Pawłowicz Małgorzata. Probable dysfunction of GABA-A receptors in patients with GNAO1-related syndromes. Journal of Education, Health and Sport. 2021;11(12):241-253. eISSN 2391-8306. DOI http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.12.018
https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2021.11.12.018
https://zenodo.org/record/5795239

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 1, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences).

Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 1 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przypisane dyscypliny naukowe:Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu).

© The Authors 2021;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 01.12.2021. Revised: 18.12.2021. Accepted: 18.12.2021.

Prawdopodobna dysfunkcja receptorów GABA-A u pacjentów z zaburzeniami neurorozwojowymi uwarunkowanymi wariantami patogennymi w genie GNAO1

Probable dysfunction of GABA-A receptors in patients with GNAO1-related syndromes

Małgorzata Pawłowicz

Katedra Pediatrii Klinicznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Department of Clinical Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Warmia and Mazury in Olsztyn
Pododdział Neurogenetyki i Chorób Rzadkich, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital Dziecięcy w Olsztynie
Department of Neurogenetics and Rare Diseases, Regional Specialized Children's Hospital in Olsztyn

Orcid ID: 0000-0003-1303-1749
e-mail: malgorzata.pawlowicz@uwm.edu.pl

Streszczenie

Wprowadzenie i cel: Spektrum fenotypowe zaburzeń neurorozwojowych związanych z wariantami patogennymi w genie GNAO1 obejmuje encefalopatię rozwojowo-padaczkową (ERP) i szereg zaburzeń ruchowych (ZR). Powyższe objawy kliniczne są związane z zaburzeniami presynaptycznego autohamującego działania neuroprzekaźników na receptory: muskarynowy M2/M4, α2-adrenergiczny, opioidowy μ/δ, gabaergiczny GABA-B. Dokonano analizy korelacji fenotyp-genotyp u pacjentów z wariantami patogennymi w genie GNAO1 celem zidentyfikowania nowych powiązań pomiędzy objawami klinicznymi a określonymi zaburzeniami neuroprzekaźnictwa.

Materiał i metody: Przebieg kliniczny choroby oceniano u dwóch pacjentów polskiego pochodzenia ze zidentyfikowanymi wariantami patogennymi w genie GNAO1 de novo. W obu przypadkach diagnozę postawiono na podstawie sekwencjonowania całoeksomowego (WES) na platformie Illumina.

Wyniki: U pierwszego pacjenta z objawami ERP został zidentyfikowany wariant typu utraty funkcji w genie GNAO1 (c.607G>A). U tego pacjenta ZR (choreatetoza, dystonia ogniskowa) współistniały z napadami padaczkowymi. U drugiego pacjenta ta sama prezentacja kliniczna ZR, bez współistniejącej padaczki, była spowodowana przez patogenny wariant o nieznanej funkcji (c.709G>A). U obu pacjentów stwierdzono nadwrażliwość na wyższe dawki benzodiazepin, a u drugiego również na wyższe dawki baklofenu. U pierwszego pacjenta obserwowano wczesny początek ERP (2. tyg. ż.) z dobrą odpowiedzią na leczenie wigabatryną i następującym rozwojem nadmiernej reakcji zaskoczenia od 3 r.ż., z paradoksalną reakcją na leczenie klonazepamem.
Wnioski: Przeprowadzona analiza korelacji fenotyp-genotyp u dwóch pacjentów z zaburzeniami neurorozwojowymi związanymi z wariantami patogennymi w genie GNAO1 zidentyfikowała reakcje na zastosowane leczenie lub reakcje nadwrażliwości na leki, które mogą wskazywać na zaburzenia czynnościowe nie tylko receptorów GABA-B, ale również GABA-A. Potrzebne są dalsze badania funkcjonalne.

Abstract
Introduction and purpose: Wide range of phenotypic spectrum of GNAO1-related syndromes includes developmental and epileptic encephalopathy (DEE) and a range of movement disorders (MDs) with or without epilepsy. Above clinical symptoms are associated with disturbances in presynaptic auto-inhibitory effect of several neurotransmitters on their receptors (M2/M4 muscarinic, α2-adrenergic, μ/δ opioid, GABA-B). Here, we analyse the phenotype-genotype correlations in patients with GNAO1-related disorders, focusing on clinical signs associated with neurotransmission disturbances.
Material and methods: Clinical course of disease was evaluated in two patients of Polish origin with GNAO1-related syndromes. The diagnosis in all cases was establish on the basis of whole exome sequencing (WES) analysis on Illumina platform. All variants in GNAO1 gene occurred de novo (negative parental testing).
Results: In the first patient clinically presenting symptoms of DEE the gain-of-function (GOF) (c.607G>A) variant of GNAO1 gene was identified. In this patient MDs (combination of choreathetosis and focal dystonia) co-existed with seizures. In the second patient the same combination of MDs, but without epilepsy, were caused by the pathogenic variant of unknown function (c.709G>A). In both patients significant hypersensitivity to higher doses of benzodiazepines and in the second patient also to higher doses of baclofen was noticed. In the first patient early onset of DEE (2 weeks of age) with good response of seizures to vigabatrin treatment was observed, with further development of startle response from 3 years of age with paradoxical reaction to clonazepam treatment.
Conclusions: In our patients with GNAO1-related neurodevelopmental disorders we identified some drug responses or hypersensitivities which could be indicative for functional disturbances not only of GABA-B, but also GABA-A receptors. Further functional studies are needed.

