Martinka²

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky; Expertízne pracovisko so zameraním na molekulárnu a biochemickú genetiku zriedkavých metabolických a vybraných genetických chorôb, Nemocnica Staré Mesto, Bratislava

²Národné expertízne centrum pre zriedkavé neuromuskulárne ochorenia, Neurologická klinika SZU a UNB, Univerzitná Nemocnica Bratislava – Ružinov

Hereditárne polyneuropatie (hPNP) predstavujú klinicky a geneticky heterogénnu skupinu ochorení. Ich prevalencia je 17-40/100.000 populácie. Najčastejšia forma má názov Charcot-Marie-Tooth (CMT) alebo hereditárna motorická a senzitivná neuropatia (HMSN). Najčastejší typ dedičnosti je autozómovo dominantný, ale vyskytujú sa aj formy s autozómovo recesívnym typom dedičnosti a s dedičnosťou viazanou na X-chromozóm. U väčšiny hPNP sa klinické príznaky manifestujú v prvej a druhej dekáde. Patria k nim slabosť a atrofie distálneho svalstva dolných končatín (najmä peroneálne atrofie a slabosť), deformity nohy – pes cavus, skrútené Achillove šľachy, obligátna šľachovookosticová areflexia na dolných končatinách a pančuškovitý typ poruchy citlivosti. Elektrofyziologické nálezy klasifikujú CMT na 2 základné typy: typ 1 – demyelinizačný a typ 2 – axonálny. S CMT je asociovaný veľký počet génov, čo podmieňuje vysokú heterogénnosť hPNP. Patogénne varianty v štyroch génoch (PMP22, MPZ, GJB1 a MFN2) spravidla spôsobujú viac ako 90% geneticky potvrdených prípadov CMT. Metodiky Next Generation Sequencing (NGS) rozšírili a súčasne zjednodušili diagnostický prínos v identifikovaní génov/molekúl, ktoré spôsobujú alebo sú asociované s CMT. Vo výskume ochorení sa venuje výrazná pozornosť hPNP modifikujúcim terapiám so zameraním na patogénne varianty v uvedených 4 génoch. V symptomatickej liečbe hPNP majú významnú úlohu rehabilitácia, ortézy a ortopedická liečba. **Kľúčové slová:** hereditárne polyneuropatie, CMT, formy dedičnosti, klinická symptomatológia, EMG, molekulárna genetická diagnostika, liečba

Hereditary polyneuropathies – genetic causes, clinical manifestation, diagnostics and treatment

Hereditary neuropathies (HN) are clinically and genetically heterogeneous group of diseases. The prevalence is approximately 17-40 per 100.000 population. The most frequent form is called Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) or hereditary motor and sensitive neuropathy (HMSN). The most common inheritance pattern is autosomal dominant, though there are also autosomal recessive subtypes and X-linked heredity. In most cases, the clinical symptoms appear in the 1st and 2nd decade and include atrophy and weakness of lower limb muscles (peroneal atrophy), the pes cavus deformity of the foot with a shortened Achilles tendon, areflexia in the lower limbs and the stocking type sensory disorder. The basic classification of HN is based on electrophysiological studies which classify CMT disease into two basic types: type no. 1 – demyelinating and type no. 2 – axonal. There are a myriad of genes associated with CMT, reflecting the heterogeneity of this disorder. Pathogenic variants in four genes (PMP22, MPZ, GJB1, MFN2) comprise over 90% of genetically confirmed cases of CMT. Next generation sequencing (NGS) methods have expanded and simplified the diagnostic yield of genes/molecules underlying, and/or associated with, CMT. Considerable research attention for disease-modifying therapy has been geared towards the most commonly pathogenic variants in these four genes. Rehabilitation, prosthetic and orthopedic treatment are important in symptomatic management of HN.

Keywords: hereditary polyneuropathies, CMT, inheritance patterns, clinical manifestation, EMG, molecular genetic diagnostics, treatment

Neurológia 2022; 17 (2): 79-88

Úvod

Hereditárne polyneuropatie (hPNP) predstavujú významnú časť geneticky podmienených ochorení nervového systému. Nové diagnostické prístupy charakteru sekvenovania novej generácie (next generation sequencing – NGS) zásadne ovplyvnili poznanie genetických príčin hPNP. Vďaka aplikácii tejto molekulárno-genetickej diagnostiky sme dospeli k poznaniu, že hPNP predstavujú komplex ochorení, ktoré sú spôsobené patogénnymi variantmi prítomnými u viac než 100 génov. Aplikácia NGS istotne napomôže aj k identifikácii genetických variantov,

ktoré môžu modifikovať závažnosť manifestácie týchto ochorení. Nové diagnostické prístupy sú vysoko senzitivne pre určenie korektnej diagnózy, sú časovo a nákladovo vysoko efektívne a súčasne umožňujú skorú aplikáciu vhodnej terapie. Z hľadiska aplikácie diagnostického algoritmu u hPNP bude stále vhodné v prvom kroku analyzovať gény s vysokým výskytom génových patológií.

Tak ako to pozorujeme v súčasnej medicíne pri geneticky podmienených ochoreniach, úzka spolupráca medzi klinickými špecialistami a genetikmi je nevyhnutná pre lekársku prax.

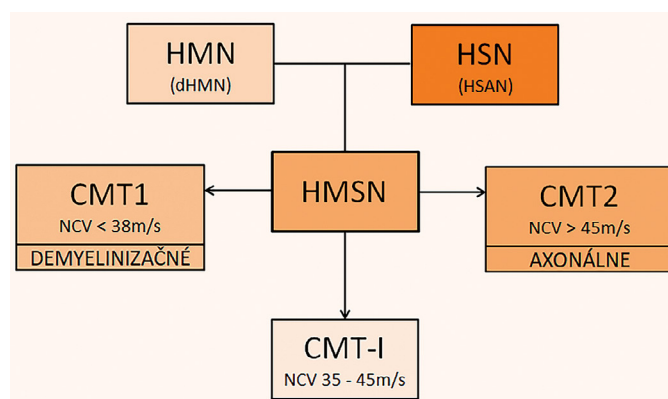
Predkladaný článok je výsledkom autorskej spolupráce genetikov a neuroológov, ktorí sa v SR venujú diagnostike a manažmentu hereditárnych polyneuropatií. Je evidentné, že v posledných rokoch došlo k rozsiahlym a zásadným pokrokom v oblasti molekulárno-genetickej diagnostiky a významne sa prehĺbili a sprecíznilo aj vedomosti o hereditárnych polyneuropatiách. V súčasnosti aplikácia moderných metódik molekulárnej diagnostiky umožňuje potvrdiť diagnózu až u 95 % pacientov s klinicky suspektnými hereditárnymi polyneuropatiami. Významné pokroky v objasnení nových genetických abnormalít a patofyziológie hereditárnych polyneuropatií vedú k vývoju nových terapeutických postupov, ktoré budú perspektívne schopné modifikovať priebeh hereditárnych polyneuropatií a účinne zabraňovať/spomaľovať ich progresívny priebeh.

Formy hereditárnych polyneuropatií a ich klasifikácia

Poznanie hereditárnych polyneuropatií má svoju históriu, v ktorej dominovali postupne klinické, morfológicko-patologické, elektrofyziologické a dnes hlavne molekulárno-genetické prístupy. Je poučné sledovať ako sa naše poznanie hereditárnych PNP vyvíjalo. Pomenovanie choroby Charcot-Marie-Tooth (CMT) je podľa ich objaviteľov – Jean Martin Charcot, Pierre Marie (žiak Charcota) a Howard Henry Tooth, ktorí v roku 1886 po prvý krát nezávisle popísali chorobnú jednotku s prejavmi progresívnej peroneálnej svalovej slabosti, s atrofiami svalstva, s poruchami citlivosti, s pes cavus a s familiárnym výskytom (dnes CMT1, resp. HMSN1). Déjérine a Sottas o niečo neskôr (1893) popísali ťažké detské formy PNP, ktoré mali recesívne znaky dedičnosti, nakoľko rodičia neboli postihnutí (v klasifikácii ako CMT3). Morfológicko-patologické prístupy dominovali pri poznávaní a diagnostike PNP vyše 50 rokov a popísané boli fenomény myelinizácie, demyelinizácie a hypertrofiie periférnych nervov. Po aplikácii elektrofyziologických metód boli pacienti rozdelení do dvoch skupín. Prvú skupinu reprezentovali pacienti s nízkou rýchlosťou vedenia nervového vzruchu (NCV-nerve conduction velocity) a s demyelinizáciou nervov, zatiaľ čo druhú skupinu predstavovali pacienti s normálnymi hodnotami NCV a iba s degeneráciou axónov. Dyck a Lambert navrhli v r.1968 klasifikáciu do siedmych skupín, s ktorou sa možno stretnúť podnes^(1,2). Davis a Bradley v r. 1978 ako prví vytvorili klasifikáciu polyneuropatií na základe NCV nálezov (do 25 m/s, od 25 do 45 m/s, nad 45 m/s) a histologických zmien nervov (hypertrofické, intermediárne, neuronálne)⁽³⁾. Harding a Thomas (1980) navrhli podnes akceptované delenie polyneuropatií na HMSN1 (CMT1-demyelinizačné) a HMSN2 (CMT2-axonálne), ktoré je založené na rozdielnych rýchlostiach vedenia zistených NCV. Pri demyelinizačnej forme je $NCV \leq 38$ m/s a pri axonálnej forme je $NCV > 38$ m/s⁽⁴⁾. Delenie hPNP podľa týchto kritérií je znázornené na **obrázku 1**.

