

AUTOREFERAT

1. Imię i Nazwisko

Maria Jędrzejowska

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

1995 - lekarz medycyny, I Wydział Lekarski, Akademia Medyczna w Warszawie

1998 - specjalizacja I stopnia z zakresu neurologii (ocena bardzo dobra), Warszawa

2009 - specjalizacja z zakresu genetyki klinicznej (ocena bardzo dobra), Warszawa

2003 - doktor nauk medycznych z zakresu medycyny (obrona z wyróżnieniem), Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN

Tytuł rozprawy: „Dosiebny dziecięcy i młodzieńczy rdzeniowy zanik mięśni – podłoże molekularne a fenotyp choroby”, promotor: Prof. dr hab. n. med. Irena Hausmanowa-Petrusewicz,

recenzenci: Prof. dr hab. n. med. Elżbieta Marszał, Prof. dr hab. n. med. Jacek Zaremba

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1998 - 2009, Zespół Badawczo-Lecznicy Chorób Nerwowo-Mięśniowych (od 2005 Zespół Nerwowo-Mięśniowy), Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, asystent

2009 - obecnie, Zespół Nerwowo-Mięśniowy, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, adiunkt

2009 - obecnie, Poradnia Genetyczna, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, genetyk kliniczny

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

**KORELACJE GENOTYPOWO-FENOTYPOWE W RDZENIOWYM ZANIKU MIĘŚNI,
Z UWZGLĘDNIENIEM FORM RZADKICH**

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. **Jędrzejowska M**, Milewski M, Zimowski J, Borkowska J, Kostera-Pruszczyk A, Sielska D, Jurek M, Hausmanowa-Petrusewicz I. Phenotype modifiers of spinal muscular atrophy: the number of SMN2 gene copies, deletion in the NAIP gene and probably gender influence the course of the disease. Acta Biochim Pol. 2009; 56(1): 103-8. **IF: 1,262; KBN/MNiSW: 20**
2. **Jędrzejowska M**, Borkowska J, Zimowski J, Kostera-Pruszczyk A, Milewski M, Jurek M, Sielska D, Kostyk E, Nyka W, Zaremba J, Hausmanowa-Petrusewicz I. Unaffected patients with a homozygous absence of the *SMN1* gene. Europ J Hum Genet. 2008; 16(8):930-4. **IF: 3,925; KBN/MNiSW: 27**
3. **Jędrzejowska M**, Gos M, Zimowski JG, Kostera-Pruszczyk A, Ryniewicz B, Hausmanowa-Petrusewicz I. Novel point mutations in survival motor neuron 1 gene expand the spectrum of phenotypes observed in spinal muscular atrophy patients. Neuromuscul Disord. 2014; 24(7): 617-23. **IF: 2,638; KBN/MNiSW: 30**
4. **Jędrzejowska M**, Milewski M, Zimowski J, Zagożdżon P, Kostera-Pruszczyk A, Borkowska J, Sielska D, Jurek M, Hausmanowa-Petrusewicz I. Incidence of spinal muscular atrophy in Poland- more frequent than predicted? Neuroepidemiology. 2010; 34(3): 152-157. **IF: 2,482; KBN/MNiSW: 32**
5. **Jędrzejowska M**, Madej-Pilarczyk A, Fidziańska A, Mierzewska H, Pronicka E, Obersztyn E, Gos M, Pronicki M, Kmieć T, Migdał M, Mierzewska-Schmidt M, Walczak-Wojtkowska I, Konopka E, Hausmanowa-Petrusewicz I. Severe phenotypes of SMARD1 associated with novel mutations of the IGHMBP2 gene and nuclear degeneration of muscle and Schwann cells. Eur J Paediatr Neurol. 2014; 18(2): 183-92. **IF:2,301 ; KBN/MNiSW: 25**
6. **Jędrzejowska M**, Jakubowska-Pietkiewicz E, Kostera-Pruszczyk A. X-linked spinal muscular atrophy (SMAX2) caused by de novo c.1731C>T substitution in the UBA1 gene. Neuromuscul Disord. 2015; 25(8): 661-666. **IF: 3,107; KBN/MNiSW: 25**
7. **Jędrzejowska M**, Dębek E, Kowalczyk B, Halat P, Kostera-Pruszczyk A, Ciara E, Jezela-Stanek A, Rydzanicz M, Gasperowicz P, Gos M. The remarkable phenotypic variability of the p.Arg269His variant in the TRPV4 gene. Muscle Nerve. 2019; 59(1):129-133. **IF: 2,496; KBN/MNiSW: 25**

Sumaryczny IF prac wchodzących w skład osiągnięcia: 18,211

Łączna punktacja KBN/MNiSW: 184

- c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

RDZENIOWY ZANIK MIĘŚNI (ang. spinal muscular atrophy; SMA) jest grupą genetycznie uwarunkowanych schorzeń, których wspólną cechą stanowi utrata motoneuronów rdzenia kręgowego. Przez wiele lat nazwa „rdzeniowy zanik mięśni” utożsamiana była z jedną jednostką chorobową - dosiebnym rdzeniowym zanikiem mięśni (ang. proximal spinal muscular atrophy) (ICD10 G12.0; ORPHA70). W chwili obecnej lista schorzeń zaliczanych do tej grupy obejmuje 31 jednostek chorobowych (wg Gene Table of Neuromuscular Disorders; <http://www.nmd-journal.com/>) i wraz z rozwojem genetyki molekularnej nieustannie się wydłuża.

Najlepiej poznaną formą rdzeniowego zaniku mięśni jest **dosiebny dziecięcy i młodzieńczy rdzeniowy zanik mięśni, związany z mutacjami genu *SMN1*** (zwany również SMA5q)(ang. proximal spinal muscular atrophy) (ICD10 G12.0; ORPHA70; OMIM 253300, 253400, 253550, 271150). Należy on do najczęstszych chorób genetycznie uwarunkowanych o dziedziczeniu autosomalnym recesywnym (Dubowitz 1995), z zapadalnością szacowaną na 1 na 10 tysięcy urodzeń (Dubowitz 1995, (2)Verhaart 2017). Obok dystrofii mięśniowej Duchenne'a, stanowi także najczęstszą chorobę nerwowo-mięśniową. Schorzenie występuje we wszystkich szerokościach geograficznych. Średnia częstość nosicielstwa szacowana jest na 1-2:100 osób w populacji (Sugarman 2012, (2)Verhaart 2017). Wydaje się, że najwyższa częstość nosicielstwa dotyczy rasy kaukaskiej i wynosi około 1 na 37 osób (Hendrickson 2009).

Dosiebny dziecięcy i młodzieńczy rdzeniowy zanik mięśni charakteryzuje się postępującym osłabieniem siły mięśniowej, bardziej nasilonym w mięśniach proksymalnych i kończynach dolnych oraz bardzo dużą zmiennością wieku wystąpienia (od okresu płodowego po wiek dorosły) i nasilenia (od form letalnych po postaci bezobjawowe) objawów klinicznych. Rozwój poznawczy jest w pełni prawidłowy. Okres przeżycia zależy od wieku wystąpienia powikłań, przede wszystkim niewydolności oddechowej, wtórnej do osłabienia mięśni oddechowych oraz w postaciach przewlekłych- narastającej skoliozy i deformacji klatki piersiowej.

Pierwsze znane i udokumentowane opisy rdzeniowego zaniku mięśni zawdzięczamy Werdnigowi i Hoffmannowi, którzy pod koniec XIX wieku, niezależnie od siebie, wykazali zanik i zmiany zwyrodnieniowe rogów przednich rdzenia kręgowego w grupie 9-ciorga dzieci z postępującym

osłabieniem siły mięśniowej (Werdnig 1891, Hoffmann 1893). Oni też jako pierwsi zwrócili uwagę na dziedziczny charakter schorzenia, ze względu na jej występowanie w rodzeństwie. Kolejne doniesienia w literaturze medycznej prezentowały przypadki rdzeniowego zaniku mięśni o różnym wieku zachorowania i zmiennym stopniu nasilenia symptomów (Beevor 1902, Kugelberg-Welander 1956), stając się przyczyną wieloletnich dyskusji na temat jedności nozologicznej SMA (Byers 1961, Hausmanowa-Petrusewicz 1966, Emery 1971, Zaremba 1983). Polemiki ostatecznie zakończyło zmapowanie w 1990 roku różnych form choroby do długiego ramienia chromosomu piątego (5q11.2-13.3)(Melki 1990, Brzustowicz 1990), a następnie w 1995 roku identyfikacja genu *SMN1* (ang. *survival of motoneuron 1, warunkujący przeżycie motoneuronów 1*) (Lefebvre 1995), jako genu podstawowego w patogenezie SMA. Pozostałością wcześniejszych polemik i niejasności, co do jedności nozologicznej choroby, są różne numery poszczególnych postaci w bazie OMIM SMA1- 253300; SMA2- 253550; SMA3- 253400, SMA4- 271150). Odkrycie genu *SMN1* zaowocowało z kolei opisem skrajnych form SMA- postaci dorosłych (SMA4; OMIM 271150), formy bezobjawowej oraz wrodzonej. Dwie ostatnie postaci traktowane są już jako warianty alleliczne SMA związanego z mutacjami *SMN1* i nie otrzymały niezależnej numeracji w bazie OMIM.

W chwili obecnej wiemy, że wiek wystąpienia pierwszych objawów klinicznych SMA może sięgać od okresu płodowego po wiek dorosły, a stopień ich nasilenia – od form letalnych po postaci bezobjawowe. Szczegółowa klasyfikacja pozostaje jednak przedmiotem dyskusji. Powszechnie uznaje się podział przyjęty przez Międzynarodowe Konsorcjum SMA, wyróżniający trzy podstawowe formy kliniczne: postać ostrą, tzw. chorobę Werdniga-Hoffmanna (SMA1, dzieci nigdy nie osiągają zdolności samodzielnego siedzenia), postać pośrednią (SMA2, dzieci siedzą, nigdy nie chodzą) i postać łagodną- SMA3, w przebiegu której osłabienie występuje po osiągnięciu samodzielnego chodzenia (Munsat 1992). Obecnie ta klasyfikacja jest poszerzona o formę dorosłą (SMA4), z różnie definiowanym wiekiem zachorowania (od 5 do 30 roku życia) (Zerres 1995, Brahe 1995) oraz postać z początkiem w okresie prenatalnym, tzw. SMA0 (Dubowitz 1999, Macleod 1999). W niektórych ośrodkach włoskich i brytyjskich przyjął się także podział Dubowitza, wyróżniający 10 podtypów w obrębie każdej z trzech podstawowych form (1.1-1.9, 2.1-2.9, 3.1-3.9) (Dubowitz 1995). Z kolei ośrodki niemieckie i polskie stosowały podział SMA3 na dwie podgrupy- SMA3a i SMA3b wg Zerres'a (Zerres 1997). Zerres i wsp. wykazali, że pacjenci zachorowujący powyżej 3 roku życia dłużej zachowują zdolność samodzielnego chodzenia. Nowością w zaproponowanej w ubiegłym roku klasyfikacji jest podział postaci pierwszej i trzeciej na podtypy a, b, c, w zależności od wieku wystąpienia pierwszych objawów (Farrar 2017). Wiąże się to z obserwacją, że wcześniejszy początek decyduje zwykle o cięższym przebiegu choroby. Wydaje się, że wprowadzony podział stanowi wypadkową pomiędzy zbyt ogólnym podziałem na formy podstawowe i zbyt szczegółowym i trudnym w codziennej praktyce podziałem wg Dubowitz'a. Warto

jednak pamiętać, że fenotyp SMA stanowi kontinuum od formy wrodzonej, po postaci dorosłe, a nawet przypadki asymptomatyczne. Tym samym w obrębie każdej z form będziemy obserwowali przypadki o łagodniejszym i cięższym przebiegu, a także te z pogranicza, nie dające się zakwalifikować jednoznacznie do żadnej z podstawowych grup. Stosowane klasyfikacje i podziały są bowiem tworem sztucznym, koniecznym jednak dla porozumienia specjalistów zajmujących się różnymi aspektami choroby.

Dosiebny dziecięcy i młodzieńczy zanik mięśni spowodowany jest niedoborem białka SMN (ang. survival of motoneuron protein, białko warunkujące przeżycie motoneuronów)(Lefebvre 1997, Singh 2017, Singh 2018). U człowieka białko to jest kodowane przez dwa geny - *SMN1* i *SMN2* i alternatywnie składane w cztery izoformy: białko SMN pełnej długości, SMNdelta 7, SMN6B i aSMN. Białko SMN pełnej długości (ang. full-length SMN protein) ma ciężar 38 kDa i składa się z 294 aminokwasów. Zaangażowane jest w liczne procesy komórkowe. Kontroluje niemal każdy aspekt metabolizmu RNA, w tym składanie pierwotnego transkryptu, powstawanie kompleksów snRNP (ang. small nuclear ribonucleoproteins, małe jądrowe RNA) i snoRNP (ang. small nucleolar ribonucleoproteins, małe jąderkowe RNA), modyfikację końca 3' mRNA dla białek histonowych, reguluje aktywność telomerazy, translację, transport RNA i wiele innych (Singh 2017, Singh 2018). Dodatkowo zaangażowane jest w procesy naprawy DNA, przekaźnictwo sygnału, endocytozę, autofagię (Singh 2017, Singh 2018). Jest ono powszechnie ekspresjonowane i niezbędne do przeżycia organizmu. Brak białka SMN jest cechą letalną u wszystkich zwierząt, a wiek obumarcia płodu zależy od poziomu SMN odmatczywego (Burghes 2009). Mysie modele zwierzęce, z deplecją *smn* ograniczoną tkankowo, np. do tkanki nerwowej, mięśniowej czy hepatocytów, także giną w okresie płodowym lub niedługo po urodzeniu (Bebee 2012). Wskazuje to na szczególnie istotną rolę białka SMN w okresie rozwoju we wszystkich tkankach.