Słowa kluczowe: białko GNAO1, człowiek, dziecięca encefalopatia padaczkowo-dyskinetyczna, wynik leczenia, transmisja synaptyczna

Key words: GNAO1 protein, human, Infantile Epileptic-Dyskinetic Encephalopathy, Treatment Outcome, Synaptic Transmission

Wprowadzenie

Gen GNAO1 (MIM 139311) zlokalizowany na chromosomie 16q13 koduje podjednostkę αs białka G, wiążącą nukleotyd guanylanowy i wykazującą aktywność GTP-azy (1). Podjednostka αs białka G ulega silnej ekspresji w tkance mózgowej i wykazuje charakter modulujący procesy wydzielana wielu neuroprzekaźników, w tym GABA, adenozyny i dopaminy, co sugeruje jej istotną rolę w funkcjonowaniu komórek nerwowych (1, 2). U myszy pozbawionych funkcji powyższej podjednostki obserwuje się liczne deficyty neurologiczne, w tym uogólnione drżenie, napady padaczkowe, zaburzenia kontroli funkcji motorycznych, nadwrażliwość na bodźce bólowe, zaburzenia zachowania, przedwczesną śmiertelność w okresie postnatalnym (1, 3).

Warianty patogenne de novo w genie GNAO1 początkowo zidentyfikowano u dzieci z wczesnodziecięcymi encefalopatiami padaczkowymi i globalnym opóźnieniem rozwoju psychomotorycznego, z następnie rozwijającymi się dyskinetycznymi zaburzeniami ruchowymi (Developmental and Epileptic Encephalopathy 17 DEE17 – MIM 615473) (1, 4), a wkrótce potem również u dzieci z opóźnieniem rozwoju psychomotorycznego i ciężkimi dyskinezami (Neurodevelopmental Disorder with Involuntary Movements NEDIM – MIM 617493) (5). Dodatkowo warianty sekwencyjne w genie GNAO1 zostały stwierdzone w komórkach niektórych typów raka piersi oraz raka wątrobowo komórkowego (6, 7).

Analiza wariantów sprawczych w genie GNAO1 oraz w innych genach kodujących pozostałe podjednostki białka G, jak również powiązane enzymy i receptory (GNAL, ADCY5, PDE10A, GPR88) u pacjentów z wcześnie ujawniającymi się zaburzeniami ruchowymi mogą wskazywać na uszkodzenie szlaku transdukcji sygnału białko G – cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan (cAMP) jako kluczowy patomechanizm w rozwoju dystonii oraz pląsawicy (8). Obecnie zjawiska patofizjologiczne stanowiące podłoże powyższego uszkodzenia nie zostały jeszcze w pełni zidentyfikowane. Można jednak przypuszczać, iż zaburzenia modulacji bądź też transdukcji sygnału przezbłonowego, presynaptycznych procesów auto-inhibicji lub pobudliwości neuronalnej mogą stanowić ich podstawę w pełni wyjaśniającą współistnienie u pacjentów wielu zaburzeń neurologicznych, w tym napadów padaczkowych oraz zaburzeń hiperkinetycznych (8).

Cel pracy

Dokonano analizy korelacji fenotyp-genotyp u pacjentów ze stwierdzonymi wariantami patogennymi w genie GNAO1 celem zidentyfikowania nowych prawdopodobnych powiązań pomiędzy objawami klinicznymi i określonymi zaburzeniami neuroprzekaźnictwa.