Molekulárno-genetická éra, ktorej akceleráciu sme pozorovali od deväťdesiatych rokov minulého storočia, priniesla zásadný obrat v diagnostike hereditárnych polyneuropatií. Objavenie génu *PMP22* na chromozóme 17p12, jeho duplikácie a delécie, sú v kauzálnom vzťahu k chorobe Charcot-Marie-Tooth (forma CMT1 A), respektíve k hereditárnej neuropatii s náchylnosťou na tlakové obrny (HNPP). Pre poznanie genetických determinant týchto dvoch fenotypov asociovaných s génom *PMP22* boli rozhodujúce práce niekoľkých kolektívov autorov Lupski et al (1991), Roa et al (1991; 1992), Lupski et al (1992), Rao et al

Obr. 1. Rozdelenie hereditárnych polyneuropatií podľa klinického a elektrofyziologického nálezu



HMN – hereditárna motorická neuropatia, HSN – hereditárna senzitivná neuropatia, HMSN . hereditárna motorická a senzitivná neuropatia, CMT – Charcot – Marie -Tooth , CMT- I – intermediárna forma

(1993)^(5,6,7,8). Sangerove sekvenčné analýzy aplikované desaťročia podmienili objavenie mnohých patogénnych variantov u niekoľko desiatok génov, ktoré majú kauzálny vzťah k hereditárnym formám polyneuropatie. Využitie metód masívneho paralelného sekvenovania (MPS), sekvenovanie novej generácie (NGS) v posledných rokoch umožnili identifikáciu ďalších génov a ich variantov, a diagnostika sa stala dostupná, rýchla a finančne nenáročná. Gény, ktoré sú príčinou jednotlivých foriem hPNP kódujú proteíny s odlišnými funkciami, najčastejšie sú to proteíny spojené so štruktúrnymi komponentami myelínu, s axonálnym transportom, s iónovými kanálmi, s endocytózou, s metabolizmom, s funkciami mitochondrií a s obecnými mechanizmami DNA metylácie – demetylácie, transkripcie a regulácie bunkových funkcií.

Tradične sa hPNP klasifikujú podľa neurologického nálezu a CNV na hereditárne motorické neuropatie – HMN (dHMN – distálne), hereditárne senzitivne neuropatie – HSN (HSAN- senzitivno – autonómne), a na zmiešané – hereditárne motorické a senzitivne neuropatie (HMSN – CMT)^(9,10,11). Zmiešaná forma sa na základe kondukčných hodnôt delí na CMT1, CMT4 – demyelinizačné ($NCV \leq 38$ m/s), CMT2 – axonálne ($NCV > 38$ m/s) a CMTI – intermediárne ($NCV 35$ m/s až 45 m/s). Z hľadiska prevahy poškodenia jednotlivých štruktúr nervových vlákien sú CMT1 demyelinizačného charakteru a CMT2 sú axonálne typy. Najčastejšie polyneuropatie sú ochorenia zo skupiny CMT, ktoré postihujú senzitivne i motorické nervy. Podľa dedičnosti genetickej patológie sa CMT rozdeľujú na autozómovo – dominantné (AD), autozómovo – recesívne (AR) a viazané na X chromozóm^(12,13,14). Je potrebné podotknúť, že k prejavom u ženského pohlavia môže dôjsť u niektorých patogénnych variantov génov (*GJB1*, *PDK3*) aj vtedy, ak je mutácia prítomná iba na jednej alele, v týchto prípadoch je dedičnosť X-dominantná (XD)^(15,16,17).

V 2022 version of gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome) sú v zozname širokej skupiny hereditárnych neuromuskulárnych ochorení uvedené všetky gény a patogénne varianty podmieňujúce početnú skupinu hPNP⁽¹⁸⁾. Každá klinicko-genetická entita má uvedené viaceré informácie, vrátane symbolu génu a čísla OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man)⁽¹⁸⁾. Nie je výnimkou, že ten istý gén je uvedený vo viacerých skupinách, nakoľko fenotypové prejavy a dokonca aj typy

dedičnosti sú rozdielne (*PMP22*, *MPZ*, *EGR2*, *GDAP1*, *MTMR2*, *PRX*)⁽¹⁸⁾. V súčasnosti by sa mala klasifikácia hPNP prepracovať tak, aby obsahovala systém údajov definujúcich formu hPNP, typ dedičnosti a zodpovedajúci gén a patogénny variant. V prípade génu *GDAP1* (pre proteín asociovaný s gangliozidmi indukovanou diferenciáciou) sa tento objavuje v klasifikácii v štyroch fenotypových formách – CMT2K, CMT2H, CMT4A, CMTRIA. Ten istý gén ako napr. *NEFL*, *MPZ* môže byť pri viacerých demyelinizačných aj axonálnych formách⁽¹⁷⁾. Nejedná sa len o problematiku prekrývania fenotypov pri neuropatiách (CMT s HSN, CMT s HMN), ale aj o prekrývanie CMT s inými chorobnými jednotkami ako SMA (spinálne muskulárne atrofie), HSP (hereditárne spastické paraplégie), ALS (amyotrofická laterálna skleróza)⁽¹⁸⁾. V tomto smere budú prínosom techniky masívneho paralelného sekvenovania, ktoré umožnia rozšíriť diagnostiku aj na ochorenia s prekrývajúcimi sa fenotypmi.

Výskyt hereditárnych polyneuropatií vo svete a v SR

Hereditárne neuropatie (hPNP) majú rodinný výskyt a nižšie uvedené charakteristiky týkajúce sa genetických determinantov možno nájsť často ako všeobecné údaje v odbornej literatúre pred obdobím aplikácie metód NGS/MPS v diagnostike. Všeobecne sa konštatuje, že hPNP predstavujú ochorenia s rôznym typom dedičnosti a s populačnou prevalenciou v európskych krajinách 1 : 2500. Najčastejším typom je demyelinizačná forma s autozómovo-dominantným typom dedičnosti (CMT1), tvorí 40 % až 50 % všetkých CMT. Táto forma je zapríčinená až v 70 % duplikáciou *PMP22* génu (CMT1A). CMT1 forma je spôsobená aj bodovými mutáciami, najčastejšie v géne *MPZ* (10 %), menej často v géne *PMP22* (2-3 %) a v géne *LITAF* (1 %). Axonálne formy s autozómovo dominantnou dedičnosťou predstavujú 30% ochorení a sú spôsobené prevažne mutáciami v génoch *MFN2*, *KIF1B*, *RAB7*, *TRPV4*, *GARS*, *NEFL*. X-viazaná CMT predstavuje 10 % všetkých CMT a je podmienená najčastejšie patogénnymi variantmi *GJB1* génu.

Szigeti a Lupski (2009) predpokladali, že pri populačnej frekvencii hPNP 1:2500 sa v USA vyskytujú hPNP u viac ako 125 000 pacientov⁽¹²⁾. Autori popísali patogénne varianty u viac ako 20 génov, pričom až 70 % pacientov s CMT1 malo duplikáciu v *PMP22*⁽¹²⁾. Vo vyššej miere boli zastúpené patogénne varianty génov *GJB1*, *MPZ*, *MFN2* a tiež bodové mutácie v *PMP22* géne. Rozsiahlejšie informácie o pacientoch s hPNP v USA boli publikované v štúdií DiVincenza et al (2014)⁽¹³⁾. V hodnotenom súbore bolo sledovaných 17000 pacientov a okrem Sangerovho sekvenovania boli už použité aj metódy MPS pre identifikáciu variantov u 14 génov spôsobujúcich hPNP. Genetická abnormalita bola identifikovaná u 18,5 % pacientov súboru, z nich *PMP22* duplikácia bola prítomná u 57 % a *PMP22* delícia u 22 % pacientov s hPNP⁽¹³⁾. Ďalšie patogénne varianty boli zistené v géne *GJB1* u 6,7 %, v géne *MPZ* u 5,3 % a v géne *MFN2* u 4,3 % pacientov. Patogénne varianty týchto 4 génov boli teda príčinou hPNP až u 94,9 % pacientov⁽¹³⁾.