W rdzeniowym zaniku mięśni mamy do czynienia z deficytem, ale nie zupełnym brakiem białka SMN (Lefebvre 1997). U człowieka białko SMN jest bowiem produkowane także przez „zapasowy” gen *SMN2*. I chociaż w modelach zwierzęcych dowiedziono, że obniżenie poziomu białka SMN zaburza funkcjonowanie wielu układów (m.in. oddechowego, krążenia, kostnego, pokarmowego, płciowego), to klinicznie powoduje niemal wybiórczą utratę motoneuronów rdzenia kręgowego. Pomimo wielu lat badań dokładny patomechanizm choroby pozostaje nieznanym. Krytyczne znaczenie może mieć poziom białka SMN w różnych tkankach. U myszy z knockoutem własnego genu *smn* i wprowadzonymi ludzkimi *SMN2* nasilenie objawów choroby zależy od liczby wprowadzonych kopii *SMN2* (Hsieh-Li 2000). Myszy z 2 kopiami chorują bardzo ciężko, te zaś z 8 kopiami nie wykazują objawów SMA (Monani 2000). Podobny korzystny rezultat uzyskuje się podwyższając ekspresję *SMN2* przy pomocy prionowego promotora tylko w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) myszy z 2

kopiami *SMN2* (Gavrilina 2008). Wydaje się zatem, że większość tkanek wymaga niewielkiego poziomu SMN do prawidłowego funkcjonowania, podczas gdy ośrodkowy układ nerwowy potrzebuje go znacznie więcej (Laird 2016). W jakim jednak mechanizmie dochodzi do uszkodzenia motoneuronów rdzenia kręgowego - pozostaje przedmiotem dyskusji.

Jedna z teorii zakłada, że utrata białka SMN powoduje zaburzenie składania innego genu (lub genów), krytycznego dla funkcjonowania OUN (Burghes 2009, Zhang 2017). Teoria ta wiąże się z jedną z najlepiej scharakteryzowanych funkcji białka SMN - udziałem w biogenezie snRNP (ang. small nuclear ribonucleoproteins). snRNP są kluczowe dla rozpoznawania miejsc splicingowych i tym samym usuwania intronów z pre-mRNA. Białko SMN wraz z ośmioma innymi białkami (geminy 2-8 i Unrip), tworzy wielobiałkowy kompleks, obecny zarówno w cytoplazmie w postaci rozproszonej, jak i w jądrze komórkowym, w strukturach jądrowych zwanych "gems" (od "gemini" czyli bliźniacze). Nazwa tych struktur związana jest z podobieństwem w zakresie kształtu, wielkości, a także reakcji na czynniki środowiskowe do opisanych w 1903 roku "coiled bodies" (CBs). Kompleks SMN w cytoplazmie przyłącza kolejne składowe snRNP (białka Sm, snRNAs i inne białka specyficzne dla danego snRNP), następnie całość jest metylowana i transportowana do jądra. Tam kompleks, zlokalizowany blisko CBs, ulega dalszemu dojrzewaniu. Białko SMN bierze także udział w biogenezie innych rybonukloprotein, co sugeruje jego ważną rolę w metabolizmie RNA. Zaburzenia biogenezy specyficznych snRNP wydawały się kuszącą teorią, wyjaśniającą patomechanizm SMA, jednak nie znalazły ostatecznego potwierdzenia. Choć w wielu pracach wykazano zaburzenia składania transkryptów (splicingu) różnych genów (min. *SMN2*, *Nrxn2a*, *Agm*, *Uba1*) (Jodelka 2010, Zhang 2013, Wishart 2014, See 2014) w modelach zwierzęcych SMA, to jednak nie powiązano ich jednoznacznie z aktywnością snRNP. Tym samym wydaje się, że mechanizm ten - choć prawdopodobny - nie jest podstawowy w patogenezie SMA (Price 2018).

Druga z teorii sugeruje, że białko SMN jest istotne dla transportu i translacji mRNA w neuronach, a jego niedobór powoduje zaburzenie wzrostu aksonów i prawidłowego tworzenia złącza nerwowo-mięśniowego (Burghes 2009). Jest to szczególnie istotne w kontekście obserwacji przeprowadzonej na mysim modelu zwierzęcym SMA, zgodnie z którą degeneracja aksonów poprzedza śmierć ciała komórki, a nieprawidłowe złącze nerwowo-mięśniowe jest jednym z pierwszych objawów tego procesu (Cifuentes-Diaz 2002). Badania na innych modelach zwierzęcych, w tym *C. elegans*, także wskazywały na zaburzenia prawidłowego unerwienia i dysregulację tworzenia złącza nerwowo-mięśniowego jako kluczowego mechanizmu w patogenezie SMA. Równoległe wiele badań funkcjonalnych na żywych komórkach dowiodło, że SMN jest aktywnie transportowane wzdłuż neurytów do stożków wzrostu i współwystępuje z mRNA w ziarnistościach wzdłuż aksonów (Zhang 2003). W motoneuronach SMA wykazano zmniejszenie poziomu mRNA beta-aktyny, białka kluczowego

dla wzrostu i rozgałęziania aksonów (Rossoll 2003). W późniejszym okresie dowiedziono deficytu kilku innych mRNA w stożkach wzrostu (Price 2018). Deficyt wspomnianych mRNA jest związany z obniżeniem poziomu białek HuD i IMP1. Sztucznie wywołana nadekspresja tych dwóch białek w motoneuronach SMA hamuje zaburzenia wzrostu aksonów. Obserwacje legły u podstawy hipotezy zakładającej, że SMN jest białkiem opiekuńczym lub składową mRNP (messenger ribonucleoprotein particles). Kompleks mRNP odpowiada za eksport z jądra, transport, translację i wreszcie degradację mRNA. W neuronach kompleks mRNP może transportowany w ziarnistościach. Dokładna rola białka SMN w tym ziarnistościach nie jest jeszcze znana.

Pomimo wielu lat badań wciąż nie wiadomo, czy któraś z powyższych dwóch teorii jest prawdziwa i faktycznie odpowiada za patogenezę SMA na poziomie komórki. Być może deficyt SMN równolegle zaburza wiele mechanizmów komórkowych, z których żaden samodzielnie nie odgrywa krytycznej roli w patogenezie choroby.

U człowieka białko SMN jest kodowane przez dwa geny - *SMN1* i *SMN2* (Lefebvre 1995). Oba geny, o wielkości około 20 kb każdy, zlokalizowane są na długim ramieniu chromosomu 5 (5q11.2-12.3), w tzw. regionie SMA. Region ten charakteryzuje się występowaniem dwóch bliźniaczo podobnych odcinków: telomerowego i centromerowego, każdy po około 500 kb. W obrębie każdego z fragmentów zidentyfikowano 4 geny: *SMN* (*survival of motor neuron gene*, gen warunkujący przeżycie motoneuronów), *NAIP* (*neuronal apoptosis inhibitor protein*, gen białka hamującego apoptozę neuronów; używana jest także nazwa *BIRC1*), gen *BTF2p44* (*p44 subunit of basal transcription factor II gene*, gen podjednostki p44 podstawowego czynnika transkrypcyjnego II) i gen *H4F5* (*spinal muscular atrophy-related gene H4F5; SERF1A*). Wszystkie cztery geny występują w dwóch kopiach: telomerowej i centromerowej. Kopie poszczególnych genów różnią się między sobą pojedynczymi podstawieniami nukleotydowymi. Obie kopie genu *SMN* – *SMN1* (pierwotnie *SMNt*) i *SMN2* (pierwotnie *SMNc*), składają się z 9 eksonów (1, 2a, 2b, 3, 4, 5, 6, 7, 8) i są bliźniaczo podobne. Gen *SMN2* różni się od genu *SMN1* tylko pięcioma podstawieniami nukleotydowymi: po jednym w eksonie 7 (C6U) i 8 (G236A) oraz intronie 6 (G5725A) oraz dwoma w intronie 7 (A100G, A2136G)(Singh 2017). Wszystkie pozostałe warianty budowy nie są specyficzne dla żadnej z kopii. Dla składania genu istotna jest przede wszystkim substytucja w eksonie 7 (c.840C>T). Zmienia ona sekwencję wzmacniacza transkrypcji (ang. exonic splice enhancer, ESE), znosząc jego działanie. To z kolei powoduje wycięcie eksonu 7 w procesie składania pre-mRNA i praktycznie utratę funkcji białka SMN. Tylko niewielka część transkryptu *SMN2* - około 10%, podlega prawidłowemu składaniu i produkuje białko SMN pełnej długości, funkcjonalnie i strukturalnie identyczne z produktem kopii *SMN1*.

Za występowanie objawów rdzeniowego zaniku mięśni odpowiedzialne są mutacje genu *SMN1*. Ponad 95% mutacji genu *SMN1* stanowi obualeliczna utrata eksonu 7 tego genu, w mechanizmie

delecji lub konwersji. U około 3-4 % chorych stwierdza się mutacje punktowe, występujące zwykle w układzie heterozygotycznym z delecją.

Mutacje genu *SMN2* nie są patogenne i w postaci homozygotycznej delecji występują u około 10% zdrowej populacji (Jędrzejowska 2010). Natomiast zwiększenie liczby kopii genu *SMN2* u chorych na SMA, na skutek duplikacji czy konwersji, może w pewnym stopniu kompensować niedobory białka SMN, związane z utratą genu *SMN1* i łagodzić fenotyp choroby. Liczba kopii genu *SMN2* uznawana jest za podstawowy modyfikator fenotypu. Im więcej kopii *SMN2*, tym łagodniejszy przebieg choroby (Calucho 2018). Uważa się, że obecność 5 kopii genu *SMN2* może niwelować utratę obu alleli genu *SMN1*.

Szacuje się, że klasyczna proksymalna postać rdzeniowego zaniku mięśni, związana z mutacjami *SMN1*, stanowi około 90% wszystkich przypadków SMA. Pozostałe postaci są znacznie rzadsze. Wyróżnia się wśród nich najczęstszy rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni, dziecięce warianty SMA oraz dorosłe proksymalne i dystalne formy SMA.

Rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni (ang. spinal and bulbar muscular atrophy, SBMA, OMIM) zwany także chorobą Kennedy'ego od nazwiska lekarza, który w 1968 roku opisał tę postać SMA (Kennedy 1968), dziedziczony jest jako cecha sprzężona z płcią. U mężczyzn chorujących na SBMA stwierdza się mutację dynamiczną pod postacią zwiększonej liczby powtórzeń CTG w eksonie 1 genu receptora androgenowego *AR*. Ze względu na relatywnie wysoką częstość, początek choroby w wieku dorosłym oraz współwystępowanie objawów endokrynologicznych, SBMA rozpatrywany jako odrębna jednostka chorobowa.

Pozostałe postaci SMA należą do chorób ultra rzadkich. Klasyfikowane są one dwójako, albo ze względu na rozkład zaników (proksymalne i dystalne), albo ze względu na wiek wystąpienia pierwszych objawów (wczesnodziecięce i dorosłe).

Wśród postaci wczesnodziecięcych na plan pierwszy wysuwa się przeponowa postać rdzeniowego zaniku mięśni (ang. SMARD1, spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1) (OMIM 604320), związana z mutacjami genu *IGHMBP2*. SMARD1 jest prawdopodobnie najczęstszą po SMA1 wczesnodziecięcą formą SMA. Charakterystycznym objawem tej jednostki chorobowej jest niewydolność oddechowa związana z porażeniem przepony, poprzedzająca objawy zaniku i osłabienia siły mięśniowej. SMARD został opisany po raz pierwszy przez Mellinsa w 1974 roku, a gen odpowiedzialny z chorobę zidentyfikowano w 2001 roku (Mellins 1974, Grohmann 2001). Ze względu na obserwowane u chorych zaburzenia przewodnictwa ruchowego ta jednostka chorobowa jest również klasyfikowana w grupie odsiebnych dziedzicznych neuronopatii ruchowych (dHMN6, distal hereditary motor neuropathy type 6).

Pozostałe postaci wczesnodziecięce znamy z pojedynczych doniesień literaturowych.

Należy do nich rdzeniowy zanik mięśni z artrogrypozą i wrodzonymi złamaniami kości (ang. X-linked infantile spinal muscular atrophy, SMAX2, OMIM 301830), dziedziczony jako cecha sprzężona z płcią. Jest to bardzo rzadki i ciężki wariant SMA, zależny od mutacji genu *UBA1*. W ostatnich dwóch latach opisano także dwa inne utrzadzkie i ciężkie rdzeniowe zaniki mięśni ze złamaniami kości: SMABF1 i SMABF2 (ang. spinal muscular atrophy with congenital bone fractures type 1 and 2, OMIM 616866 oraz 616867), zależne od mutacji genów *TRIP4* i *ASCC1*.

Odrębną grupę wczesnodziecięcych rdzeniowych zaników mięśni stanowią rdzeniowe zaniki mięśni z zanikiem mostowo-mózdkowym, będące wg klasyfikacji podgrupą 1 zaników mostowo-mózdkowych (ang. pontocerebellar hypoplasia type 1, PCH). Wśród nich aż trzy formy (PCH1B, 1C, 1D, OMIM 614678, 616081, 618085) zależne są od mutacji genów związanych z funkcjonowaniem eksosomów (*EXOSC3*, *EXOSC8*, *EXOSC9*).

Także trzy letalne postaci artrogrypoz (ang. lethal congenital contracture syndrome 1, 2 and 3, LCCS1, 2 and 3, OMIM 253310, 607598, 611369) przebiegają z zajęciem rogów przednich rdzenia kręgowego, będąc tym samym skrajnie ciężkimi postaciami SMA. Związane są odpowiednio z mutacjami genów *GLE1*, *ERBB3* i *PIP5K1C*.

Dystalne SMA, do których zalicza się również SMARD1, klasyfikowane są także w grupie choroby Charcot-Marie-Tooth (ang. CMT) jako dziedziczne neuronopatie ruchowe (ang. hereditary motor neuronopathy, HMN). W obrazie klinicznym dominują objawy osłabienia i zaniku mięśni dystalnych. Neurofizjologicznie stwierdza się obraz odnerwienia w EMG, przy prawidłowych lub skróconych szybkościach przewodzenia w nerwach ruchowych oraz prawidłowej amplitudzie i czasie przewodzenia w nerwach czuciowych. Biorąc pod uwagę, że komórka motoneuronu wraz aksonem, czyli składową nerwu obwodowego, stanowi jedną funkcjonalną i anatomiczną całość, dyskusja na temat nozologii wydaje się bezpodstawna, a cała grupa chorób być może powinna być zaliczana do chorób dolnego motoneuronu. Coraz lepsze poznanie patofizjologii, podłoża molekularnego chorób zamazuje historycznie przyjęte granice klasyfikacji. W tej grupie chorób znajdziemy szereg dorosłych postaci SMA, m.in. związanych z mutacjami genów *HSPB1*, *HSPB3*, *HSPB8*, *ATP7A*, *DNAJB2*, *FBXO38*. Objawy mogą przypadać też na 1 i 2 dekadę życia, np. w przypadku mutacji genów *GARS*, *BSCL2*, *DCTN1*, *SIGMAR*, *SLC5A7*, *REEP1*, *WARS*, *AARS*. Inne postaci mogą wreszcie rozpoczynać się we wczesnym dzieciństwie, czy nawet w niemowlęctwie, jak wspomniany wcześniej SMARD1, ale też SMA związane z mutacjami *PLEKHG5*.