Metody

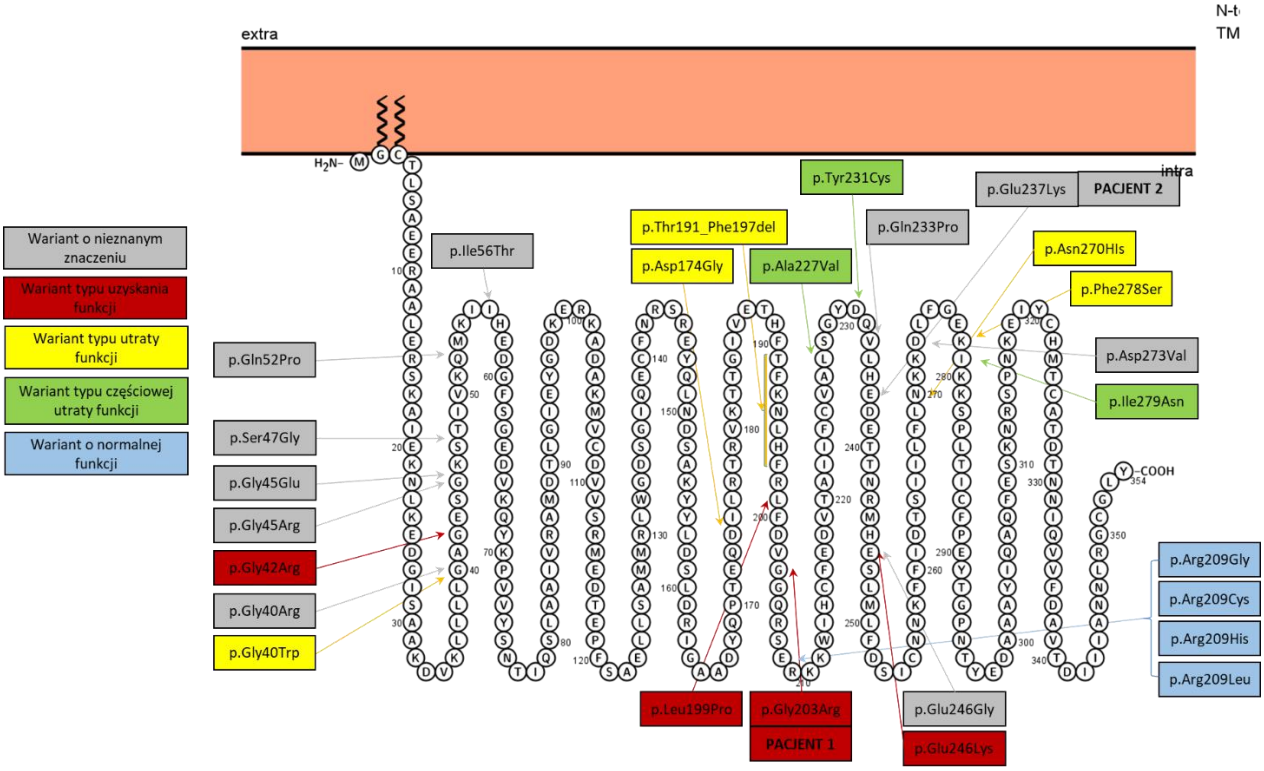
Analizy genetyczne umożliwiające postawienie ostatecznego rozpoznania u dwójki prezentowanych pacjentów zostały przeprowadzone w oparciu o metodę sekwencjonowania całoeksomowego (Whole Exome Sequencing – WES) z wykorzystaniem zestawu SureSelectXT Human All Exon V5 (Agilent) przy 92% sekwencji pokrytej minimum 20 razy i 97% sekwencji pokrytej minimum 10 razy. Nazewnictwo wariantów ustalono zgodnie z wytycznymi HGVS v15.11 (9). Wytypowane za pomocą metody WES warianty sprawcze zostały zweryfikowane za pomocą metody sekwencjonowania sangerowskiego. Wytypowane u probandów warianty przeanalizowano również u ich rodziców celem ustalenia statusu nosicielstwa. Procedury analiz genetycznych zostały przeprowadzone po uzyskaniu pisemnej

zgody opiekunów prawnych nieletnich pacjentów zgodnie z wytycznymi zawartymi w Deklaracji Helsińskiej.

Wyniki

U 11-letniej pacjentki (pacjent 1) zidentyfikowano de novo wariant patogenny w genie GNAO1 w pozycji c.607G>A (p.Gly203Arg) uprzednio opublikowany przez zespół Nakamury et al. (1) jako związany z DEE17. Natomiast u 12-letniego pacjenta (pacjent 2) stwierdzono wariant patogenny de novo w pozycji c.709G>A (p.Glu237Lys), o niejasnej funkcji (10), a klinicznie wpisujący się w spektrum objawowe NEDIM. Dokładną lokalizację zmian powodowanych przez warianty patogenne stwierdzone u prezentowanych pacjentów w łańcuchu aminokwasowym podjednostki αs białka G przedstawiono na Ryc. 1.