Štúdiá realizovaná v UK pri použití metódy MLPA a Sangerovho sekvenovania (13 génov) identifikovala u suspektných pacientov s hPNP až v 62,6 % patogénny nález svedčiaci pre CMT⁽¹⁴⁾. Forma CMT2 bola potvrdená len u 25,2 %⁽¹⁴⁾. Dve štúdie potvrdili, že 90 % génových patológií je prítomných v štyroch génoch – *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*, *MFN2*^(14,15). Vecný prehľad týkajúci sa génov, klasifikácie CMT (hPNP) v dobe pred používaním NGS aplikácií je popísaný v štúdií Pandraud et al z roku 2012⁽¹⁶⁾.

U srbskej populácie (obyvatelia Belehradu) bola zistená prevalencia všetkých typov CMT – 9,7, CMT1 – 7,1, CMT2 – 2,6 na 100.000 obyvateľov⁽¹⁹⁾. Súčasne bolo pozorované, že prevalencia sa zvyšuje u vekovo starších obyvateľov. V odporúčanom algoritme pre genetické testovanie srbských pacientov s PNP sa aplikovali poznatky o prevalencii CMT⁽¹⁹⁾. Naopak údaje publikované o prevalencii CMT v Nórsku (1:1214, 1:2500) svedčia pre vyšší výskyt hPNP, pričom až 96 % patogénnych náleзов sa zistilo v génoch *PMP22*, *MPZ*, *GJB1* a *MFN*^(20,21). Rozdielom v prevalencii CMT v európskych krajinách sa venovali Barreta et al (2016) a Pourhadi et al (2017)^(22,23). Podľa ich zistení je prevalencia hPNP nižšia ako stereotypné uvádzanie údaje o prevalencii 1:2500 v prehľadových prácach, ktoré sa považujú za nadsadené a nezodpovedajúce skutočnosti^(22,23).

Pri hodnotení výskytu hPNP a jednotlivých foriem v SR sa možno oprieť iba o nevelký počet publikovaných údajov. Molekulárno-genetická štúdiá zameraná na výskyt familiárnych foriem ochorenia nebola v SR realizovaná. Dostupné údaje z pracovísk poskytujúcich genetickú diagnostiku hPNP potvrdzujú najmä prítomnosť frekventovaných genetických patológií v *PMP22* géne. Z dôvodu, že metódy MPS sa v SR využívajú pre diagnostiku hPNP iba posledné 2 až 4 roky a Sangerove sekvenovanie odporúčaných génov – *GJB1*, *MPZ*, *MFN2* pracoviská poskytovali len obmedzene, je evidentné, že objektívne zhodnotenie výskytu a diagnostickej výťažnosti jednotlivých vyšetrení v SR zatiaľ nie je možné. Slovenskí autori Resko et al. (2011) zistili, že pri diagnostike duplikačno/delečnej *PMP22* patológie bola u 35 % vyšetovaných rodín (a izolovaných prípadov) prítomná duplikácia génu (CMT1A forma) a u 5,9 % rodín bola prítomná delícia génu⁽²⁴⁾. Autori uviedli, že aj v prípade delícií bola ako pôvodná diagnóza predpokladaná CMT1A forma. V kontexte s výskytom hPNP u rómskeho etnika v SR, je zaujímavá štúdiá španielskych autorov Sevilla et al. (2013), ktorí zistili, že v rómskej populácii Španielska sa vyskytujú relatívne často patogénne varianty v génoch *NDRG1* a *HK1*, ale najčastejšia forma je spôsobená zmenou v *SH3TC2* géne a zapríčiňuje CMT4C autozómovo-recesívnu formu až u 57 % suponovaných pacientov⁽²⁵⁾. Typická mutácia v *NDRG1* géne je p.R148X (g.631C > T), ktorá vyvolá CMT4D formu a v *HK1* géne variant g.9712G > C, ktorý spôsobuje CMT4G formu. Gabriková et al (2015) popísali u rómskych pacientov v SR formy hPNP klasifikované ako autozómovo-recesívne a demyelinizačné⁽²⁶⁾. Molekulárno-genetická diagnostika odhalila variant p.R148X v géne *NDRG1* a variant. g.9712G > C v géne pre hexokinázu-1 (*HK1*), čím boli diagnostikované formy CMT4D a CMT4G⁽²⁷⁾. Zvýšená prevalencia formy CMT4G sa popisuje u rómskeho etnika v Bulharsku, Rumunsku, Maďarsku, na Slovensku a v Španielsku. Táto forma je podmienená genetickým efektom zakladateľa (founder effect) a predpokladá sa, že spoločný predok s danou mutáciou opustil Indiu pred približne 1000 rokmi. Vysoká prevalencia autozómovo-recesívnej CMT v rómskych komunitách je spôsobená konsanguinnými partnerstvami.

Súčasná diagnostika hPNP celosvetovo musí vychádzať z klinických, fenotypových a elektrofyziologických dát, ale stále viac je determinovaná efektívnou molekulárno-genetickou identifikáciou patológie, čo sa dá dosiahnuť aj vďaka aplikácii analýz charakteru MPS. Získané genetické údaje sú významným prínosom pri objektivizácii údajov o výskyte hPNP a foriem ich klinickej manifestácie. Ak donedávna pri genetickej diagnostike boli okrem *PMP22* génu vo vyšetrení zahrnuté spravidla gény

GJB1, *MPZ* a *MFN2*, dnes je to niekoľko desiatok až 100 génov. Výsledky nových diagnostických prístupov poukazujú na zmeny genetického spektra hPNP, pričom možno pozorovať evidentné zníženie podielu CMT1A formy spôsobenej duplikáciou *PMP22* génu. Dopad aplikácie metód NGS/MPS na štruktúru genetických patológií u hPNP uvádzame nižšie v rôznych publikovaných prácach.

V *nemeckej štúdií* (612 pacientov, panely s 54 až 84 génmi) bol u 19,8 % pacientov zistený patogénny alebo pravdepodobne patogénny variant⁽²⁸⁾. Z hľadiska štruktúry a génovej lokalizácie zistených patogénnych variantov u 16,4 % pacientov bol postihnutý gén *PMP22* (9,9 % duplikácie, 3,9 % delécie, 2,6 % bodové mutácie). V štyroch génoch – *GJB1*, *MPZ*, *SH3TC2*, *MFN* sa nachádzalo až 39 % patogénnych variantov a zvyšok spektra génových patológií (45 %) pokrývalo 30 génov⁽²⁹⁾. V práci sa konštatuje, že v počiatočných štádiách hPNP často nie je klinicky a elektromyograficky možné spoľahlivo rozlíšiť demyelinizačné a axonálne formy, preto masívne paralelné sekvenovanie je efektívny diagnostický prístup.

U 123 *francúzskych pacientov* s PNP diagnostika pomocou NGS s panelom 81 génov zistila patogénny variant až u 40 % pacientov a pravdepodobne patogénny u 9 % pacientov⁽²⁹⁾. V porovnaní s predchádzajúcou diagnostickou metódou MLPA a Sangeroveho sekvenovania sa zachytilo 2,2 násobne viac genetických patológií⁽²⁸⁾. Efektívnosť záchytu sa podstatne zvýšila najmä u demyelinizačných foriem⁽²⁹⁾. Vysoký podiel mutácií sa zistil u génov *MFN2*, *SH3TC2*, *DAP1*, *NEFL*, *GAN*, *KIF5A*, *AARS*⁽²⁹⁾.

V *talianskej štúdií* bolo vyšetovaných 67 pacientov⁽³⁰⁾. U 26 pacientov bola pomocou MLPA vyšetrenia zistená patológia *PMP22* (38,8 %), z toho 31,3 % pripadalo na duplikáciu a 7,5 % na deléciu. U zvyšných 41 pacientov bolo realizované MPS vyšetrenie pomocou panelu 47 génov a patogénne varianty boli zistené u 8 pacientov (19,5 %). Zistené patogénne varianty sa našli v génoch – *HSPB1*, *MFN2*, *KIF1A*, *GADP1*, *MTMR2*, *SH3TC2*.