Na odrębne wspomnienie zasługują postaci wrodzone lub z początkiem we wczesnym dzieciństwie, ale niepostępujące lub bardzo powoli postępujące. Należy do ich wrodzony niepostępujący rdzeniowy zanik mięśni (ang. spinal muscular atrophy congenital nonprogressive, OMIM 600175) związany z mutacjami genu *TRPV4* oraz tzw. SMALED (ang. spinal muscular atrophy lower extremity

predominant type 1 and 2, SMALED1 and 2, OMIM 158600, 615290) związany z mutacjami genu *DYNC1H1* oraz *BICD2*.

Wiele z wymienionych genów odpowiedzialnych za rdzeniowe zaniki mięśni wiązana jest z dużą heterogennością kliniczną, dając także fenotypy choroby Charcot-Marie-Tooth (*DNAJB2*, *GARS*, *PLEKHG5*), ale również stwardnienia zanikowego bocznego (*VAPB*), paraplegii spastycznych (*REEP1*), czy zespołu miastenicznego (*SLC5A7*).

Tematyką rdzeniowego zaniku mięśni zajmuję się od początku pracy zawodowej. Jest ona naturalną kontynuacją badań prowadzonych przez Profesor Irenę Hausmanową-Petrusewicz i jej zespół od lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku, początkowo w Klinice Neurologii Akademii Medycznej w Warszawie, następnie w Zespole Nerwowo-Mięśniowym IMDiK PAN. W 1998 roku brałam udział we wprowadzaniu w Polsce diagnostyki molekularnej SMA, inicjowanej w ramach projektu KBN we współpracy z Instytutem Matki i Dziecka i Instytutem Psychiatrii i Neurologii. Od tego też czasu rozpoczęła się moja bliska współpraca z oboma instytutami oraz Kliniką Neurologii WUM. Dzięki tej współpracy, w ramach kolejnych projektów naukowych możliwe było poszerzanie profilu diagnostycznego choroby o mutacje punktowe i badanie nosicielstwa, opracowanie korelacji kliniczno-genetycznych, badanie procesu patogenetycznego na poziomie genu i białka, przygotowanie informatycznej bazy danych pod kątem rodzących się prób klinicznych, prowadzenie badań nad epidemiologią choroby. Zajmując się SMA przez wiele lat miałam także kontakt z pacjentami chorującymi na rzadkie formy SMA. U części tych chorych udało się postawić rozpoznanie na poziomie molekularnym (mutacje w genach *UBA1*, *TRPV4*, *EXOSC3*, *HSPB8*, *BICD2*) i objąć ich i ich rodziny opieką oraz poradnictwem genetycznym.

Do cyklu prac ilustrujących prezentowane osiągnięcie wybrałam trzy prace dotyczące korelacji kliniczno-genetycznych, jedną pracę poświęconą zagadnieniom epidemiologicznym oraz trzy artykuły prezentujące pacjentów z bardzo rzadkimi formami rdzeniowego zaniku mięśni: SMARD1, SMAX2 oraz SMA zależnym od mutacji genu *TRPV4*.

Pierwsze trzy prace cyklu poświęcone są profilowi mutacji w polskiej populacji chorych oraz korelacjom kliniczno-genetycznym w proksymalnym dziecięcym i młodzieńczym SMA.

Ad. 1. Duża różnorodność przebiegu klinicznego choroby rodzi pytania na temat czynników modyfikujących. W pierwszej kolejności rozpatrywana jest różnorodność mutacji i ich patogenny wpływ na ostateczny produkt białkowy. Jednak dosiebny dziecięcy i młodzieńczy rdzeniowy zanik mięśni związany z mutacjami genu *SMN1* jest jednostką chorobową niezwykle homogeną genetycznie. Ponad 95% mutacji stanowi obualleliczna utrata eksonu 7 lub eksonów 7 i 8 genu *SMN1* (Lefebvre 1995, Rodrigues 1995, Glotov 2001). Jej częstość w polskiej populacji szacowana jest na 96,6%

(Jędrzejowska 2005). Tak wysoka homogenność podłoża genetycznego zrodziła pytanie dotyczące zmienności fenotypowej SMA i potencjalnych modyfikatorów fenotypu. Początkowo zmienność wiązano z wielkością delecji w regionie SMA (Levebvre 1995). Uważano, że duże delecje obejmujące sąsiadujące geny, jak np. gen *NAIP* powodują ostrą formę choroby. Wydawało się to o tyle prawdopodobne, że gen *NAIP* należy do grupy inhibitorów apoptozy, tym samym jego uszkodzenie może być zaangażowane w utratę motoneuronów rdzenia. Później zaczęto wiązać zmienność fenotypową z różną liczbą i jakością genów *SMN* (Burghes 1997). Geny *SMN1* i *SMN2* są bliźniaczo podobne. Między kopiami genu *SMN* może dochodzić do konwersji, powstawania genów hybrydowych. Burghes uważał, że ostra forma choroby spowodowana jest rzeczywistymi delecjami w regionie SMA, zaś postać łagodna - konwersją genów *SMN*. Skoro utratę *SMN1* i *NAIP* oraz przeciętną dla populacji liczbę kopii *SMN2* (1 lub 2) stwierdza się głównie w formie ostrej, to świadczy to o rzeczywistej delecji dotyczącej całego odcinka telomerowego regionu SMA, z zachowaną częścią centromerową. Z kolei obecne u chorych na formę łagodną 3 lub 4 kopie *SMN2* powstają prawdopodobnie w procesie konwersji *SMN1* w *SMN2*. W związku z tym w badaniach nad modyfikatorami fenotypu skoncentrowano się wyłącznie na liczbie kopii *SMN2*. Wykazano silną korelację między liczbą kopii *SMN2* a fenotypem choroby. Pacjenci z formą ostrą mają zwykle 1 do 2 kopii, z postacią pośrednią od 2 do 3, a z formą łagodną 3-4 a nawet 5 i 6 kopii (Feldkötter 2002, Mailman 2002, Wirth 2006). Wpływ liczby kopii genu *SMN2* nie jest jednak bezwzględny, np. 3 kopie *SMN2* obserwuje się zarówno w SMA1 jak i SMA3. Kopie *SMN2* są nierównoważne funkcjonalnie i produkują różną ilość pełnowartościowego białka *SMN* (Harada 2002).

Poza niewątpliwym wpływem różnic w podłożu molekularnym regionu SMA na fenotyp, w piśmiennictwie zwracano uwagę na wpływ płci na fenotyp choroby. Obserwowano, że kobiety dwukrotnie rzadziej zachorowują na postać łagodną i upatrywano w tym ochronnego wpływu estrogenów (Hausmanowa-Petrusewicz 1984). Także przypadki bezobjawowej obuallelicznej mutacji genu *SMN1* dotyczyły częściej kobiet (Helmken 2003).

W pracy podjęliśmy się jednocześniej analizy wymienianych modyfikatorów fenotypu, tzn. analizy wielkości delecji w regionie SMA, liczby kopii *SMN2* oraz wpływu płci na fenotyp SMA.

Analizę płci przeprowadziliśmy w grupie 1038 pacjentów, w tym 204 z SMA1 (114 M, 90 K), 330 z SMA2 (171 M, 159 K), 298 z SMA3a (142 M, 156 K), 206 z SMA3b (142 M, 64 K) i 1 K z SMA4. (M-mężczyźni, K-kobiety).

Poszerzone badania molekularne (w kierunku delecji eksonu 7 i 8 genu *SMN1* oraz eksonu 5 i 6 genu *NAIP* i liczby kopii genu *SMN2*) wykonano w grupie 240 pacjentów, w tym 86 pacjentów z SMA1 (38 K, 48 M), 68 z SMA2 (26 K, 42M), 48 z SMA3a (21 K, 27 M), 37 z SMA3b (13 K, 24 M) i 1 pacjenta z SMA4 (K). W badanej grupie dużą delecję obejmującą gen *NAIP* obserwowaliśmy u 48 badanych,

izolowaną utratę eksonu 7 *SMN1* u 38 pacjentów, u pozostałych 154 chorych - delecję eksonu 7 i 8 *SMN1*, z zachowanym genem *NAIP*. Analiza liczby kopii genu *SMN2* wykazała obecność 1 kopii genu u 4 pacjentów (1,67%), 2 kopii - u 50 (20,83%), 3 kopii- u 131 (54,58%), 4 kopii- u 53 (22,08%) i 5 kopii genu - u 2 pacjentów (0,83%).

Wieloczynnikowa analiza regresji logistycznej z krokową strategią wyboru czynników (liczba kopii genu *SMN2*, obecność delecji eksonu 7 i 8, izolowanej delecji eksonu 7, delecji eksonu 7, 8 *SMN1* i genu *NAIP*, płeć pacjenta) przeprowadzona w grupie 240 pacjentów wykazała niezależny istotny wpływ dwóch czynników na fenotyp SMA - delecji *NAIP* ($p=0,0022$) i liczby kopii *SMN2* ($p<0,0001$)

Delecja w genie *NAIP* korelowała z nasileniem objawów klinicznych (Fisher's Exact Test $P<0,0001$). Występowała ona przede wszystkim u chorych z postacią ostrą (73%). W postaci łagodnej (3a i 3b) obserwowano tylko dwa przypadki takiej delecji. Z drugiej strony izolowana utrata eksonu 7 obserwowana była z podobną częstością we wszystkich formach SMA.

Wzrost liczby kopii *SMN2* łagodził fenotyp choroby (współczynnik korelacji Spearmana $r=0,74$). W postaci ostrej najczęściej obserwowano 1 lub 2 kopie *SMN2* (59% pacjentów), ale stosunkowo często także 3 kopie genu (41%). W SMA2 u 84% pacjentów wykazano obecność 3 kopii genu. W formie 3a najczęściej obserwowano 3 lub 4 kopie *SMN2* (odpowiednio 66% i 33%). W formie 3b najczęściej stwierdzaliśmy 4 kopie *SMN2* (78%).

Wpływ płci pozostaje wciąż niejasny. W grupie 1038 pacjentów 55% stanowili mężczyźni, największa dysproporcja dotyczyła formy SMA1 (K/M= 0,78) oraz SMA3b (K/M=0,45). Różnicę podłoża molekularnego regionu SMA między płcią żeńską i męską obserwowaliśmy tylko w SMA1. W tej grupie delecja w genie *NAIP* obserwowana była dwukrotnie częściej u dziewczynek w porównaniu z grupą chłopców.

Spośród analizowanych czynników dwa wydają się mieć istotny wpływ na przebieg choroby - liczba kopii *SMN2* i obecność delecji genu *NAIP*. Wpływ liczby kopii *SMN2* wydaje się być pewny. Korelacja między liczbą kopii a fenotypem jest silna. Zwraca uwagę niski odsetek pacjentów z 1 kopią genu *SMN1* (4/240) i nie odbiega on od wyników dotychczasowych prac (9/375 Feldkötter, 7/142 Mailman) (Feldkötter 2002, Mailman 2002). Wydaje się, że utrata obu alleli *SMN1*, przy zachowanej 1 kopii *SMN2*, może być cechą letalną.

Z przeprowadzonych badań wynika także, że obecność delecji genu *NAIP* pogarsza rokowanie, niezależnie od liczby kopii *SMN2*. Prawdopodobnie obecność delecji tego genu świadczy jedynie o mechanizmie utraty *SMN1*, niemniej jednak stanowi niezależny czynnik rokowniczy.

Zagadnienie wpływu płci na fenotyp choroby wielokrotnie pojawia się w literaturze dotyczącej rdzeniowego zaniku mięśni i w zasadzie nigdy nie zostało wyjaśnione. Zjawisko dwukrotnie niższej

zachorowalności na SMA wśród dziewcząt powyżej 8 roku życia, w porównaniu do identycznej wiekowo grupy chłopców, obserwowano od dawna (Hausmanowa-Petrusewicz 1984). Odwrotne proporcje występują wśród bezobjawowych nosicieli obuallelicznej delecji, gdzie przeważają kobiety (w okresie pisania artykułu - 14 vs 9, a biorąc pod uwagę tylko rodzeństwa -13 vs 5) (Prior 2004, Hahnen 1995, Cobben 1995, Wang 1996). W badanej przez nas grupie zwracała uwagę przewaga płci męskiej, najsilniej wyrażona w postaci łagodnej 3b, co pozostaje w zgodzie z dotychczasowymi obserwacjami. Badania molekularne dotyczące regionu SMA w tej grupie nie wykazały jednak istotnych różnic w zależności od płci, wskazując na istnienie niezależnego modyfikatora fenotypu. Istnienia jednego z takich modyfikatorów dowiodły późniejsze prace. U asymptomatycznych nosicielek delecji genu *SMN1* stwierdzono nadekspresję plastyny 3, kodowanej przez gen *PLS3*, zlokalizowany na chromosomie X (Oprea 2008). Badania ekspresji plastyny 3 nie były jednak prowadzone na szerszej populacji chorych.