NGS diagnostika bola použitá aj v *súbore pacientov z UK a USA* (120 a 100 pacientov) s aplikovaným panelom 50 génov, pričom prítomnosť patogénnych variantov bola odhalená u 30 % pacientov. Zistenie, že až u 33 % pacientov bol identifikovaný VUS (variant nejasného významu) môže mať dopad na klinickú a právnu implikáciu (zvlášť pri prenatálnej a predimplantačnej diagnostike). Diagnostická výťažnosť bola najvyššia u demyelinizačných foriem (73 %), nižšia u axonálnych a intermediárnych foriem (22 %) a najnižšia u dHMN a HSN (14 % a 13 %). Viac než polovica patogénnych variantov sa nachádzala v génoch *GJB1*, *MPZ*, *MFN2*, *SH3TC2*, *FDG4* s rozdielnym percentuálnym zastúpením.

Situáciu v *ázijskej populácii* prezentuje štúdia japonských autorov u veľkého počtu pacientov s hPNP (1005), u ktorých bola v diagnostike aplikovaná metóda NGS s panelmi 60 až 72 génov⁽³¹⁾. Patogénne varianty boli zistené u 301 (30 %) pacientov. Pri hodnotení efektívnosti záchytu sa opäť zistil najvyšší podiel pozitívne detegovaných prípadov u demyelinizačných foriem v 46 %, u axonálnych foriem v 23 % u supponovaných hereditárnych polyneuropatií⁽⁴⁰⁾. Pri demyelinizačných formách sú najčastejšie prítomné mutácie v génoch *GJB1*, *MPZ*, *PMP22*, *NEFL*, *DH3TC2*, *MFN2*, pri axonálnych formách v *MFN2*, *MPZ*, *HSB1*, *GJB1*, *GDAP1*, *MME*. Pozorované boli značné vekové rozdiely pri manifestácii hPNP. U patogénnych variantov v *MFN2* géne

dochádza k manifestácii vo veku 0 až 20 rokov, u patogénnych variantov v géne *HSPB1* až v 6-tom decéniu. Japonskí autori zistili, že v prvej dekáde sa manifestovali demyelinizačné formy u 55% pacientov, u axonálnych foriem len u 31 % pacientov⁽³¹⁾.

Klinická manifestácia hereditárnych polyneuropatií

Hereditárna polyneuropatia môže byť samostatným ochorením alebo je len jedným z prejavov komplexnejšieho neurogenetického alebo multisystémového ochorenia^(32,33,34,35,36). Najčastejšou formou hereditárnej neuropatie je Charcot-Marie-Toothova choroba (CMT), resp. hereditárna senzomotorická neuropatia (HSMN). Klinický obraz (fenotyp) väčšiny pacientov s hereditárnou polyneuropatiou zodpovedá klasickému popisu z roku 1886, preto je oprávnené používať pre týchto pacientov eponymum Charcot-Marie-Toothova choroba alebo len CMT.

Napriek tomu, že geneticky sa jedná o výrazne heterogénnu skupinu ochorení, klinický fenotyp je relatívne homogénny a mutácie vo vysokom počte rôznych génov môžu konvergovať do veľmi podobného klinického obrazu^(33,34,35,36). Na druhej strane existuje výrazná variabilita fenotypu nielen medzi rodinami s rovnakou mutáciou, ale aj v rámci jednej rodiny. Často zisťujeme v jednej rodine jedincov s ťažkými deformitami nôh, svalovými atrofiami a slabosťou, a okrem nich aj oligosymptomatických príbuzných s minimálnymi problémami v bežnom živote. Bez pomoci elektrofyziologických metód nie je možné rozoznať CMT 1. a CMT 2. typ a bez molekulárnej genetiky nie je možné presne klasifikovať jednotlivé formy hereditárnych polyneuropatií^(33,34,35,36,37,38). Pretože dlhé a silné vlákna periférnych nervov sú postihnuté ako prvé, zisťujeme motorické a senzitivné poruchy najskôr a najvýraznejšie v distálnych častiach dolných a neskôr horných končatín. Typické klinické príznaky väčšiny pacientov s hereditárnou polyneuropatiou sú^(33,34,35,36,37):

1. Skrátene Achillových šliach, pes cavus a kladivkovité prsty na nohách (**obrázok 2**).
2. V neskoršom priebehu otlaky na vonkajších hranách nôh (**obrázok 3**).
3. Peroneálna atrofia a postupná hypotrofizácia lýtok (**obrázok 4 a 5**).
4. Slabosť a atrofie drobných svalov ruky (**obrázok 6 a 7**).
5. Areflexia šlachovookosticových reflexov L2/S2.
6. Manifestácia na prelome 1. a 2. dekády rovnako u oboch pohlaví.
7. Porucha chôdze s prepadávaním špičiek nôh, tzv. stepáž (**obrázok 8 – foot drop**).
8. Porucha stability pri slabosti a deformitách nôh, poruche propriocepce.
9. Relatívne malé poruchy citlivosti na DK.
10. Normálny intelekt a dĺžka života.

Menej časté klinické príznaky hereditárnych polyneuropatií (viazané len na určité formy) sú^(33,35,36,37):

1. Porucha sluchu (CMT 1X).
2. Porucha pupilárnej reakcie (CMT 2P0).
3. Trofické ulcerácie na plantách a prstoch nôh (HSN1, CMT 2 B) – **obrázok 9**.
4. Skolióza (CMT 1 B).

Elektromyografické vyšetrenia u hereditárnych polyneuropatií

Elektrodiagnostické štúdie u hereditárnych polyneuropatií zahrňujú funkčné testovanie niektorých periférnych a centrálnych

Obr. 2 Pes cavus a kladivkovité prsty na pravej nohe



Obr. 3. Otlak na vonkajšej hrane ľavej nohy, vznik v neskoršom priebehu ochorenia



Obr. 4. Obojstranné atrofie peroneálneho svalstva



Obr. 5. Atrofie lýtkového svalstva



Obr. 6. Atrofie a slabosť drobných ručných svalov ľavej ruky



Obr. 7. Slabosť a hypotrofia drobného ručného svalstva ľavej ruky



Obr. 8. Prepadávanie špičky nohy („foot drop“)



Obr. 9. Trofická ulcerácia na päte pravej nohy



nervových štruktúr a sú integrálnou súčasťou diagnostického algoritmu hereditárnych polyneuropatií^(32,34,35,37,38). Testy vedenia periférnym nervom (kondukčné štúdie) majú pre svoj význam v diagnostike hereditárnych neuropatií nezastupiteľné miesto. Účelom kondukčných štúdií je zhodnotiť jednak integritu a funkciu myelínového obalu nervových vlákien – rýchlosť vedenia nervom [CV (m/s)], jednak počet funkčných axónov podľa veľkosti amplitúdy sumačného svalového akčného potenciálu [CMAP (mV)]. Význam elektrodiagnostických testov u hereditárnych polyneuropatií^(32,33,34, 35,37,39):

1. Objektívne potvrdiť prítomnosť polyneuropatie.
2. Rozlíšiť postihnutie myelínu (CMT 1) od postihnutia axónu (CMT 2). Demyelizačný typ CMT1 má pri kondukčnom vyšetrení zníženie rýchlosti vedenia motorickými vláknami n. medianus na predlaktí pod 38 m/s, axonálny typ CMT2 má rýchlosť vedenia nad 38 m/s.

3. Odhaliť doposiaľ asymptomatické formy hereditárnej polyneuropatie u ďalších rodinných príslušníkov.
4. Mapovať prirodzenú progresiu choroby v dôsledku axonálnej degenerácie pri opakovanom elektrofyziologickom vyšetrení (postupný pokles amplitúdy CMAP).

U veľmi zriedkavých hereditárnych motorických neuropatií (HMN) dominuje distálna svalová slabosť DKK bez poruchy citlivosti^(32,33,34,39). U hereditárnych senzitivných neuropatií dominuje senzitivné (HSN) a/alebo autonómne postihnutie (HSAN)^(32,33,35,38). Postihnuté sú všetky modalities citlivosti, môžu sa vyskytovať trofické ulcerácie, spontánne fraktúry, neuropatické artropatie vedúce až k amputáciám^(32,34,37,39).

Molekulárno-genetická diagnostika geneticky podmienených polyneuropatií

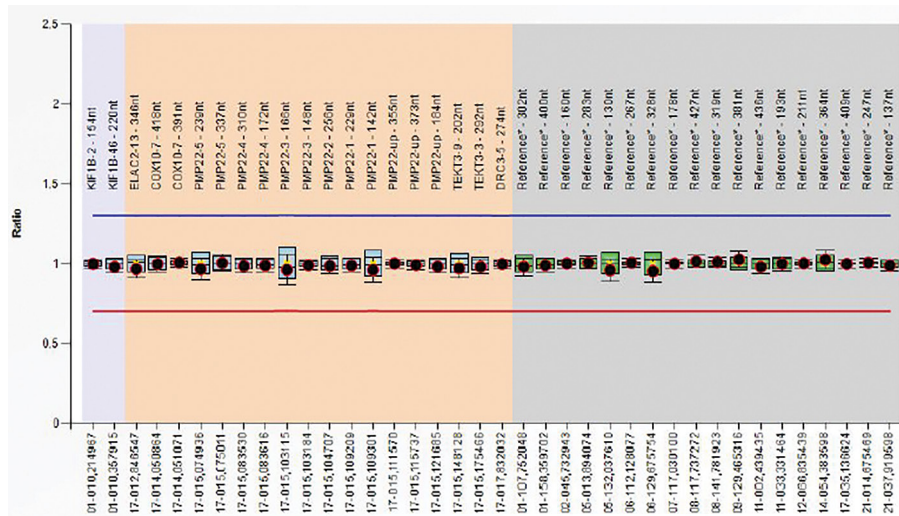
Diagnostický algoritmus zahŕňa cielenú osobnú a rodinnú anamnézu, zdôvodnenú indikáciu vyšetrenia neurológom a genetikom pri požiadavke na molekulárno – genetické vyšetrenie. Obligátnou súčasťou neurologického vyšetrenia sú kondukčné a ihlové elektromyografické vyšetrenia, niekedy sú realizované zobrazovacie metódy MR a/alebo USG^(34,35,36,37,39).

V súčasnosti sú samozrejmosťou súčasťou vyšetrení molekulárno-genetické testy, optimálne by boli testy obsahujúce informáciu o celom genóme^(39,40). Rutinná molekulárno – genetická diagnostika zahŕňa delečno-duplikačný skrining génu *PMP22* pomocou metódy MLPA, Sangerove sekvenovanie vybraných génov, sekvenovanie panelu génov pomocou sekvenovania novej generácie (NGS – targeted panels). Výnimočne sa realizujú celoexómové sekvenovanie (NGS – WES) alebo celogenómové sekvenovanie (NGS – WGS).

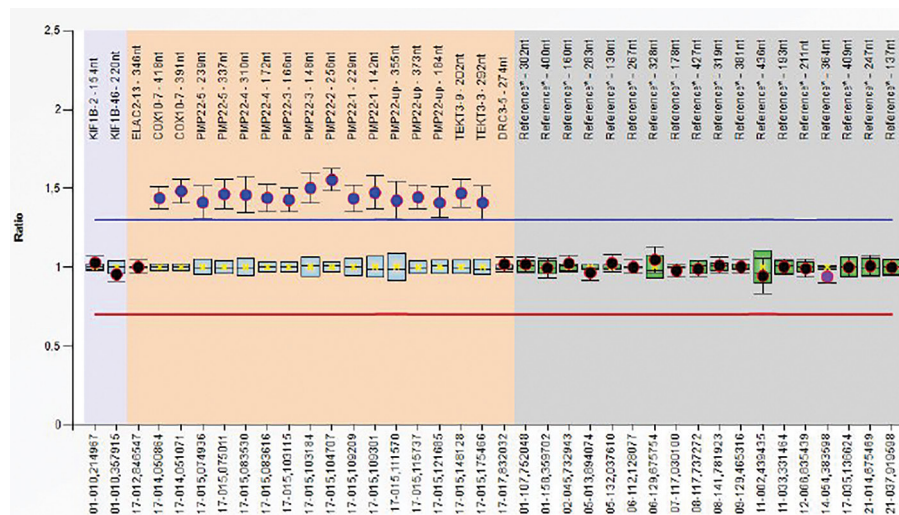
Molekulárno-genetická diagnostika hPMP na genetických pracoviskách zahŕňa v prvom kroku MLPA vyšetrenie (multiple ligation probe amplification) *PMP22* génu (17p11.2) v rozsahu 1,5 Mb, pričom duplikácia je asociovaná s CMT1A formou a predstavuje často viac ako polovicu geneticky diagnostikovaných prípadov CMT. Z tohto dôvodu sa k MLPA analýze pristupuje ako k prvému genetickému testu. Ide o vysoko špecifickú a časovo nenáročnú metódu. MLPA analýza je vhodná na určenie počtu kópií exónov *PMP 22* génu a umožní nám detegovať nie len duplikáciu *PMP22* (Charcot-Marie-Tooth CMT1A), ale aj deléciu génu ako príčinu hereditárnej neuropatie s tendenciou k tlakovým parézam. MLPA je multiplexná PCR metóda, pomocou ktorej je možné detegovať zmeny až 60 rôznych špecifických DNA sekvencií. Po hybridizácii sekvenčne špecifických prôb k vyšetřovaným cieľovým DNA sekvenciám, nasleduje ich spojenie do jednej sekvencie (ligácia). Ligácia prebehne iba vtedy ak sa sondy na cieľové miesto naviažu. Pospájané prôby sú amplifikované s využitím jedného páru primerov a to všetko v jedinej multiplexnej fluorescenčnej PCR reakcii. MLPA je jedinečná tým, že sa neamplifikujú cieľové DNA sekvencie, ale MLPA prôby, ktoré na tieto cieľové sekvencie nasadajú. Produkty výslednej amplifikácie sú rôzne dlhé, nakoľko každá prôba obsahuje odlišne dlhú unikátnu identifikačnú sekvenciu, podľa ktorej je možné odlišiť jednotlivé produkty navzájom. Výsledné produkty sú analyzované kapilárnou elektroforézou a dáta sú spracované a vyhodnotené pomocou softvéru Coffalyser.net. Výsledok vyšetrenia pomocou metódy MLPA u kontrolnej vzorky a vzoriek pacientov s CMT1 a hereditárnej neuropatie s tendenciou k tlakovým obrnám je znázornený na obrázku 10.

Obr. 10. MLPA analýza počtu kópií génu *PMP22*

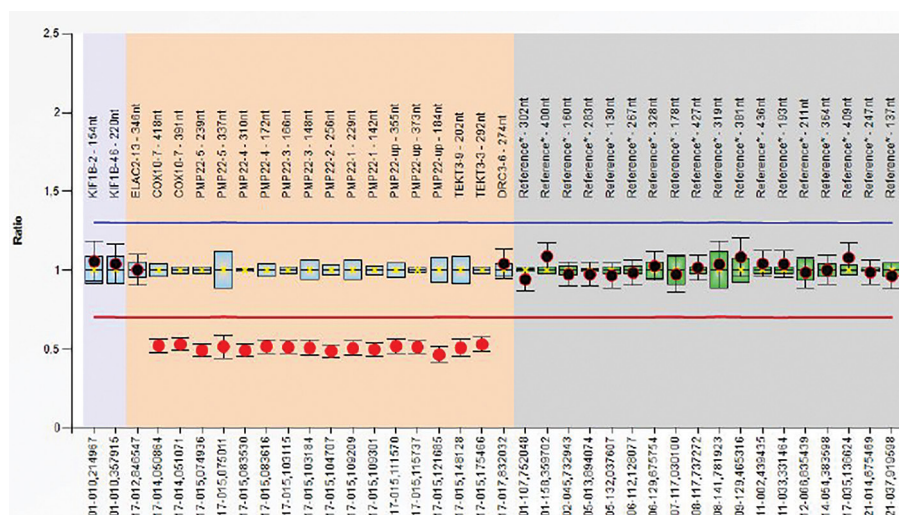
2 kópie génu *PMP22* – fyziologický nález



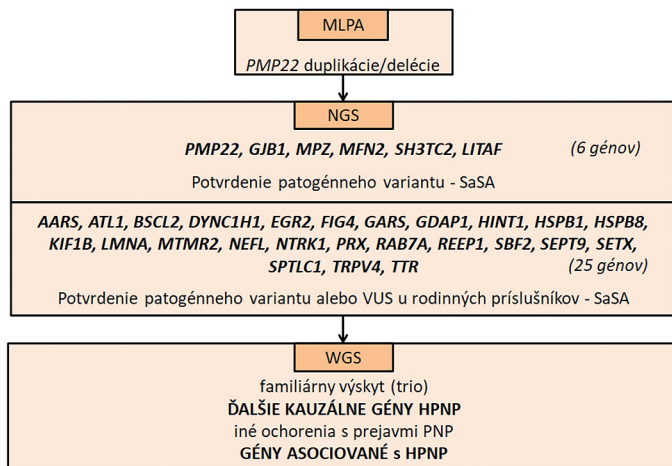
duplikácia génu *PMP22* – 3 kópie – CMT1



delícia génu *PMP22* – 1 kópia – HNPP



Obr. 11. Diagnostický algoritmus hereditárnych polyneuropatií pomocou molekulárno-genetických metód