W badanej grupie obserwowaliśmy trzy przypadki formy przewlekłej z nietypowym genotypem - dwóch pacjentów z łagodną formą SMA i delecją obejmującą *NAIP* oraz jednego chłopca z formą borderline 2/3a i 1 kopią *SMN1*. Obecność delecji w łagodnej formie choroby należy do rzadkości, aczkolwiek była już odnotowana w literaturze (Yamashita 2004). Jeśli uznać, że delecja *NAIP* świadczy jedynie o mechanizmie genetycznym utraty genu *SMN1*, czyli rzeczywistej delecji, to jak wytłumaczyć obecność 3 lub 4 kopii *SMN2*? Można spekulować, że do delecji doszło na allelu, na którym wcześniej wystąpiła konwersja genów *SMN1* w *SMN2*. Biorąc pod uwagę niestabilność regionu SMA, taka sekwencja zdarzeń wydaje się być możliwa. Bardziej zaskakująca wydawała się nam obecność jednej kopii genu *SMN2* u pacjenta z formą pośrednią. W największym opracowaniu dotyczącym korelacji między liczbą *SMN2* a fenotypem Feldkötter wskazywał, że obecność 1 kopii tegoż genu łączy się bezwarunkowo z formą ostrą, co więcej - maksymalna długość przeżycia chorych wyniosła 11 miesięcy (Feldkötter 2002). Również w opracowaniu Mailmana obecność jednej kopii wiązała się ściśle z formą ostrą (Mailman 2002). Późniejsze prace dowiodły istnienia kolejnego modyfikatora choroby - substytucji c.859G>C w eksonie 7 genu *SMN2* (Bernal 2010, Calucho 2018). Opisano ją u kilku chorych, których łagodny fenotyp nie korelował z liczbą *SMN2* (1 kopia *SMN2* u chorych z SMA2 i SMA3). Opisywana zmiana tworzy sekwencję nowego wzmacniacza transkrypcji (ang. exonic splice enhancer, ESE) w eksonie 7, zwiększając tym samym poziom białka SMN pełnej długości i łagodząc przebieg choroby.

Przedstawiona analiza wskazuje, że pomimo poznania generalnych zasad dotyczących korelacji fenotypowo-genotypowych w rdzeniowym zaniku mięśni, wciąż wiele jest niewiadomych. Wiele kontrowersji budzi wpływ płci, której rola wydaje się istotna, acz wciąż nie do końca jasna. Przedstawiona praca wskazuje, jak wiele czynników wpływa na fenotyp i jak wiele należy jeszcze wyjaśnić badając korelacje fenotypowo-genotypowe. Ma to szczególne znaczenie w ocenie rokowania pacjentów presymptomatycznych, np. identyfikowanych w skryningu noworodkowym.

Ad.2 Wkrótce po identyfikacji podłoża genetycznego SMA okazało się, że obraz fenotypowy choroby jest znacznie szerszy, niż początkowo zakładano (SMA1, SMA2 i SMA3). Obualleleliczną utratę genu *SMN1* zidentyfikowano także u pacjentów z początkiem objawów w wieku dorosłym (SMA4), jak i w okresie prenatalnym (SMA0) (Zerres 1995, Brahe 1995, Macleod 1999). Co więcej, wykonując badania u zdrowych członków rodzin, u niewielkiego odsetka wykryto tzw. bezobjawowe obualleleliczne delecje (Wang 1996, Prior 2004)

Druga praca z cyklu miała na celu identyfikację bezobjawowych nosicieli obuallelelicznej delecji *SMN1* wśród zdrowych członków polskich rodzin SMA oraz próbę oszacowania częstości tego zjawiska.

Badania molekularne w kierunku obuallelelicznej delecji w genie *SMN1* wykonano w grupie 490 klinicznie zdrowych członków rodzin SMA, w tym u 386 rodziców (213 matek i 173 ojców), 63 rodzeństwa (29 braci i 34 siostr), 9 dzieci (3 synów i 6 córek) i 32 kuzynów oraz w grupie 300 kontroli (osoby z negatywnym wywiadem w kierunku chorób nerwowo-mięśniowych w rodzinie).

Obecność obuallelelicznej delecji w genie *SMN1* zidentyfikowano u trzech klinicznie zdrowych osób z 3 rodzin SMA. U osób tych przeprowadzono badanie neurologiczne, badanie elektrofizjologiczne (w dwóch przypadkach) oraz poszerzono badania molekularne (wielkość delecji w regionie SMA, liczba kopii *SMN2*, poziom białka SMN w fibroblastach skóry).

W pierwszej rodzinie obualleleliczną delecję stwierdzono u trojga z czwórki rodzeństwa. Dwaj bracia chorowali na postać przewlekłą SMA (typ 3a i 3b), ich 25-letnia siostra nie wykazywał objawów klinicznych, miała natomiast zmiany neurogenne w zapisie EMG. Wszyscy mieli po 4 kopie genu *SMN2* oraz identyczny poziom ekspresji białka SMN w fibroblastach skóry. Rodzice i zdrowy brat byli heterozygotycznymi nosicielami mutacji; u tego ostatniego obserwowano neurogenne zmiany w EMG.

W drugiej rodzinie chorowało czworo z sześciorga dzieci (SMA2 i SMA3a). Każde z chorych dzieci miało po 3 kopie genu *SMN2*. U klinicznie zdrowego 47-letniego ojca stwierdzono obualleleliczną delecję, a badanie ilościowe wykazało obecność 4 kopii genu *SMN2*. Zapis EMG wskazywał na zmiany neurogenne. Matka dzieci była heterozygotyczną nosicielką mutacji w genie *SMN1*.

W trzeciej rodzinie obualleleliczną delecję w genie *SMN1* stwierdziliśmy u dziewczynki chorej na SMA1 i jej zdrowego 53-letniego ojca. Stwierdzono u niego obecność 5 kopii genu *SMN2*. Matka była heterozygotyczną nosicielką delecji.

Do czasu opublikowania artykułu, w literaturze opisano 23 pacjentów z bezobjawową obualleleliczną delecją genu *SMN1* z 19 rodzin (łącznie z prezentowanymi w tym artykule). W 13 rodzinach chore było rodzeństwo bezobjawowych nosicieli, w 5 - dzieci, a w 1 - brat i syn. W grupie tej przeważają kobiety (14 kobiet, 9 mężczyzn). Liczbę kopii genu *SMN2* zbadano w 13 przypadkach, w tym u 3 przedstawionych powyżej. Zakres liczby kopii genu *SMN2* sięgał od dwóch do pięciu. W zbadanych rodzeństwach prawie wszyscy zdrowi i chorzy członkowie rodzin z delecją mieli identyczną liczbę kopii

SMN2. Wyjątek stanowi przypadek opisany przez Prior, w którym probant miał dwie kopie genu *SMN2*, a jego brat pięć kopii (Prior 2004). Jest to jedyny opisany w literaturze przypadek wskazujący na zmianę w *locus SMA*. Jest to także jedyny przypadek, w którym probant cierpiał na SMA1. W pozostałych rodzinach pacjenci chorowali na postać przewlekłą. Zmiana w *locus SMA* może tłumaczyć występowanie skrajnie różnych form w jednym rodzeństwie np. SMA1 i SMA3. Wielkość delecji w regionie SMA analizowano w sumie w 9 przypadkach z obualliczną delecją. We wszystkich była ona identyczna i obejmowała ekson 7 i 8 genu *SMN1*, z zachowaniem genu *NAIP*. Powyższe dane sugerują istnienie innych, poza wielkością delecji i liczbą *SMN2*, modyfikatorów odpowiedzialnych za zjawisko bezobjawowego nosicielstwa obuallelicznej delecji. Jednocześnie analiza opisanych przypadków sugeruje, że prawdopodobnie obecność pięciu (i więcej) kopii genu *SMN2* kompensuje brak obu kopii genu *SMN1*.

Wydaje się, że pewną rolę w modyfikowaniu fenotypu przypadków bezobjawowych odgrywa płeć. W grupie bezobjawowych nosicieli obuallelicznej delecji więcej jest kobiet (14 kobiet vs 9 mężczyzn). Jeśli uwzględni się tylko rodzeństwa (identyczny genotyp w *locus SMA*), proporcja ta ulega wzmocnieniu. W grupie 14 rodzeństw w 9 przypadkach bezobjawowy przebieg dotyczył kobiet, w 4 mężczyzn, a w 1 i mężczyzny i kobiety. Obserwowana przewaga kobiet może być przypadkowa, może jednak też potwierdzać istnienie czynnika ochronnego zależnego od płci.

Niezależnie od prezentowanej pracy, obualleliczną delecję genu *SMN1* zidentyfikowaliśmy jeszcze u jednego bezobjawowego pacjenta, którego brat chorował na postać łagodną SMA (Jędrzejowska 2011).

Wydaje się, że występowanie asymptotycznej obuallicznej delecji jest zjawiskiem bardzo rzadkim, wręcz kazuistycznym. W przebadanej przez nas grupie 490 klinicznie zdrowych członków rodzin SMA (w tym 437 obligatoryjnych nosicieli delecji - rodzice, dzieci, 2/3 zdrowego rodzeństwa), delecję stwierdziliśmy w trzech przedstawionych powyżej przypadkach. Prior i wsp. stwierdzili obualliczną delecję w 3 przypadkach na 408 członków rodzin. Wang i wsp. zidentyfikował pewną delecję u 2 klinicznie zdrowych osób w grupie 214 rodziców i 66 rodzeństwa. Liczbę asymptotycznych osób z delecją *SMN1* można zatem oszacować na około 0,5-0,7% wśród krewnych pierwszego stopnia pacjentów z SMA. Nie jest to odsetek wysoki, jednak wskazuje na potrzebę badania członków rodzin SMA. Stwierdzenie obuallelicznej delecji zmienia treść porady genetycznej. Częstość takiego zjawiska w populacji ogólnej nie jest znana. Jest ono skrajnie rzadkie. W największych dotąd analizach populacyjnych odpowiednio 68 471 (Sugarman 2012) i 107 611 (Su 2011) osób badanych w kierunku nosicielstwa SMA, nie zidentyfikowano takiej zmiany u nikogo. Nie zidentyfikowaliśmy jej także w grupie 300 zdrowych osób z grupy kontrolnej.

Ad.3. Poznanie profilu mutacji dla danej populacji ułatwia diagnostykę choroby. Częstość najczęstszej zmiany - delecji eksonu 7 genu *SMN1* w populacji chorych na SMA została oszacowana w Polsce na 96,6% (Jędrzejowska 2005). W pozostałych przypadkach za objawy choroby prawdopodobnie odpowiadały mutacje punktowe genu *SMN1*, współwystępujące z delecją. W kolejnej pracy z cyklu podjęto ocenę profilu małych mutacji wewnątrzgenowych w polskiej populacji chorych na SMA.

Badaniami objęto grupę 606 pacjentów kierowanych na diagnostykę w kierunku SMA, u których nie wykryto homozygotycznej delecji *SMN1*. U pacjentów wykonano badanie ilościowe liczby kopii genu *SMN1* i *SMN2* metodą Real-time PCR lub MLPA. U 32 chorych z zachowaną jedną kopią genu *SMN1*, sugerującą delecję genu na jednym z alleli, mogącą współwystępować z mutacją punktową na zachowanej kopii, wykonano analizę sekwencji kodującej genu *SMN1*. U 18 niespokrewnionych chorych zidentyfikowano 7 różnych mutacji punktowych, z których 4 nie zostały dotychczas opisane. U sześciu pacjentów z ciężkim fenotypem SMA (SMA1) zidentyfikowano małe delecje (c.429_435del - 3 pacjentów, c. 431delC - 2 i c.722delC -1). Najczęstszą mutacją, stwierdzoną u 9 chorych z łagodną postacią choroby, była zmiana typu missense - p.Thr274Ile. U pacjentów z mutacją p.Thr274Ile liczba kopii genu *SMN2* istotnie wpływała na nasilenie objawów choroby. Trzy pozostałe mutacje, stwierdzone u pojedynczych pacjentów, również miały charakter zmiany sensu (p.Ser244Leu, p.Ala111Gly i p.Pro244Leu). Mutacja p.Pro244Leu, dotąd nieopisana w literaturze fachowej, wiązała się z nietypowym fenotypem SMA – w obrazie klinicznym dominowało dystalne osłabienie siły mięśniowej.

Uzyskane wyniki wskazują na specyficzne spektrum mutacji punktowych genu *SMN1* w populacji polskiej. Większość wykrytych mutacji znajduje się w eksonach 3 i 6, w związku z czym powinny być one badane w pierwszej kolejności. U chorych z łagodnym przebiegiem choroby, u których nie wykazano homozygotycznej delecji genu *SMN1*, należy w pierwszej kolejności wykluczyć obecność mutacji p.Thr274Ile. Zidentyfikowana zmiana p.Pro244Leu u chorego z dominującym dystalnym rozkładem zaników może sugerować szersze spektrum fenotypowe SMA lub obecność zespołu nakładania, związanego ze współwystępującą inną neuronopatią.

Ad.4. Szacowanie częstości zachorowania (ang. incidence) i częstości występowania w populacji ogólnej (ang. prevalence) chorób rzadkich i ultraradkich jest zadaniem trudnym. W rdzeniowym zaniku mięśni zmienny fenotyp i wiążąca się z tym skrajnie różna przeżywalność dodatkowo komplikuje taką ocenę. Znajomość epidemiologii choroby jest tymczasem bardzo ważna w planowaniu organizacji opieki medycznej, zwłaszcza wobec opracowania nowych terapii.

Wprowadzenie badań genetycznych uprościło diagnostykę SMA i przyczyniło się do zwiększenia rozpoznawalności choroby. Skłoniło nas to do podjęcia próby oceny częstości

zachorowania na SMA w Polsce, szacowanej na podstawie metaanalizy badań molekularnych w kierunku SMA wykonanych w latach 1998- 2005 oraz częstości nosicielstwa delecji w genie *SMN1* w populacji ogólnej.

W próbie oceny częstości zachorowania na SMA posłużyliśmy się bazą danych obejmującą wszystkie badania molekularne przeprowadzone w Polsce w kierunku SMA od momentu wprowadzenia diagnostyki molekularnej. Wyniki badań molekularnych uznaliśmy za wiarygodny wskaźnik zachorowalności na SMA. W Polsce w latach 1998-2005 diagnostykę molekularną w kierunku SMA wykonywano w dwóch ośrodkach. W tym okresie przeprowadzono 770 badań w kierunku SMA, w 567 uzyskując wynik potwierdzający rozpoznanie SMA. W 304 były to nowe zachorowania, w pozostałych przypadkach badanie wykonywano jako potwierdzenie diagnozy stawianej wcześniej. Ponadto wykonano 72 badania prenatalne, w 14 przypadkach uzyskując wynik wskazujący na chorobę u płodu. Niezależnie przeprowadziliśmy analizę zachorowalności na SMA w Warszawie. W badanym okresie zdiagnozowano tu 14 nowych zachorowań (w tym 2 diagnozy prenatalne).