MLPA – multiplex ligation – dependent probe amplification, NGS – next generation sequencing, WGS – whole genome sequencing, SaSA – Sangerove sekvenovanie

V prípade negatívneho výsledku MLPA sa pristupuje k sekvenčnej analýze ďalších častých génov asociovaných s CMT^(40,41). Predpokladá sa, že gény *GJB1* (CMTX1), *MFN2* (CMT2A), *MPZ* (CMT1B) spolu s *PMP22* (CMT1A, HPPN) môžu tvoriť približne 90 % geneticky diagnostikovaných CMT prípadov. Záchyt sa zvýši ak sa sekvenujú ďalšie gény s frekventovaným výskytom patogénnych variantov ako sú *EGR2*, *NEFL*, *LITAF*, *GDAP1*, *SH3TC2*^(41,42). Reálne sa iba u časti pacientov so supponovanou klinickou diagnózou CMT potvrdí definitívna diagnóza pozitívnym genetickým nálezom. Najčastejšie sa genetická príčina potvrdí u formy CMT1 (viac ako 80 % prípadov), u ostatných foriem sa zisťujú nižšie hodnoty – HSN (30-40 %), CMT2 (25-35 %) a HMN (15-25 %). V súčasných diagnostických prístupoch, prevažujú nad Sangerovým sekvenovaním jednotlivých génov NGS metódy, pri ktorých môžeme sekvenovať paralelne viacero génov.

Masívne paralelné sekvenovanie (MPS) prinieslo prelom v metódach identifikácie génových patológií^(43,44). MPS v porovnaní so Sangerovým sekvenovaním má viacero výhod. Hlavné ide o vyššiu efektívnosť, skrátenie času diagnostiky a zníženie nákladov. Podstata zvýšenej efektivity spočíva v masívnej paralelizácii biochemických krokov, vo výraznom zvýšení rýchlosti sekvenovania, ale taktiež v možnosti detekcie delečno – duplikačných zmien. Dochádza k simultánnej analýze miliónov DNA fragmentov v jednej vzorke. MPS nám poskytne výstup od desiatok megabáz až po tisíce gigabáz bazových párov v závislosti od typu panelu a techniky.

Proces analýzy NGS dát môžeme všeobecne rozdeliť na tri stupne. Primárna analýza zahŕňa konvertovanie biochemických signálov, čiže hrubých dát, ktoré boli získané snímaním do krátkych nukleotidových sekvencií – čítaní. Sekundárna analýza zabezpečuje porovnanie sekvencií s referenciou a stanovenie variantov a ich anotáciu. Terciárna analýza znamená výslednú interpretáciu zistených variantov. Identifikované varianty môžu byť klasifikované ako patogénne, pravdepodobne patogénne, varianty s nejasným klinickým významom, pravdepodobne benígne alebo benígne. Pri panelovom sekvenovaní je dôležité aby sa dosiahla dostatočná hĺbka pokrytia (počet čítaní

nukleotidu) a hĺbka sekvenovania t. j. celkové množstvo sekvenovaných dát – prečítaných nukleotidov, ktoré vyžaduje daná vzorka, aby sa dosiahla požadovaná priemerná hĺbka pokrytia. Pri interpretácii variantov je nutné zhodnotiť klinický nález u pacienta. V prípade NGS sa môžu navrhnúť aj menšie génovo špecifické panely zamerané na detekciu jednotlivých subtypov CMT (napr. demyelinizačné alebo axonálne formy). Z dôvodu intragénovej fenotypovej variability CMT a z faktu, že mutácie v rôznych génoch môžu spôsobiť ten istý fenotyp sa pristupuje k väčším panelom génov, ktoré zachytia širokú škálu hereditárnych neuropatií.

Diagnostická záchytnosť CMT pomocou panelov génov je v rozsahu 20 % až 40 % v závislosti od súboru CMT pacientov, demografického pozadia a počtu zvolených génov. Výsledky využitia NGS metodológie v diagnostike hereditárnych neuropatií boli referované v predchádzajúcej časti textu. Cenné informácie o ich využití pri diagnostike hPNP možno nájsť v nedávno publikovaných prehľadových článkoch^(44,45).

Súčasný diagnostický algoritmus aplikovaný na genetických pracoviskách zahŕňa:

- V prvom kroku MLPA analýzu na identifikáciu delécií/duplikácií v géne *PMP22* (CMT/HNPP región 17p12).
- V prípade negatívneho nálezu sa pristupuje k sekvenčnej analýze génov *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*.
- V opodstatnených prípadoch sa indikuje vyšetrenie panelu génov pomocou MPS. Výber génov je navrhnutý spravidla podľa frekvencie patogénnych variantov v danej krajine, respektíve na základe etnických charakteristík populácie. Analyzované sú celé kódujúce a relevantné zozrihovacie oblasti uvedených génov. Použitie náročnejších diagnostických postupov ako WES, WGS nepatria k obvyklému prístupu v diagnostike hPNP.

Diagnostický algoritmus hPNP aplikovaný na pracovisku ÚLBGaKG LFUK a UNB znázorňuje obrázok 11. V rámci uvedeného algoritmu realizujeme genetické vyšetrenie panelu 31 génov (AmpliSeq On-Demand Panel for Illumina) pomocou sekvenovania novej generácie s použitím systému MiniSeq (Illumina). Jedná sa o masívne paralelné sekvenovanie všetkých génov zahrnutých v paneli, ktoré je založené na princípe amplikónového sekvenovania. Pri amplikónovom sekvenovaní sa kopírujú a množia konkrétne oblasti génov pomocou špecifických primerov. Dané kratšie úseky sú sekvenované v mnohých opakovaniach. Dosahuje sa tým väčšia hĺbka pokrytia (t. j. viac čítaní v cieľových oblastiach) a následne aj vyššia analytická senzitivita a špecifita, súčasne je možné sa s vysokou presnosťou zamerať na konkrétne zmeny v analyzovaných génoch. Výber génov do panelu sa robí podľa frekvencie patogénnych variantov v génoch referovaných hlavne v štúdiách z európskych krajín: (*AARS*, *ATL1*, *BSCL2*, *DYNC1H1*, *EGR2*, *FIG4*, *GARS*, *GDAP1*, *GJB1*, *HINT1*, *HSPB1*, *HSPB8*, *KIF1B*, *LITAF*, *LMNA*, *MFN2*, *MPZ*, *MTMR2*, *NEFL*, *NTRK1*, *PMP22*, *PRX*, *RAB7A*, *REEP1*, *SBF2*, *SEPT9*, *SETX*, *SH3TC2*, *SPTLC1*, *TRPV4*, *TTR*). Analyzované sú celé kódujúce a relevantné zozrihovacie oblasti uvedených génov. V prípade ak sa zistí patogénny variant alebo variant s nejasným klinickým významom, prítomnosť identifikovaného variantu sa potvrdí aj sekvenčnou analýzou pomocou Sangerovej metódy.

Od roku 2013 do roku 2022 bolo na pracovisku vyšetrených 374 pacientov s klinickou diagnózou hereditárnej polyneuropatie. V rokoch 2013-2019 sa diagnostikovala hPNP u pacientov

len pomocou MLPA metódy. Z 221 pacientov bola identifikovaná u 33 pacientov duplikácia *PMP22* génu (14,9 %), u 11 delécia *PMP22* génu (4,9 %), pozitivita oboch foriem dosahovala 19,8 % vo vyšetrenom súbore.