W 2005 roku Polska była krajem o populacji liczącej 38 157 055 ludności (stan na 31.12.2005 rok wg Głównego Urzędu Statystycznego). Średnia liczba żywych urodzeń w latach 1998-2005 wynosiła 370 475. Średnią zachorowalność na SMA w Polsce oszacowano zatem 1 na 9749 urodzeń ($38/370475$) oraz odpowiednio 1:18100 dla SMA1, 1:80103 dla SMA2 i 1:51100 dla SMA3. Uwzględnienie w analizie badań prenatalnych wykonanych w tym okresie, zwiększa zachorowalność do 1 na 9379. Zapadalność na SMA w Warszawie oszacowano na 1 na 7127 ($14/99\ 785$). Wśród przypadków świeżo zdiagnozowanych dominowała postać ostra, stanowiąc 68,75% ($209/304$). Postacie 2 i 3 stanowiły odpowiednio 12% ($37/304$) i 19% ($58/304$).

Celem oceny częstości nosicielstwa SMA w populacji ogólnej wykonaliśmy analizę liczby kopii genu *SMN1* w grupie kontrolnej 600 osób (zdrowe osoby rasy kaukaskiej z negatywnym wywiadem rodzinnym w kierunku chorób nerwowo-mięśniowych). Badania wykonano techniką real-time PCR z użyciem sond TaqMan. Wynik wskazujący na obecność jednej kopii genu *SMN1* i tym samym stan nosicielstwa delecji w genie *SMN1* stwierdzono w 17 na 600 przebadanych prób. Szacowana częstość nosicielstwa w populacji ogólnej wynosi zatem 1 na 35 osób, a częstość zachorowania wynikająca z częstości nosicielstwa 1 na 4900 urodzeń.

Okolo 4,7% ($28/600$) kontroli wykazało 3 kopie genu *SMN1*, sugerujące obecność duplikacji na jednym z alleli.

Najczęściej w badanej grupie stwierdzano obecność dwóch kopii genu *SMN1* i jednej lub dwóch kopii genu *SMN2* (tzw. genotyp 2/1 i 2/2), łącznie w 85% przypadków.

Analiza ilościowa liczby kopii *SMN2* wykazała, że 44% (262/600) osób z grupy kontrolnej posiada 2 kopie *SMN2*, 42% (250/600) – 1 kopię *SMN2*, 3,6% (22/600) - 3 kopie *SMN2*, 1% (6/600) - 4 kopie *SMN2*, a 10% (60/600) badanych delecje obu kopii genu *SMN2*.

Częstość zachorowania oszacowana na podstawie częstości nosicielstwa w populacji ogólnej jest wyższa od częstości zachorowania szacowanej na podstawie analizy przypadków zdiagnozowanych molekularnie. Za rozbieżności w uzyskanych wynikach może odpowiadać kilka czynników, m.in. wciąż niedostateczna rozpoznawalność choroby (o czym świadczy m.in. wyższa zapadalność uzyskana w Warszawie) oraz jej potencjalna letalność (przy określonym genotypie - brak lub 1 kopia *SMN2*). Inną przyczyną uzyskanych rozbieżności może być przeszacowana częstość nosicielstwa, spowodowana nieprawidłowym doбором i wielkością grupy kontrolnej. Wyniki badań częstości nosicielstwa w innych populacjach europejskich szacowane w okresie powstawania pracy były dość podobne (1 na 34 dla populacji francuskiej, 1 na 35 dla populacji niemieckiej) (Cusin 2003, Feldkötter 2002). Późniejsze badania przeprowadzone na wieloetnicznej grupie 68478 osób w USA wykazały częstość nosicielstwa SMA w populacji ogólnej 1:54 osoby oraz zapadalność około 1 na 11 tysięcy urodzeń (Sugerman 2012). W pracy tej obserwowano duże różnice częstości nosicielstwa w zależności od rasy – najwyższą w rasie kaukaskiej (2,02%), najniższą wśród Afroamerykanów (0,98%).

Uzyskane w pracy wyniki pozostają jednak w zgodzie z nowo opublikowanymi badaniami nad epidemiologią SMA w Europie, wskazującymi na częstość zachorowania na SMA wynoszącą około 1 na 8400 urodzeń (11.9/100000) ((1)Verhaart 2017). W okresie 2011-2015 zdiagnozowano w Europie 4653 nowych przypadków choroby, w samym tylko 2015 roku - 992.

Kolejne trzy prace z cyklu dotyczą ultrazadkich form SMA.

Ad. 5. Piąta praca z cyklu charakteryzuje polskich pacjentów z rzadką przeponową postacią rdzeniowego zaniku mięśni (ang. SMARD1, spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1) (OMIM #604320) rozpoznanych klinicznie i zweryfikowanych przy pomocy celowanych badań genetycznych.

Szacuje się, że przeponowa postać rdzeniowego zaniku mięśni może stanowić około 1% wszystkich ciężkich postaci SMA (Rudnik-Schöneborn 2004). Związana jest z mutacjami genu *IGHMBP2* i dziedziczy się jako cecha autosomalna recesywna. Ze względu na obserwowane u chorych zaburzenia przewodnictwa ruchowego ta jednostka chorobowa jest również klasyfikowana w grupie odsiebnych dziedzicznych neuronopatii ruchowych (dHMN6, distal hereditary motor neuropathy type 6). W obrazie klinicznym przeponowej postaci SMA dominują objawy niewydolności oddechowej (Jędrzejowska 2010). Pojawiają się one zwykle między 6 tygodniem a 6 miesiącem życia dziecka. Towarzyszy im porażenie mięśni przepony. W wywiadzie często stwierdza się wcześniactwo i/lub

hipotrofię wewnątrzmaciczną. Osłabienie siły mięśniowej pojawia się około 3-4 miesiąca życia. Dotyczy początkowo mięśni odsiebnych. Stopniowo obejmuje wszystkie grupy mięśniowe i doprowadza do pełnego unieruchomienia. U części chorych obserwuje się także objawy uszkodzenia nerwów czuciowych (obniżona reakcja na ból i temperaturę) i autonomicznych (zaburzenia rytmu serca, nadciśnienie, nadmierne pocenie, pęcherz neurogeny, zaparcia) oraz przedwczesne dojrzewanie. Opisano także postaci o łagodniejszym przebiegu z objawami występującymi po 1 rż (Grohmann 2003). Mutacje genu *IGHMBP2* mogą być również przyczyną neuropatii aksonalnej, o znacznie lżejszym przebiegu w porównaniu ze SMARD1, ale ciężkim na tle innych postaci choroby Charcot-Marie-Tooth (Cottenie 2014).

W pracy opisaliśmy pięcioro dzieci (w tym jedno rodzeństwo) ze zweryfikowanym molekularnie rozpoznaniem SMARD1. Wszystkie prezentowały ciężką formę choroby z niespecyficznymi objawami pod postacią cichego płaczu, zaburzeń żywienia i wiotkości od urodzenia. Wszystkie urodziły się z niską masą urodzeniową i rozwinęły niewydolność oddechową z porażeniem przepony między 2 a 3 miesiącem życia. Osłabienie siły mięśniowej początkowo dotyczyło mięśni odsiebnych, żaden z pacjentów nie osiągnął zdolności samodzielnego siedzenia i chodzenia. U trojga, które dożyły do 1 rż, obserwowano zahamowanie postępu choroby, a nawet poprawę stanu ruchowego. Dwoje z dzieci prezentowało nasilone zaburzenia autonomiczne: napady potów, tachykardii, zatrzymanie moczu, wolną perystaltykę układu pokarmowego i zaparcia. Dwoje dzieci zmarło nagle, bez objawów infekcji, jedno dziecko w przebiegu niewydolności oddechowej, jedno na skutek powikłań po zatrzymaniu krążenia.

Badania dodatkowe wykazały u trojga chorych niewielki wzrost transaminaz i CK. W badaniu radiologicznym klatki piersiowej stwierdzono porażenie przepony, częściej prawostronne (4/5 chorych). Badania układu pokarmowego wykazały m.in. refluks żołądkowo-przełykowy, zwolnienie opróżniania żołądka, zaleganie mas pokarmowych w żołądku i jelitach. W badaniach elektrofizjologicznych dominowały objawy odnerwienia oraz brak odpowiedzi z włókien ruchowych jak i czuciowych. Badania obrazowe OUN nie wykazały istotnych odchyłań. W badaniu biopsji mięśniowej wykonanej u 4 chorych, tylko w jednym przypadku stwierdzono obraz „SMA-like”, u pozostałych obraz był niespecyficzny. Badania ultrastruktury wskazywały na postępujący proces degeneracyjny jąder komórek mięśniowych i komórek Schwanna oraz nieprawidłowy obraz złącza nerwowo-mięśniowego.

Najistotniejszym czynnikiem sugerującym podejrzenie SMARD1 wciąż wydaje się obraz kliniczny choroby pod postacią niskiej masy urodzeniowej, niespecyficznymi objawami od okresu noworodkowego, niewydolności oddechowej około 2-3 miesiąca życia z porażeniem przepony oraz postępujący niedowład czterokończynowy. Za diagnozą dodatkowo przemawia osłabienie lub brak odruchów głębokich oraz elektrofizjologiczne cechy uszkodzenia aksonalnego. Ostatecznym

potwierdzeniem podejrzenia SMARD1 jest identyfikacja mutacji w genie *IGHMBP2*. Potwierdzenie diagnozy jest istotne zarówno dla oceny rokowania, jak i pełnego poradnictwa genetycznego w rodzinie.

Ad. 6. Kolejna praca przedstawia pacjenta z inną niezwykle rzadką wczesnodziecięcą formą SMA: rdzeniowym zanikiem mięśni z artrogrypozą i wrodzonymi złamaniami kości (SMAX2, OMIM 301830), dziedzicznym jako cecha recesywna sprzężona z płcią (Greenberg 1988). W obrazie klinicznym tej postaci choroby obserwuje się wiotkość, artrogrypozę, brak odruchów, osłabienie mięśni, w tym również mięśni twarzy, wnetrostwo oraz występujące u większości pacjentów złamania kości pojawiające się prenatalnie lub w okresie okołoporodowym. Choroba związana jest z mutacjami genu *UBA1* (Ramser 2008). Białko UBA1, kodowane przez gen *UBA1*, zlokalizowany w odcinku p11.23 chromosomu X, katalizuje pierwszy stopień aktywacji ubikwityny. Proces ubikwitynacji jest jednym z najważniejszych szlaków modyfikacji potranslacyjnej białek (Lecker 2006).

U opisanego pacjenta objawy choroby obecne były od okresu prenatalnego. Od drugiego trymestru ciąży matka chłopca obserwowała słabe ruchy płodu. Po urodzeniu stwierdzono wiotkość, osłabienie siły mięśniowej (brak ruchów w obrębie kończyn dolnych), w tym mięśni twarzy, przykurcze wielostawowe (stawów skokowych, kolanowych biodrowych, ramion, łokci, nadgarstków), obustronne wnetrostwo, brak odruchów głębokich i fibrylacje na języku. W drugiej i piątej dobie życia wystąpiły samoistne złamania prawej kości ramiennej i prawej kości udowej. Początkowo nie obserwowano zaburzeń ssania, polykania i oddychania. Z czasem stan ruchowy ulegał minimalnej poprawie. Ruchy czynne ograniczone były jednak do proksymalnych odcinków kończyn górnych. Chłopiec nie osiągnął zdolności dźwigania głowy, przekręcania się na boki czy siedzenia. Kontakt emocjonalny był prawidłowy. Stopniowo zaczęły pojawiać się epizody bezdechów oraz krztuszenie się. Chłopiec zmarł z powodu niewydolności oddechowej w 6-tym miesiącu życia.

Badania dodatkowe, w tym biochemiczne, obrazowe OUN, jamy brzusznej i serca oraz densytometria nie wykazały istotnych odchyleń. Chłopiec był konsultowany przez specjalistę chorób nerwowo-mięśniowych tylko raz. Ze względu na obraz kliniczny (wiotkie dziecko z artrogrypozą i złamaniami kończyn) i podejrzenie neurogennego pochodzenia obserwowanych zmian (brak odruchów głębokich i fibrylacje na języku) wysunięto podejrzenie SMAX2. Ze względu na stan dziecka nie udało się podjąć diagnostyki nerwowo-mięśniowej. Podejrzenie zostało jednak potwierdzone badaniem molekularnym. Sekwencjonowanie genu *UBA1* wykazało obecność mutacji c.1731C>T o charakterze *de novo*. Powyższa zmiana była już raportowana w 3 rodzinach z SMAX2. W sumie do momentu publikacji pracy opisano 4 warianty genu *UBA1* w 6 rodzinach SMAX2 (Ramser 2008, Dlamini 2013).

Obraz kliniczny SMAX2 nie jest patognomoniczny. Równie ciężkie przebiegi obserwuje się m.in. w niektórych miopatiach wrodzonych (miotubularnej, nemalinowej). SMAX2 powinno być jednak

rozpatrywane w diagnostyce różnicowej u chłopców z wrodzoną wiotkością, artrogrypozą, wnetrostwem i wrodzonymi złamaniami kości. Diagnostyka molekularna SMAX2 jest relatywnie łatwa. Wszystkie opisane dotąd mutacje dotyczyły eksonu 15 genu *UBA1*.

Ad.7 Ostatnia praca cyklu dotyczy kolejnej bardzo rzadkiej postaci SMA, związanej z mutacjami genu *TRPV4*. Mutacje genu *TRPV4* związane są z szerokim spektrum objawów klinicznych: kilkoma fenotypami nerwowomięśniowymi [łopatkowo-strzałkowa postać SMA (ang. scapuloperoneal SMA; SPSMA, OMIM 181405), wrodzona dystalna postać SMA (ang. congenital distal spinal muscular atrophy; CDSMA, OMIM 600175), choroba Charcot-Marie-Tooth typu 2C (CMT2C, OMIM 606071)], a także kilkoma postaciami dysplazji kostnych (ang. brachyolmia type 3 OMIM 113500, metatropic dysplasia OMIM 156530, parastremmatic dwarfism OMIM 168400, spondylomethaphyseal dysplasia Kozłowski type OMIM 184252, spondyloepiphyseal dysplasia Maroteaux type OMIM 184095), digital arthropathy-brachydactyly OMIM 606835) (Deng 2010, Nishimura 2012). Co więcej, w chorobach *TRPV4*-zależnych opisuje się objawy nakładania, ze współistnieniem objawów osłabienia siły mięśniowej i deformacji kostnych (Cho 2012). Gen *TRPV4* koduje białko TRPV4, będące nieselektywnym kanałem wapniowym, zaangażowanym w wiele procesów fizjologicznych i aktywowanym zarówno przez sygnały chemiczne, mechaniczne, osmotyczne jak i termiczne (Nilius 2013).

W pracy opisaliśmy dwie rodziny z identyczną mutacją p. Arg269His genu *TRPV4* oraz dokonaliśmy przeglądu i analizy opisanych w literaturze chorych z w/w wariantem. W jednej z rodzin powyższa zmiana wystąpiła *de novo* i łączyła się z relatywnie ciężkim, aczkolwiek niepostępującym fenotypem z pogranicza dystalnej wrodzonej postaci SMA i łopatkowo-strzałkowej postaci SMA. Dziewczynka urodziła się z kręczem szyi, obustronnymi przykurczami obręczy barkowej, dłoni, stawów biodrowych, kolanowych oraz stopami końsko-szpotaowymi, wymagającymi zabiegów ortopedycznych. Rozwój ruchowy był opóźniony, do 5 roku życia nie osiągnęła zdolności samodzielnego chodzenia. W badaniu zwracała uwagę asymetria twarzy z zezem oraz globalne osłabienie siły mięśniowej z obustronnym asymetrycznym odstawianiem łopatek i hiperlordozą. Dziewczynka siadała i wstawała samodzielnie, chodziła jedynie w ortezach KAFO (ang. knee ankle foot orthosis). W drugiej rodzinie chorowało siedem osób (z których trzy badano klinicznie, u czterech wykonano badania genetyczne). Objawy choroby były skrajnie zmienne: od dyskretnego zaniku mięśni obręczy barkowej i odstawiania łopatek, do ciężkiej postaci wrodzonej. Podobnie jak w poprzedniej rodzinie osoby z wrodzonymi zaburzeniami miały rozkład zaników typowy dla SPSMA. Ocena pacjentów dorosłych z wieloletnim przebiegiem choroby ujawniła relatywnie stacjonarny przebieg, z pogorszeniem funkcjonowania po 30

rż oraz powikłaniami oddechowymi w 5-6-tej dekadzie życia (u pacjentów z cięższym fenotypem). W badaniu zwracały uwagę także objawy szkieletowe - niski wzrost, skolioza oraz deformacje stóp. Zarówno skolioza jak i deformacje stóp mogły być wtórne do osłabienia siły mięśniowej, lecz także stanowić pierwotny element choroby.

W obu rodzinach zidentyfikowaliśmy identyczną mutację p. Arg269His genu *TRPV4*. W przypadku pacjenta z wariantem *de novo*, mutacja została zidentyfikowana metodą sekwencjonowania następnej generacji (ang. next generation sequencing – NGS). W drugiej, wielopokoleniowej rodzinie rozpoznanie postawiono na podstawie badania klinicznego i analizy celowanej genu *TRPV4*. Powyższa mutacja była jak dotąd opisana w 6 rodzinach (niektóre wielopokoleniowe), z obrazem klinicznym SPSMA/CDSMA, ale także i CMT2C (Landoure 2010, Deng 2010, Zimoń 2010, Auer-Grumbach 2010, Biasini 2016, Echaniz–Laguna 2016, Fleming 2016). Przebieg kliniczny był bardzo zmienny. W większości opisanych przypadków objawy pod postacią wrodzonych przykurczy i deformacji kostnych były obecne od urodzenia. Z kolei u pacjentów z późniejszym wiekiem wystąpienia objawów przykurcze stawowe nie rozwijały się. Przebieg choroby był zwykle stacjonarny lub powoli postępujący, chociaż obserwowano także ciężką niepełnosprawność ruchową i niewydolność oddechową w zaawansowanym stadium choroby. Badania funkcjonalne przeprowadzone na liniach komórkowych wskazywały, że mutacja p.Arg269His należy do zmian “gain-of-function”, zwiększając znacznie aktywność kanału wapniowego, a tym samym napływ i stężenie wapnia w komórce (Fecto 2011).

Zmienność fenotypowa, obserwowana w grupie pacjentów z mutacją p.Arg269His sugeruje obecność innych modyfikatorów fenotypu lub bardziej złożony patomechanizm chorobowy.

Pozostałe prace dotyczące SMA

Dodatkowo jestem autorką lub współautorką innych prac dotyczących rdzeniowych zaników mięśni, w tym 6 prac oryginalnych, 4 kazuistycznych, 7 artykułów przeglądowych, 5 monografii i 60 wystąpień zjazdowych (22 zagranicznych i 38 krajowych), których celem było przybliżenie lekarzom różnych specjalności wiedzy na temat tej grupy rzadkich schorzeń. Brałam także udział w przygotowaniu ekspertyzy wykonanej na zlecenie Ministerstwa Zdrowia dotyczącej technik molekularnych w diagnostyce SMA.

Prace oryginalne:

1. Stępień A, **Jędrzejowska M**, Guzek K, Rekowski W, Stępowaska J. Reliability of four tests to assess body posture and the range of selected movements in individuals with spinal muscular atrophy. BMC Musculoskelet Disord. 2019; 20(1):54. **IF: 1,998; KBN/MNiSW:25**

2. Gawel M, Kostera-Pruszczyk A, Lusakowska A, **Jędrzejowska M**, Ryniewicz B, Lipowska M, Gawel D, Kaminska A. Motor unit loss estimation by the multipoint incremental MUNE method in children with spinal muscular atrophy - a preliminary study. *Neuromuscul Disord*. 2015; 25(3):216-21. **IF: 3,107; KBN/MNiSW: 25**
3. Brichta L, Garbes L, **Jędrzejowska M**, Grellscheid SN, Holker I, Zimmermann K, Wirth B. Nonsense-mediated messenger RNA decay of survival motor neuron 1 causes spinal muscular atrophy. *Hum Genet*. 2008; 123(2):141-53. **IF: 4,042; KBN/MNiSW: 32**
4. **Jędrzejowska M**, Wiszniewski W, Zimowski J, Kostera-Pruszczyk A, Ryniewicz B, Bal J, Zaremba J, Mazurczak T, Hausmanowa-Petrusewicz I. Application of a rapid non-invasive technique in the molecular diagnosis of spinal muscular atrophy (SMA). *Neurol Neurochir Pol*. 2005; 39(2): 89-94. **KBN/MNiSW: 6**
5. **Jędrzejowska M**, Zimowski J, Wiszniewski W, Sielska D, Bal J, Mazurczak T, Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J. Diagnostyka prenatalna w rdzeniowym zaniku mięśni. Wskazania, ograniczenia, interpretacja wyników. *Med Wieku Rozwoj*. 2004; 8(3): 651-61. **KBN/MNiSW: 4**
6. **Jędrzejowska M**, Wiszniewski W, Zimowski J, Hausmanowa-Petrusewicz I. Rdzeniowy zanik mięśni – korelacje kliniczno-genetyczne. *Neurol Dziec*. 2000; 8:11-9. **KBN/MNiSW: 1**

Prace kazuistyczne:

1. **Jędrzejowska M**, Ryniewicz B, Kabzińska D, Drac H, Hausmanowa-Petrusewicz I, Kocharński A. A patient with both Charcot-Marie-Tooth disease (CMT 1A) and mild spinal muscular atrophy (SMA3). *Neuromuscul Disord*. 2008; 18(4):339-41. **IF: 2,932; KBN/MNiSW: 32**
2. **Jędrzejowska M**, Madej-Pilarczyk A, Zimowski J, Hausmanowa-Petrusewicz I. Pseudodominujące dziedziczenie rdzeniowego zaniku mięśni- ojciec i syn chorzy na SMA. *Neurol Neurochir Pol*. 2006; 40 (5):446-9. **KBN/MNiSW: 6**
3. **Jędrzejowska M.**, Szczałuba K, Sielska D. Homozygous deletion In the SMN1 gene In asymptomatic individual- genetic counseling issues in SMA-risk families. *Med Wieku Rozwoj*. 2011; 15(2): 126-131. **KBN/MNiSW: 9**
4. Jędrzejowska M, Wiszniewski W, Ryniewicz B, Hausmanowa-Petrusewicz I. Identyfikacja mutacji T274I w genie SMN1 u chorego z rdzeniowym zanikiem mięśni. *Med Wieku Rozwoj*. 2002; 6(4):319-27. **KBN/MNiSW: 4**

Prace poglądowe:

1. **Jędrzejowska M**, Kostera-Pruszczyk A. Rdzeniowy zanik mięśni – nowe terapie, nowe wyzwania. *Neurol Dziec*. 2017; 26, 52: 11-1. **KBN/MNiSW:11**

2. **Jędrzejowska M.** Rdzeniowy zanik mięśni- obraz kliniczny, diagnostyka, standardy opieki. Klinika Pediatria 2014, 22: 6086-90. **KBN/MNiSW: 0**
3. **Jędrzejowska M.** Przeponowa postać rdzeniowego zaniku mięśni (SMARD1). Neurol Dziec. 2010; 19 (38): 51-54. **KBN/MNiSW: 6**
4. **Jędrzejowska M.** Perspektywy leczenia rdzeniowego zaniku mięśni (SMA). Neurol Dziec. 2003; 12 (24): 51-56. **KBN/MNiSW: 3**
5. Hausmanowa-Petrusewicz I, **Jędrzejowska M.** Spinal muscular atrophy of childhood at the edge of the centuries. Functional Neurol. 2001; 16 (4 suppl.): 247-253. **IF: 0,463; KBN/MNiSW: 7**
6. **Jędrzejowska M.** Rdzeniowy zanik mięśni - deficyt białka SMN Neur Neurochir Pol. 2001; 35 (2): 289-297. **KBN/MNiSW: 4**
7. Domitrz I, **Jędrzejowska M,** Lipowska M, Kwieciński H. Choroba Kennedy'ego: ekspansja CAG. Neur Neurochir Pol. 2001; 35 (1 suppl): 107-14. **KBN/MNiSW: 4**

Rozdziały w podręcznikach, skrypty, monografie:

1. Hausmanowa-Petrusewicz I, **Jędrzejowska M.** Zanik rdzeniowy mięśni (typ dosiebny). Str. 293-319
Jędrzejowska M. Zanik rdzeniowo-opuszkowy Kennedy'ego. Str.320-327 **Jędrzejowska M.** Wiotkie dziecko. 391-405. Podręcznik „Choroby nerwowo-mięśniowe” red. I. Hausmanowa-Petrusewicz. Czelej Lublin 2005 (Wydanie I) oraz 2013 (Wydanie II) (Rdzeniowy zanik mięśni str. 299-328, Wiotkie dziecko str. 282-297, Rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni str.329-336)
KBN/MNiSW: 4
2. **Jędrzejowska M.** A molecular pathomechanism of spinal muscular atrophy, The epidemiology of spinal muscular atrophy; Materiały pokonferencyjne “Spinal muscular atrophy: on the eve of the cure” pod red. I.Hausmanowa –Petrusewicz, M.Jędrzejowska, wyd. Czelej 2011. **KBN/MNiSW: 4**
3. **Jędrzejowska M.** Badania genetyczne w rdzeniowym zaniku mięśni. Podręcznik „Spinal cord diseases” red. M.Banach, A.Bogucki, P.Liberski, Practical Medicine, Krakow 2006. **KBN/MNiSW: 4**
4. **Jędrzejowska M.** Rdzeniowy zanik mięśni. Materiały pokonferencyjne „Motoneuron disease” red. H.Kwieciński, Practical Medicine, Krakow 2006. **KBN/MNiSW: 4**
5. **Jędrzejowska M,** Wiszniewski W. Rdzeniowy zanik mięśni. Instytut Matki i Dziecka 2002. Warszawa, **KBN/MNiSW: 4**

Ekspertyza:

1. Mazurczak T, Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, Jędrzejowska M, Wiszniewski W., Zimowski J, Fidziańska E, Bal J. Zastosowanie technik biologii molekularnej w diagnostyce rdzeniowego zaniku mięśni (SMA). Ekspertyza naukowa wykonana na zlecenie Ministerstwa Zdrowia, 2003.

Udział w tworzeniu Polskiego Rejestru Chorych z SMA:

Brałam udział w powstaniu Polskiego Rejestru Pacjentów Chorych na SMA tworzonego w ramach międzynarodowego projektu TREAT-NMD (Translational Research in Europe – Assessment and Treatment of Neuromuscular Diseases; Europejska Sieć Badawcza – Diagnostyka i Leczenie Chorób Nerwowo-Mięśniowych). Projekt TREAT-NMD został utworzony przez 11 państw europejskich. Celem projektu była koordynacja badań prowadzących do wprowadzenia nowych metod leczenia chorób nerwowo-mięśniowych. Nowoczesne metody terapeutyczne są specyficzne wobec rodzaju mutacji zidentyfikowanej u pacjenta. Planowanie badań klinicznych mających na celu ocenę skuteczności leczenia musi być zatem związane z dotarciem do odpowiedniej liczby pacjentów z określoną mutacją. Powodzenie próby klinicznej zależy także od doboru pacjentów z podobną formą i stopniem zaawansowania choroby. Dlatego też jednym z podstawowych zadań projektu TREAT-NMD było stworzenie globalnej bazy danych pacjentów z chorobami nerwowo-mięśniowymi. Dane dostarczane do tej bazy pochodzą z narodowych baz danych tworzonych w poszczególnych krajach. Stworzenie takiej bazy ma duże znaczenie przy ocenie możliwości przeprowadzenia i planowania prób klinicznych, ale także w zaplanowaniu i wdrożeniu leczenia w danym kraju.

Polska przystąpiła do Projektu TREAT-NMD w 2010 roku dzięki współpracy 3 ośrodków: Kliniki Neurologii WUM, Zespołu Nerwowo-Mięśniowego IMDIK oraz Zakładu Genetyki IPiN. W ramach projektu stworzono bazę pacjentów z dystrofią mięśniową Duchenne'a oraz SMA, zawierającą dane kliniczne oraz genetyczne. Brałam czynny udział w tworzeniu części Rejestru Pacjentów z SMA. Projektowałam bazę, korespondowałam z pacjentami, wprowadzałam dane do rejestru, badałam liczbę kopii genu *SMN2*. Efektem pracy była wielośrodkowa publikacja analizująca dane pięciu tysięcy pacjentów pochodzące z 24 baz narodowych.