Od roku 2020 sme rozšírili diagnostiku o NGS panel génov pre hPNP. U 153 vyšetrených pacientov sa identifikovala u 16 pacientov duplikácia *PMP22* génu (10,5 %) a u 3 pacientov sa zistila delécia génu (2,0 %). Analýzou 31 génov pomocou NGS sa u 12 pacientov identifikovali missense varianty v génoch *HSPB1*, *LITAF*, *MFN2*, *DYNC1H1*, *HINT1*, *GDAP1*, *SPTLC1*, *FIGH4*. V géne *LITAF* patogénne varianty boli prítomné u 3 pacientov a v géne *DYNC1H1* u dvoch pacientov. Definitívna diagnóza bola teda určená u 20,3 % pacientov odoslaných s diagnózou suspektnej hereditárnej polyneuropatie. Z celkového počtu identifikovaných patogénnych variantov kauzálnych génov predstavoval podiel *PMP22* duplikácie (CMT1A) 51,6 %, delécie *PMP22* (HNPP) 9,7 %, ostatné patológie tvorili 38,7 %. Predpokladáme na základe skúseností z európskych krajín, že aplikácia NGS s týmto rozsahom vyšetrených génov môže až s 95 % pravdepodobnosťou zachytiť v SR pacientov, u ktorých patogénny variant v jednom z analyzovaných génov podmieni vznik hereditárnej periférnej polyneuropatie. Rozšírenie počtu génov v paneli je otázkou pragmatického rozhodnutia na základe vlastných poznatkov a poznatkov získaných v iných európskych krajinách.

Terapeutický manažment hereditárnych polyneuropatií

U väčšiny pacientov hereditárne polyneuropatie neovplyvňujú očakávanú dĺžku života, spôsobujú však zhoršovanie kvality života pacientov, aj keď v rôznej intenzite. Existuje dlhodobá snaha o farmakologické ovplyvnenie progresie najčastejších foriem HPNP, zatiaľ bez výraznejších výsledkov.

Symptomatická liečba – rehabilitačná, protetická, kúpeľná a ortopedická operačná liečba – ostávajú stále základnou terapiou u hereditárnych polyneuropatií^(32,33,34,35,37). Multidisciplinárny team a prístup sú základom terapeutického manažmentu hPNP. Pacienti majú sklon k obmedzeniu rozsahu pohybov, k vzniku kontraktúr, skoliózy, deformít nôh a rúk, trofických zmien kože a hlbších tkanív. Dôležitou súčasťou fyzikálnej liečby sú strečingové cvičenia, cvičenia proti odporu, aeróbne cvičenia a včasné ordinovanie ortéz^(45,46). Tieto opatrenia nielen udržiavajú, ale dokonca môžu zlepšiť svalovú silu a funkcie, zlepšiť flexibilitu a rozsah pohybov v kĺboch, rovnováhu a kardiopulmonálnu zdatnosť⁽⁴⁶⁾. Rozsah cvičení môže klesať zvýšené energetické nároky na pacientov. Predstavy z minulosti, že fyzické cvičenia spôsobujú slabosť z preťaženia a podporujú rozvoj svalových atrofií sú nesprávne, dávno prekonané. Cielené cvičenia s primeranou záťažou majú pozitívny účinok na funkčný stav pacientov^(45,46).

Včasná ordinácia ortéz zlepšuje postúru a rovnováhu pri chôdzi spôsobovanú slabosťou a deformitami v oblasti členkov. Slabosť ručného svalstva vyžaduje kontrolovaný cvičebný program s tréningom zameraným na bežné denné aktivity.

U niektorých pacientov je indikovaná symptomatická farmakoterapia pri neuropatickej bolesti a depresii. Deformity nôh, skolióza a dysplázia bederných kĺbov môžu vyžadovať korekčné chirurgické zákroky, vrátane predĺžovania skrátených Achillových šliach, niekedy sú indikované transpozície určitých šliach. Pre obštrukčné pľúcne ochorenia, spánkové apnoe a parézy

hlasiviek je nutná spolupráca a adekvátne intervencie v spolupráci s chirurgami, pulmonológmi, otorinolaryngológmi, fyziatrami, v prípade potreby aj s ďalšími špecialistami.

Farmakoterapia

Súčasný pokrok v objasňovaní a poznávaní genetických abnormalít a patofyziológie hereditárnych polyneuropatií sú spojené s vývojom nových terapeutických techník ako anti-sense oligonukleotidy, adenovírusmi sprostredkované vektorové prenosy farmák a RNA interferenčné technológie^(36,43,44,47,48,49,50). Od nových inovatívnych terapeutických metód sa očakáva, že významnejšie ovplyvnia a zmiernia progresívny priebeh HPNP^(36,43,44,47,48,49,50). Je vysoko pravdepodobné, že liečba hereditárnych polyneuropatií bude dlhodobým, resp. trvalým procesom. Viaceré preklinické štúdie využívajúce zvieracie modely dokázali, že liečba nemôže byť prerušená, jej zastavenie spôsobí zhoršovanie, progresiu klinického fenotypu^(47,50).

V rokoch 2010-2015 prebiehali klinické štúdie s podávaním vysokých dávok kyseliny askorbovej u CMT1A choroby (1,5 a 3,0 g/deň), v klinických ani elektrofyziologických parametroch nepreukázali štatisticky významný benefit^(32,33). Aktuálne prebiehajú štúdie s preparátom PXT3003 (kombinácia baclofen, naltrexon a d-sorbitol), priebežné výsledky sú sľubné⁽⁴⁹⁾. Podávanie PXT3003 v porovnaní s placebom u signifikantného počtu pacientov zlepšilo stav alebo zastavilo progresiu podľa CMT Neuropathy score (CMTNS), Overall Neuropathy Limitation Scale (ONLS) a kondukčných štúdií (NCS)⁽⁴⁹⁾. PXT má dobrý bezpečnostný profil, pacienti ho dobre tolerujú. V zvieracom experimente u myši s CMT1B deriváty kurkumínu podporujú diferenciáciu Schwannových buniek a zlepšujú neuropatiu⁽⁵¹⁾. V experimentálnych štúdiách sa overujú substancie podporujúce axonálnu regeneráciu (neurotrofín-3, neuroregulíny), regulátory gébovej expresie (arimoclolol a celastrol), kalciová homeostáza, neuroprotektívne a antioxidantné preparáty s limitovanými výsledkami⁽⁴⁷⁾. Suplementácia esenciálnymi mastnými kyselinami, fosfolipidmi, vitamínom E, kreatínom sa neodporúča, lebo nemá žiadnu efektívnosť⁽⁴⁷⁾.

Záver

Moderné metodiky v molekulárno-genetickej diagnostike hereditárnych neuropatií zaznamenali mimoriadne pokroky. Potvrdzujú to aj nami získané výsledky, v ktorých sme dospeli k určeniu správnych diagnóz u pacientov s dlhoročne nediagnostikovanými ťažkými a vzácnymi formami hPNP. Kauzálné zamerané terapeutické postupy sú v začiatkoch ich výskumu, zatiaľ neprinesli významnejšie liečebné výsledky. Určenie správnych diagnóz má význam aj z prognostického hľadiska pre rodinných príslušníkov, umožňuje posúdiť riziko vzniku ochorenia a spoľahlivo vylúčiť jeho klinickú manifestáciu. Multidisciplinárna symptomatická liečba ostáva ešte základnou terapiou u hereditárnych polyneuropatií. V základnom výskume sa overujú účinnosti substancií podporujúcich axonálnu regeneráciu (neurotrofín-3, neuroregulíny) a regulátory gébovej expresie (arimoclolol a celastrol). V experimentoch na laboratórnych zvieratách sa zisťujú určité pozitívne výsledky, čo by mohlo byť perspektívnym východiskom ku kauzálny terapii, ktorá dokáže spomaliť alebo dokonca zastaviť progresiu hereditárnych neuropatií.

Vyhlásenie o bezkonfliktosti: Nemáme potenciálny konflikt záujmov.

Adresa pre korešpondenciu:

doc. MUDr. Ján Chandoga, CSc.
 Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB
 Nemocnica Staré Mesto
 Mickiewiczova 13, 813 69 Bratislava
 e-mail: jan.chandoga@sm.unb.sk

Literatúra

- Dyck PJ, Lambert EH. Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. I. Neurologic, genetic, and electrophysiologic findings in hereditary polyneuropathies. *Arch Neurol* 1968; 18: 603-618.
- Dyck PJ, Lambert EH. Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. II. Neurologic, genetic, and electrophysiologic findings in various neuronal degenerations. *Arch Neurol* 1968; 18: 619-625.
- Davis CJ, Bradley WG, Madrid R. The peroneal muscular atrophy syndrome: clinical, genetic, electrophysiological and nerve biopsy studies. I. Clinical, genetic and electrophysiological findings and classification. *J Genet Hum* 1978; 26: 311-349.
- Harding AE, Thomas PK. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. *Brain* 1980; 103: 259-280.
- Lupski JR, de Oca-Luna RM, Slaugenhaupt S et al. DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Cell* 1991; 66: 219-232.
- Roa BB, Garcia CA, Lupski JR. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: molecular mechanisms of gene dosage and point mutation underlying a common inherited peripheral neuropathy. *Int J Neurol* 1991-1992; 25-26: 97-107.
- Lupski JR, Wise CA, Kuwano A et al. Gene dosage is a mechanism for Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nat Genet* 1992; 1: 29-33.
- Roa BB, Garcia CA, Suter U et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. Association with a spontaneous point mutation in the PMP22 gene. *N Engl J Med*. 1993; 329: 96-101.
- Simpson DM, Alport AR, Attal N et al. Peripheral Neuropathy. *Continuum* 2012; 18: 7-261.
- Tazir M, Hamadouche T, Nouioua S et al. Hereditary motor and sensory neuropathies or Charcot-Marie-Tooth diseases: an update. *J Neurol Sci* 2014; 347: 14-22.
- Magy L, Mathis S, Le Masson G et al. Updating the classification of inherited neuropathies: Results of an international survey. *Neurology* 2018; 90: e870-e876.
- Szigeti K, Lupski J. Charcot-Marie-Tooth disease. *Eur J Hum Genet* 2009; 17: 703-710.
- DiVincenzo C, Elzinga C D, Medeiros AC et al. The allelic spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease in over 17,000 individuals with neuropathy. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 2014; 2: 522-529.
- Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ et al. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011; 69: 22-33.
- Murphy SM, Laura M, Fawcett K et al. Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes and guidelines for genetic testing. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 83: 706-710.
- Pandraud A, Liu YT, Houlden H. Advances in the genetics of peripheral nerve disorders. *ACNR* 2012; 21: 1348-1473.
- Keckarevic Markovic MP, Dackovic J, Mladenovic J. et al. An algorithm for genetic testing of Serbian patients with demyelinating Charcot-Marie-Tooth. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013; 17: 85-87.
- Cohen E, Bonnae G, Rivier F, Hamrouc D. The 2022 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromusc Dis* 2021; 31: 1313-1357.
- Mladenovic J, Milic Rasic V, Keckarevic Markovic M et al. Epidemiology of Charcot-Marie-Tooth Disease in the Population of Belgrade, Serbia. *Neuroepidemiology* 2011; 36: 177-182.
- Keckarevic Markovic MP, Dackovic J, Mladenovic J. et al. An algorithm for genetic testing of Serbian patients with demyelinating Charcot-Marie-Tooth. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013; 17: 85-87.
- Braathen GJ. Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 2012; (193): iv-22.
- Østern R, Fagerheim T, Hjeltnes H et al. Diagnostic laboratory testing for Charcot Marie Tooth disease (CMT): the spectrum of gene defects in Norwegian patients with CMT and its implications for future genetic test strategies. *BMC Med Genet* 2013 Sep 21; 14: 94.
- Barreta LC, Oliveira FS, Nunes PS et al. Epidemiologic Study of Charcot-Marie-Tooth Disease: A Systematic Review. *Neuroepidemiology* 2016; 46: 157-165.
- Pourhadi M., Ahmadinejad F., Maghsoudi R., Jami M. Charcot-Marie-Tooth disease: Genetics, epidemiology and complications. *International Journal of Epidemiology Research* 2017; 4: 78-83.
- Resko P, Radvansky J, Odnogova Z et al. Mutation analysis of PMP22 in Slovak patients with Charcot-Marie-Tooth disease and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Gen Physiol Biophys* 2011; 30: 379-388.
- Sevilla T, Martínez-Rubio D, Márquez C et al. Genetics of the Charcot-Marie-Tooth disease in the Spanish Gypsy population: the hereditary motor and sensory neuropathy-Russe in depth. *Clin Genet*. 2013; 83: 565-70.
- Gabriková D, Mistrík M, Bernasovská J et al. "CMT4G – Rare Form of Charcot-Marie-Tooth Disease in Slovak Roma Patient". *World Academy of Science, Engineering and Technology, Open Science Index 98, International Journal of Bioengineering and Life Sciences* 2015; 9: 107-110.
- Dohrn MF, Glöckle N, Mulahasanovic L et al. Frequent genes in rare diseases: panel-based next generation sequencing to disclose causal mutations in hereditary neuropathies. *J Neurochem*. 2017; 143: 507-522.
- Bacquet J, Stojkovic T, Boyer A et al. Molecular diagnosis of inherited peripheral neuropathies by targeted next-generation sequencing: molecular spectrum delineation. *BMJ Open*. 2018; 8(10): e021632.
- Ferese R, Campopiano R, Scala S et al. Cohort Analysis of 67 Charcot-Marie-Tooth Italian Patients: Identification of New Mutations and Broadening of Phenotype Expression Produced by Rare Variants. *Front Genet* 2021; 12: 682050.
- Yoshimura A, Yuan JH, Hashiguchi A et al. Genetic profile and onset features of 1005 patients with Charcot-Marie-Tooth disease in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019; 90(2): 195-202.
- Mazanec R, Horáček O, Kobesová A, Smetana P: Hereditární neuropatie (minimonografie). *Cesk Slov Neurol N* 2009; 72/105: 5-17.
- Pareyson D, Marchesi C. Diagnosis, natural history and management of Charcot-Marie-Tooth disease. *Lancet Neurol* 2009; 8: 654-666.
- Radvánszky J. Ochorenia Charcot-Marie-Tooth typu 1A a hereditárna neuropatia s náchylnosťou na tlakovú obrnu. V: Časté monogénne dedičné ochorenia na Slovensku. Ed. L. Kádaši, J. Radvánszky a kol. Bratislava, Veda 2014: 415-429.
- Eggermann K, Gess B, Häusler M et al. Hereditary neuropathies. *Dtsch Arztebl Int* 2018; 115: 91-97.
- Morena J, Gupta A, Hoyle JC. Charcot-Marie-Tooth: From Molecules to Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20: 3419; doi: 10.3390/ijms20143419.
- Z. Ambler: Hereditární polyneuropatie. In: Poruchy periférnych nervů. Z. Ambler. Praha, Triton 2013: 397-416.
- Ridzoň P. Elektromyografie, vyšetření periférnych nervů – kondukční studie, repetitívni stimule. *Neurol praxi* 2020; 21: 264-267.
- Fridman V, Reilly MM. Inherited Neuropathies. *Semin Neurol*. 2015; 35: 407-23.
- Lupski JR, Reid JG, Gonzaga-Jauregui C et al. Whole-genome sequencing in a patient with Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *N Engl J Med* 2010; 362: 1181-91.
- Rautenstrauss B, Lupski J, Timmerman V. Draft Best Practice Guidelines for Molecular Analysis of Hereditary Motor and Sensory Neuropathies. *EMQN* 2001.
- Banchs I, Casasnovas C, Albertí A et al. Diagnosis of Charcot-Marie-Tooth disease. *J Biomed Biotechnol* 2009; 2009: 985415.
- Hoyle JC, Isfort MC, Roggenbuck J et al. The genetics of Charcot-Marie-Tooth disease: current trends and future implications for diagnosis and management. *Appl Clin Genet*. 2015; 8: 235-243.
- Pipis M, Rossor AM, Laura M, Reilly MM. Next-generation sequencing in Charcot-Marie-Tooth disease: opportunities and challenges. *Nat Rev Neurol*. 2019; 15: 644-656.
- Corrado B, Ciardi G, Bargigli C. Rehabilitation Management of the Charcot-Marie-Tooth Syndrome: A Systematic Review of the Literature. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(17): e3278.
- Sman AD, Hackett D, Fiatarone Singh M et al. Systematic review of exercise for Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst*. 2015; 20: 347-362.
- Nadapa M, Shivano S, Taly AB. Charcot-Marie-Tooth. *Treasure Island (FL)*. StatPearls Publishing 2022 Jan; [online]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562163/>
- Multhaupt-Buell T, Sadjadi R. Hereditary Neuropathies: It is becoming increasingly important to establish a molecular genetic diagnosis. *Pract Neurol* 2019; 17: 25-28.
- Miniou P, Fontes M. Therapeutic Development in Charcot Marie Tooth Type 1 Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6755. <https://doi.org/10.3390/ijms22136755>.
- Attarian S, Young P, Brannagan TH et al. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of PXT3003 for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 1A. *Orphanet J Rare Dis* 2021; 6: 433. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-02040-8>
- Patzkó A, Bai Y, Saporta MA, Katona I et al. Curcumin derivatives promote Schwann cell differentiation and improve neuropathy in R98C CMT1B mice. *Brain* 2012; 135: 3551-3561.