Bladen CL, Thompson R, Jackson JM, Garland C, Wegel C, Ambrosini A, Pisano P, Walter MC, Schreiber O, Lusakowska A, **Jędrzejowska M**, Kostera-Pruszczyk A, van der Pol L, Wadman RI, Gredal O, Karaduman A, Topaloglu H, Yilmaz O, Matyushenko V, Rasic VM, Kosac A, Karcagi V, Garami M, Herczegfalvi A, Monges S, Moresco A, Chertkoff L, Chamova T, Guergueltcheva V, Butoianu N, Craiu D, Korngut L, Campbell C, Haberlova J, Strenkova J, Alejandro M, Jimenez A, Ortiz GG, Enriquez GV, Rodrigues M, Roxburgh R, Dawkins H, Youngs L, Lahdetie J, Angelkova N, Saugier-

Veber P, Cuisset JM, Bloetzer C, Jeannet PY, Klein A, Nascimento A, Tizzano E, Salgado D, Mercuri E, Sejersen T, Kirschner J, Rafferty K, Straub V, Bushby K, Verschuuren J, Beroud C, Lochmüller H. Mapping the differences in care for 5,000 spinal muscular atrophy patients, a survey of 24 national registries in North America, Australasia and Europe. *J Neurol.* 2014; 261(1): 152-63. **IF: 3,337; KBN/MNiSW: 35**

Rezultatem moich prac w dziedzinie rdzeniowych zaników mięśni, w których brałam udział, było:

- 1. Poszerzenie znajomości korelacji genotypowo-fenotypowych w rdzeniowym zaniku mięśni 5q, dzięki scharakteryzowaniu podłoża genetycznego i obrazu klinicznego dużej grupy polskich pacjentów**
- 2. Identyfikacja bezobjawowego nosicielstwa obulallelicznej delecji genu *SMN1* oraz ocena częstości tego zjawiska w grupie zdrowych członków rodzin SMA**
- 3. Identyfikacja polskiego profilu małych mutacji wewnątrzgenowych genu *SMN1***
- 4. Ocena zachorowalności na SMA w Polsce oraz ocena częstości nosicielstwa SMA w polskiej populacji ogólnej**
- 5. Identyfikacja, charakterystyka kliniczna i genetyczna pacjentów z ultrazadzkimi formami SMA, w tym ze *SMARD1*, *SMA2* oraz *SPSMA***

Całość wieloletniej pracy wraz z udziałem w tworzeniu Polskiego Rejestru Pacjentów z SMA stanowi dobrą bazę do aktualnie wprowadzanego leczenia SMA w Polsce.

Piśmiennictwo:

Beebe TW, Dominguez CE, Chandler DS. Mouse models of SMA: tools for disease characterization and therapeutic development. *Hum Genet.* 2012;131(8):1277-93

Beevor C.E. A case of congenital spinal muscular atrophy and a case of haemorrhage into a spinal cord at birth, giving similar symptoms. *Brain* 1902, 25:85

Bernal S, Alias L, Barcelo MJ et.al. The c.859G>C variant in the *SMN2* gene is associated with types and III SMA and originates from a common ancestor. *J Med Genet.* 2010; 47:640-2

Biasini F, Poraturo S, Mazzeo A et al. TRPV4 related scapuloperoneal spinal muscular atrophy: report of an Italian family and review of the literature. *Neuromuscul Disord.* 2016; 26:312-5

Brahe Ch, Servidei S, Zappata S, et al. Genetic homogeneity between childhood-onset and adult-onset autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet* 1995; 346:741-2

Bowerman M, Swoboda KJ, Michalski JP et al. Glucose metabolism and pancreatic defects in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 2012;72(2):256-68

- Brzustowicz LM, Lehner T, Castilla LH et al. Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q 11.2-13.3. *Nature* 1990; 344:540
- Burghes AH, Beattie CE. Spinal muscular atrophy: why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick? *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(8):597-609
- Burghes AH. When is a deletion not a deletion? When it is converted? *Am J Hum Genet* 1997; 61:9-15
- Byers R., Banker B. Infantile muscular atrophy. *Arch Neurol*. 1961, 5:140
- Calucho M, Bernal S, Alías L et al. Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: an analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2,834 reported cases, *Neuromuscular Disorders* 2018; 28(3):208-215
- Cifuentes-Diaz C, Nicole S, Velasco ME et al. Neurofilament accumulation at the motor endplate and lack of axonal sprouting in a spinal muscular atrophy mouse model. *Hum Mol Genet*. 2002;11(12):1439-47
- Cho TJ, Matsumoto K, Fano V et al. TRPV4-pathway manifesting both skeletal dysplasia and peripheral neuropathy: a report of three patients. *Am J Med Genet A* 2012;158A:795-802
- Cobben JM, Van der Steege G, Grootsholten P et al. Deletions of the survival motor neuron gene in unaffected siblings of patients with spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet*. 1995; 57: 805-8
- Cottenie E, Kochanski A, Jordanova A et al. Truncating and missense mutations in IGHMBP2 cause Charcot-Marie Tooth disease type 2. *Am J Hum Genet*. 2014;95(5):590-601
- Cusin V, Clermont O, Gerard S et al. Prevalence of SMN1 deletion and duplication in carrier and normal populations: implication for genetic counselling. *J Med Genet*. 2003, 40(4):e39
- Deng HX, Klein CJ, Yan J et al. Scapuloperoneal spinal muscular atrophy and CMT2C are allelic disorders caused by alterations in TRPV4. *Nat Genet*. 2010; 42:165-9
- Dlamini N, Josifova DJ, Paine SML et al. Clinical and neurophysiological features of X-linked spinal muscular atrophy (SMA X2) associated with a novel mutation in the UBA1 gene. *Neuromuscul Disord*. 2013; 23:391-8
- Dubowitz V. Disorders of lower motor neurone: the spinal muscular atrophies. In: Dubowitz V, ed. *Muscle Disorders in Childhood*. London: Saunders, 1995
- Dubowitz V. Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *Europ J Paediatr Neurol*. 1999, 3:49-51
- Echaniz-Laguna A, Dubourg O, Carlier P et al. Phenotypic spectrum and incidence of TRPV4 mutations in patients with inherited axonal neuropathy. *Neurology* 2014; 82:1919-26
- Emery A.: The nosology of the spinal muscular atrophies. *J Med Genet*. 1971; 8:481
- Farrar MA, Park SB, Vucic S et al. Emerging therapies and challenges in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol* 2017; 81:355-68

- Fecto F, Shi Y, Martina M, Siddique T, Deng HX. Mutant TRPV4-mediated toxicity is linked to increased constitutive function in axonal neuropathies. *J Biol Chem*. 2011; 286: 17281-91
- Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R et al. Quantitative analysis of SMN1 and SMN2 based on real-time Light Cycler PCR: Fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet*. 2002, 70:358-68
- Fleming J, Quan D. A case of congenital muscular atrophy with pain due to a mutation in TRPV4. *Neuromuscul Disord*. 2016; 26(12):841-3
- GavriliuTO, McGovern VL, WorkmanE et al. Neuronal SMN expression corrects spinal muscular atrophy in severe SMA mice while muscle-specific SMN expression has no phenotypic effect. *Hum Mol Genet* 2008; 17(8): 1063-75
- Glotov AS, Kiselev AV, Ivashchenko TE et al. Analysis of deletional damage in SMN1, SMN2, and NAIP genes in patients with spinal muscular atrophy in the northwestern region of Russia. *Genetika*. 2001;37(8):1156-9
- Greenberg F, Fenolio KR, Hejtmancik JF et al. X-linked infantile spinal muscular atrophy. *Am J Dis Child* 1988; 142: 217-9
- Grohmann K., Schuelke M., Diers A. et al. Mutations in the gene encoding immunoglobulin mu-binding protein 2 cause spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1. *Nature Genet* 2001; 29:75-7
- Grohmann K, Varon R, Stolz P et al. Infantile spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1). *Ann Neurol*. 2003; 54:719-24
- Hahnen E, Forkert R, Marke Ch et al. Molecular analysis of candidate genes on chromosome 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy: evidence of homozygous deletions of the SMN gene in unaffected individuals. *Hum Mol Genet*. 1995; 4(10): 1927-30
- Harada Y, Sutomo R, Sadewa AH et al. Correlation between SMN2 copy number and clinical phenotype of spinal muscular atrophy: three SMN2 copies fail to rescue some patients from disease severity. *J Neurol*. 2002; 249:1211-9
- Hausmanowa-Petrusewicz I., Prot J., Sawicka E. W sprawie klinicznej zmienności dziecięcej i młodzieńczej postaci zaniku rdzeniowego mięśni Rozprawy Wydz Nauk Medycznych 1966, rozdz. X: 185
- Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, Borkowska J et al. Chronic proximal spinal muscular atrophy of childhood and adolescence: sex influence. *J Med Genet*. 1984; 21(6): 447-50
- Helmken C, Hofmann Y, Schoehnen F et al. Evidence for modifying pathway in SMA discordant families: reduced SMN level decreases the amount of its interacting partners and Htra2-beta1. *Hum Genet*. 2003; 114:11-21

- Hendrickson BC, Donohoe C, Akmaev VR et al. Differences in SMN1 allele frequencies among ethnic groups within North America. *J Med Genet.* 2009; 46(9):641-4
- Hoffmann J. Über chronische spinale Muskel-Atrophie in Kindesalter auf familiarere Basis. *Deutsche Ztschr Nervenhk.* 1893, 3:427
- Hsieh-Li HM, Chang JG, Jong YJ et al. A mouse model for spinal muscular atrophy. *Nat Genet.* 2000; 24(1):66-70
- Jędrzejowska M, Wiszniewski W, Zimowski J et al. Application of a rapid non-invasive technique in the molecular diagnosis of spinal muscular atrophy (SMA). *Neurol Neurochir Pol.* 2005;39(2):89-94
- Jędrzejowska M, Milewski M, Zimowski J et al. Incidence of spinal muscular atrophy in Poland- more frequent than predicted? *Neuroepidemiology.* 2010; 34(3): 152-7
- Jędrzejowska M. Przeponowa postać rdzeniowego zaniku mięśni (SMARD1). *Neurol Dziec.* 2010; 19 (38): 51-4
- Jędrzejowska M, Szczaluba K, Sielska D. Homozygous deletion in the SMN1 gene in asymptomatic individual - genetic counselling issues in SMA-risk families. *Med Wiek Rozwoj* 2011;15(2):126-31
- Jodelka FM, Ebert AD, Duelli DM et al. A feedback loop regulates splicing of the spinal muscular atrophy-modifying gene, SMN2. *Hum Mol Genet.* 2010;19(24):4906–17
- Kugelberg E., Welander L. Heredofamilial juvenile muscular atrophy simulating muscular dystrophy. *Arch.Neurol.Psychiat* 1956, 75: 500
- Laird AS, Mackovski N, Rinkwitz S et al. Tissue-specific models of spinal muscular atrophy confirm a critical role of SMN in motor neurons from embryonic to adult stages. *Hum Mol Genet.* 2016;25(9):1728-38
- Landouré G, Zdebik AA, Martinez TL et al. Mutations in TRPV4 cause Charcot-Marie-Tooth disease type 2C. *Nat Genet.* 2010;42:170-4
- Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein Degradation by the Ubiquitin–Proteasome Pathway in Normal and Disease States. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 1807–19
- Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy - determining gene. *Cell* 1995, 80:155
- Lefebvre S, Burlet P, Liu Q et al. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet.* 1997;16(3):265-9
- MacLeod MJ, Taylor JE, Lunt PW et al. Prenatal onset spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol.* 1999;3(2):65-72
- Mailman MD, Heinz JW, Audrey CP et al. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med.* 2002, 4(1):20-6

- Mellins R.B., Hays A.P., Gold A.P. et al. Respiratory distress as the initial manifestation of Werdnig-Hoffmann disease. *Pediatrics* 1974; 53:33-40
- Melki J, Abdelhak S, Sheth P et al. Gene for chronic proximal spinal muscular atrophies maps to chromosome 5q. *Nature* 1990, 344: 767
- Monani UR, Sendtner M, Coovert DD et al. The human centromeric survival motor neuron gene (SMN2) rescues embryonic lethality in *Smn(-/-)* mice and results in a mouse with spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2000; 9(3):333-9
- Munsat TL, Davies KE. International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). *Neuromuscul Disord.* 1992;2(5-6):423-8
- Nishimura G, Lausch E, Savarirayan R et al. TRPV4-associated skeletal dysplasias. *Am J Med Genet C* 2012; 160C:190-204
- Nilius B, Voets T. The puzzle of TRPV4 channelopathies. *EMBO Rep* 2013;14:152-63
- Oprea GE, Krober S, McWhorter ML et al. Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science* 2008; 320: 524-7
- Price PL, Morderer D, Rossoll W. RNP Assembly Defects in Spinal Muscular Atrophy. In: Sattler R., Donnelly C. (eds) *RNA Metabolism in Neurodegenerative Diseases. Advances in Neurobiology* 2018, vol 20. Springer, Cham
- Prior TW, Swoboda KJ, Scott HD, Hejmanowski AQ. Homozygous SMN1 deletions in unaffected family members and modification of the phenotype by SMN2. *Am J Med Genet.* 2004; 130A: 307-10
- Ramser J, Ahearn ME, Lenski C et al. Rare missense and synonymous variants in UBE1 are associated with X-linked infantile spinal muscular atrophy, *Am J Hum Genet* 2008; 82: 188-93
- Rodrigues NR, Owen N, Talbot K et al. Deletions in the survival motor neuron gene on 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 1995;4(4):631-4
- Rossoll W, Jablonka S, Andreassi C et al. *Smn*, the spinal muscular atrophy-determining gene product, modulates axon growth and localization of beta-actin mRNA in growth cones of motoneurons. *J Cell Biol.* 2003;163(4):801-12
- Rudnik-Schoneborn S., Stolz P., Varon R. et al. Long-term observations of patients with spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1). *Neuropediatrics* 2004; 35:174-82
- See K, Yadav P, Giegerich M et al. SMN deficiency alters *Nrxn2* expression and splicing in zebrafish and mouse models of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2014;23(7):1754–70
- Shababi M, Lorson CL, Rudnik-Schöneborn S. Spinal muscular atrophy: a motor neuron disorder or a multi-organ disease? *J Anat.* 2014;224(1):15-28
- Singh RN, Singh NN. Mechanism of Splicing Regulation of Spinal Muscular Atrophy Genes. *Adv Neurobiol.* 2018; 20:31-61

Singh NN, Howell MD, Singh RN. Cellular and molecular mechanism of the disease. In: Spinal Muscular Atrophy. Disease Mechanism and Therapy. Elsevier 2018, str. 75

So BR, Zhang Z, Dreyfuss G. The function of survival motor neuron complex and its role in spinal muscular atrophy pathogenesis. In: Spinal Muscular Atrophy. Disease Mechanism and Therapy. Elsevier 2018, str. 99

Su YN, Hung CC, Lin SY, Chen FY, Chern JP, Tsai C, Chang TS, Yang CC, Li H, Ho HN, Lee CN. Carrier screening for spinal muscular atrophy (SMA) in 107,611 pregnant women during the period 2005-2009: a prospective population-based cohort study. PLoS One. 2011; 6(2):e17067. doi: 10.1371/journal.pone.0017067.

Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, Akmaev VR et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. Eur J Hum Genet. 2012; 20(1):27-32

(1) Verhaart IE, Robertson A, Leary R et al. A multi-source approach to determine SMA incidence and research ready population. J Neurol. 2017; 264(7):1465-73

(2) Verhaart IE, Robertson A, Wilson IJ et al. Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. Orphanet J Rare Dis. 2017;12(1):124

Wang ChH, Xu J, Carter TA. Et al. Characterization of survival motor neuron (SMNT) gene deletions in asymptomatic carriers of spinal muscular atrophy. Hum Mol Genet .1996; 5(3): 359-65

Werdnig G.: Zwei frühinfantile hereditäre Fälle von progressiver Muskelatrophie unter dem Bilde der Dystrophie, aber auf neurotischer Grundlage. Arch Psychiat Nervenkr. 1891; 22:437 (ang. wer.: Werdnig G.: Two early infantile hereditary cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy, but on a neural basis. 1891. Arch Neurol 1971; 25(3):276-8)

Wirth B, Brichta L, Schrank B et al. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by increased SMN2 copy number. Hum Genet. 2006, 119(4):422-8

Wishart TM, Mutsaers CA, Riessland M et al. Dysregulation of ubiquitin homeostasis and beta-catenin signaling promote spinal muscular atrophy. J Clin Invest. 2014;124(4):1821-34

Yamashita M, Nishio H, Harada Y et al. Significant increase in the number of the SMN2 gene copies in an adult-onset type 3 spinal muscular atrophy patient with homozygous deletion of the NAIP gene. J Neurol .2004; 52:101-106

Zaremba J. Genetyka przewlekłej proksymalnej postaci rdzeniowego zaniku mięśni. Warszawa 1983, Instytut Psychoneurologiczny

Zerres K, Rudnik-Schöneborn S, Forkert R, et al. Genetic bases of adult onset spinal muscular atrophy. Lancet 1995; 346:1162

Zerres K, Rudnik-Schöneborn S, Forrest E et al. A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III): 569 patients. *J Neurol Sci.* 1997; 146(1): 67-72

Zhang Z, Pinto AM, Wan L et al. Dysregulation of synaptogenesis genes antecedes motor neuron pathology in spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110(48):19348–53

Zhang HL, Pan F, Hong D et al. Active transport of the survival motor neuron protein and the role of exon-7 in cytoplasmic localization. *J Neurosci.* 2003; 23(16):6627-37

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Wiotkie dziecko

Zajmuję się także problemem diagnostyki zespołu dziecka wiotkiego. Jestem autorem rozdziału w podręczniku chorób nerwowo-mięśniowych, poświęconego powyższej tematyce. Obecnie realizuję projekt Narodowego Centrum Nauki pt.: „Zespół dziecka wiotkiego - poszukiwanie nowych czynników genetycznych związanych z etiopatogenezą choroby, ze szczególnym uwzględnieniem chorób nerwowo-mięśniowych”. Wstępne wyniki projektu były prezentowane na zeszłorocznych kongresach ESHG i PTGC.

Opisałam 8-letnią dziewczynkę z zespołem dziecka wiotkiego, u której została zidentyfikowana heterozygotyczna zmiana c.8329G>C genu *COL12A1*. Patogenność wariantu została potwierdzona w badaniach funkcjonalnych. Dziewczynka od urodzenia prezentowała głęboką hipotonię, wrodzone przykurcze, słabą spontaniczną aktywność ruchową, wrodzoną kyfoskopiozę. Rozwój psychoruchowy był opóźniony- chodziła w 3 rż. Stan kliniczny dziecka stopniowo się poprawiał, prowadząc do niemal pełnej sprawności ruchowej w 8 roku życia. Na tle opisanych wcześniej ośmiu przypadków (ciężkiej postaci wrodzonej o złym rokowaniu i łagodnej postaci typu Bethlem-like) pacjentka prezentowała postać pośrednią, poszerzając tym samym znane spektrum fenotypowe choroby.

Druga praca dotyczyła dziecka z uogólnioną wiotkością mięśni i ciężką niewydolnością oddechową o nieznanym etiologii. Badanie ultrastrukturalne mięśnia szkieletowego pacjenta wykazało niedojrzałość tkanki mięśniowej oraz defekt formowania płytki nerwowo-mięśniowej. U dziecka wykluczono mutacje genu *IGHMBP2*, a także klasyczną postać rdzeniowego zaniku mięśni, związaną z obualeliczną delecją 7 eksonu w genie *SMN1* oraz mutacje punktowe w genie *SMN1*. Podłoże genetyczne opisanej patologii nie zostało ustalone.

1. Punetha J, Kesari A, Hoffman EP, Gos M, Kamińska A, Kostera-Pruszczyk A, Hausmanowa-Petrusewicz I, Hu Y, Zou Y, Bönnemann CG, **Jędrzejowska M**. Novel Col12A1 variant expands the

clinical picture of congenital myopathies with extracellular matrix defects. *Muscle Nerve* 2017; 55(2):277-281. IF: 2,496; KBN/MNiSW:25

2. Fidziańska A, Jędrzejowska M, Madej-Pilarczyk A, Bojakowski J. Might prepatterned acetylcholine-receptor clusters on surface myotubes be a sign of neuromuscular-junction maturation failure? *Folia Neuropathol.* 2013; 51(4):319-23. IF: 1,667; KBN/MNiSW: 15

Rola genu *SMN1* w patogenezie PMA

Wykonując diagnostykę w kierunku klasycznej postaci SMA u pacjentów z rozpoznaniem klinicznym choroby dolnego motoneuronu pod postacią postępującego zaniku mięśni (ang. progressive muscular atrophy, PMA) zwróciłam uwagę na częściej występującą u tych pacjentów duplikację genu *SMN1*. We współpracy z Kliniką Neurologii WUM badaną grupę poszerzono do 87 pacjentów. Trzy kopie genu *SMN1* obserwowano niemal dwukrotnie częściej w grupie PMA w porównaniu z grupą kontrolną (8,1% vs 4,65) i pięciokrotnie częściej u pacjentów z dłuższym, ponad 48 miesięcznym przebiegiem choroby. Trzy kopie *SMN1* dodatkowo korelowały z młodszym wiekiem zachorowania i wolniejszym przebiegiem. Obecność trzech kopii genu *SMN1* może być czynnikiem ryzyka rozwoju PMA i/lub modyfikatorem jej przebiegu.

Kuźma-Kozakiewicz M, Jędrzejowska M, Kaźmierczak B. *SMN1* gene duplications are more frequent in patients with progressive muscular atrophy. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2013; 14(5-6):457-62. IF: 2,591; KBN/MNiSW: 30

Zespoły dyzmorficzne

Pracując jako genetyk kliniczny zajmuję się diagnostyką zespołów genetycznych, związanych z dyzmofofią.

Współuczestniczyłam w diagnostyce rodzeństwa potwierdzonym molekularnie zespołem ACLS (ang. acrocallosal syndrome). U obojga dzieci obserwowano znaczne opóźnienie rozwoju, wiotkość, cechy dyzmofofii (makrocefalię, wydatne czoło, krótką rynienkę nosową, trójkątne usta), polidaktylię dłoni i stóp oraz hipoplazję ciała modzelowatego i obraz zęba trzonowego w obrazie MRI mózgu. Badania celowane genu *KIF7* wykazały obecność dwóch nowych wariantów typu frameshift: c.1702dupC oraz c.3329delT. Potwierdzono oburodzicielskie pochodzenie zmian.

Uczestniczyłam także w diagnostyce pacjenta ze złożonym obrazem klinicznym pod postacią dyzmofofii twarzy, wrodzonych wad kończyn górnych (obustronną hipoplazją kości promieniowej ze skróceniem i brakiem opozycji kciuka, barchydaktylią), hipogonadyzmem (małe prącie, jednostronne wnętrostwo), otyłością i niskorosłością. W 13 roku u chłopca wystąpiło nagłe zatrzymanie krążenia z

niewydolnością oddechową w przebiegu bloku III stopnia, wymagającego wszczęcia kardiowertera-defibrylatora. Badanie aCGH wykazało u tego pacjenta mikrodelecję wielkości 1,74MB w regionie 12q24.21, obejmującą geny *TBX5*, *TBX3* oraz część genu *RBM19*. Zidentyfikowana mikrodelecja odpowiada za zespół nakładania zespołów Holt-Oram'a (ang. Holt-Oram syndrome, HOS) i Schinzel'a (ang. ulnar-mammary syndrome).

Jestem także współautorem licznych doniesień zjazdowych poświęconych tematyce zespołów Noonan, neurofibromatozy typu 1, Rubinstein-Taybi i innych zespołów dysmorficznych.

1. Krajewska-Walasek M, Kugaud M, **Jędrzejowska M**, Cieślukowska A, Ichkou A, Attié-Bitach T, Jezela-Stanek A. Molar tooth sign and acrocallosal syndrome – a report on a Polish family and review of KIF7 syndromology. *Genet Couns* 2015; 26(2):171-9. **IF: 0,384; KBN/MNiSW: 15**
2. Iwanicka-Pronicka K, Socha M, **Jędrzejowska M**, Krajewska-Walasek M, Jamsheer A. Life-threatening cardiac episode in a Polish patient carrying contiguous gene microdeletion of the *TBX5* and the *TBX3* genes. *Springerplus* 2016; 5(1):1638. **IF: 1,130, KBN/MNiSW 25**

Szczegółowe omówienie dorobku naukowego znajduje się w załączniku nr 4.

Analiza bibliometryczna

Jestem autorem lub współautorem **31** artykułów oraz **5** rozdziałów w podręcznikach.

Artykuły opublikowane w piśmiennictwie posiadającym IF: **18** (w tym **17** po uzyskaniu stopnia doktora):

- prace oryginalne: **11**
- opisy przypadków: **5**
- prace z udziałem autora w badaniach wielośrodkowych: **1**
- prace opublikowane w suplementach czasopism: **1** (opublikowana przed uzyskaniem stopnia doktora)

Artykuły opublikowane w czasopismach bez IF: **13** (w tym **9** opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora)

- prace oryginalne: **3** (w tym **2** opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora)
- opisy przypadków: **3** (w tym **2** opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora)
- prace przeglądowe: **6** (w tym **5** opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora)
- prace opublikowane w suplementach czasopism: **1** (opublikowana przed uzyskaniem stopnia doktora)

Sumaryczny IF wg Journal Citation Reports, zgodnie z rokiem opublikowania: **42,358** (w tym **41,895** po uzyskaniu stopnia doktora)

Łączna punktacja KBN/MNiSW opublikowanych prac: **531** (w tym **507** po uzyskaniu stopnia doktora)

Liczba cytowań wg bazy Web of Science (WoS) **180**, bez autocytaowań: **168**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): 8

Konferencje naukowe

Doniesienia na konferencjach międzynarodowych: 39

Doniesienia na konferencjach krajowych: 48

Wystąpienia na posiedzeniach oddziałów towarzystw naukowych: 3

Projekty badawcze:

1. „Zespół dziecka wiotkiego - poszukiwanie nowych czynników genetycznych związanych z etiopatogenezą choroby, ze szczególnym uwzględnieniem chorób nerwowo –mięśniowych”. 2016-2020; Grant NCN nr 2015/17/B/NZ5/01368, projekt w konsorcjum IMDiK PAN i IMiD; kierownik projektu
2. „Badanie podłoża molekularnego rdzeniowego zaniku mięśni w grupie pacjentów bez homozygotycznej utraty genu SMN1. Poszukiwanie mutacji punktowych w genach SMN1 i IGHMBP2”, 2010-2013; Grant NCN nr N N401 011038, kierownik projektu
3. „Kliniczno-genetyczna charakterystyka chorób nerwowo-mięśniowych w celu przyszłego zastosowania terapii genowej”. Projekt międzynarodowy niewspółfinansowany- udział w konsorcjum TREAT-NMD. 2010-2011; Grant MNiSW nr 641/N-TREAT/09/2010/0, wykonawca
4. „Próba wyjaśnienia zmienności wewnątrzrodzinnej oraz stanu heterozygotyczności w rdzeniowym zaniku mięśni”. 2004-2007; Grant KBN nr 2 P05E 007 27; kierownik projektu
5. „Ocena korelacji pomiędzy liczbą kopii genu SMN2, ekspresją genu na poziomie RNA i białka a fenotypem klinicznym chorych na rdzeniowy zanik mięśni”. 2004-2006, Grant Fundacji na Rzecz Wspierania Rozwoju Polskiej Farmacji i Medycyny nr II/201/2003, wykonawca
6. „Rdzeniowy zanik mięśni- podłoże molekularne a fenotyp choroby”. 2001-2003; Grant promotorski KBN: 6 P05E 134 21, wykonawca

Współpraca z organizacjami pacjenckimi

Od wielu lat współpracuję z organizacjami zrzeszającymi pacjentów chorych na rdzeniowy zanik mięśni i inne choroby nerwowo-mięśniowe, w tym z Polskim Towarzystwem Chorób Nerwowo-Mięśniowych (PTChNM), Fundacją Pomocy Chorym na Zanik Mięśni (FPChNZM), Fundacją SMA (FSMA), Fundacją „Oswoić Miopatie”. Od kilku lat czynnie uczestniczę w corocznych konferencjach organizowanych przez Fundację SMA (Weekend ze SMA-kiem). Aktywnie włączałam się w pomoc środowisku rodzin SMA w ich działania mające na celu uzyskanie refundacji leczenia SMA, służąc swoją wiedzą ekspercką w tej

dziedzinie. W zeszłym roku wzięłam udział w I Konferencji organizowanej przez Fundację „Oswoić miopatie”. Przez kilka lat brałam udział w turnusach rehabilitacyjnych organizowanych przez FPChZM, konsultując pacjentów z chorobami nerwowo-mięśniowymi.

Jędrzejowska