Ryc. 1. Dokładna lokalizacja zmian w łańcuchu aminokwasowym podjednostki αs białka G powodowanych przez warianty w genie GNAO1 stwierdzone u prezentowanych pacjentów wraz z zestawieniem dotychczas opublikowanych zmian w strukturze białka (zmodyfikowane w oparciu o publikację Schirinzi et al. (2))



Na Ryc. 1 dokonano również zestawienia wszystkich dotychczas opublikowanych zmian w strukturze białka powodowanych wariantami sekwencyjnymi w genie GNAO1.

Spektrum prezentacji klinicznej u przedstawianych pacjentów zostało zestawione w Tabeli 1 (Suplement – Zestawienie danych) obejmującej historię przebiegu klinicznego choroby, objawy stwierdzane w badaniu neurologicznym, odchylenia w dodatkowych badaniach laboratoryjnych oraz neuroobrazowych.

U obojga pacjentów opóźnienie rozwoju psychomotorycznego z cechami hipotonii (od 2-4 m.ż.) znacznie poprzedzało wystąpienie objawów zespołu pozapiramidowego oraz ruchów mimowolnych (od 2 r.ż.). Jednocześnie analiza porównawcza objawów klinicznych u prezentowanych pacjentów wykazała znaczną heterogenność ruchów mimowolnych, jak również znaczne różnice co do ich nasilenia. U pacjentki 1 w obrazie klinicznym dominuje uogólniona pląsawica z okresowymi zaostrzeniami aż do stanu pląsawiczego w sytuacjach stresu metabolicznego (np. stan po ekstrakcji zęba) i zadowalającą kontrolą po włączeniu

celowanego leczenia tetrabenazyną po ustaleniu podłoża molekularnego zaburzeń obserwowanych u pacjentki. Toniczne ułożenie kończyn górnych prawdopodobnie o charakterze dystonii ogniskowej występuje u pacjentki jedynie okresowo, z cechami niewielkiej akceleracji od momentu rozpoczęcia terapii tetrabenazyną.

Natomiast u pacjenta 2 ruchy pląsawicze pojawiają się sporadycznie z czasowymi zaostrzeniami w okresach okołoinfekcyjnych, a w obrazie klinicznym dominuje okresowe dystoniczne ustawienie kończyn, silniej wyrażone w kończynach górnych niż dolnych. Pacjent 2 wymaga niewielkich dawek długodziałających benzodwuazepin (klonazepam 0,125 mg p.o./dobę – 0,006 mg/kg m.c./dobę) oraz baklofenu (2,5 mg p.o./dobę – 0,125 mg/kg m.c./dobę) celem uzyskania zadowalającej kontroli objawów. Zaostrzenia ruchów mimowolnych pod wpływem takich bodźców spustowych jak sytuacje stresowe (w tym również stres metaboliczny związany z infekcją, zabiegiem chirurgicznym lub dentystycznym), emocje, wysoka temperatura otoczenia obserwowane u prezentowanych pacjentów należą do charakterystycznych objawów schorzeń neurorozwojowych warunkowanych wariantami sprawczymi w genie GNAO1. Powyższe zaostrzenia u prezentowanych pacjentów najczęściej trwają do kilku – kilkunastu minut lub godzin, ale w niektórych sytuacjach (głównie w okresach okołoinfekcyjnych lub okołozabiegowych) ulegają wydłużeniu nawet do kilku dni – tygodni i przybierają charakter stanów pląsawiczych lub dystonicznych, często lekoopornych, wymagających zapewnienia pacjentowi zabezpieczenia anestezjologicznego. Jednocześnie u obojga pacjentów obserwuje się znaczną nadwrażliwość na wyższe dawki benzodiazepin, a u pacjenta 2 również na wyższe dawki baklofenu, co stanowi wyzwanie terapeutyczne w okresach destabilizacji metabolicznej.

Tabela 1. Spektrum prezentacji klinicznej u prezentowanych pacjentów z wariantami sprawczymi w genie *GNAO1*

ID PACJENTA	Pacjent 1	Pacjent 2
WIEK	11 lat	12 lat
PŁEĆ	K	M
RODZAJ WARIANTU	c.607G>A (p.Gly203Arg) *de novo* publikowany (Nakamura et al. 2013)	c.709G>A (p.Glu237Lys) *de novo* publikowany (Okumura et al. 2018)
SPOKREWNIENIE RODZICÓW	nie	nie
WYWIAD RODZINNY	nieobciążony	nieobciążony
PORONIENIA (ILE)	nie	nie
RODZEŃSTWO	zdrowe	nie posiada
PRZEBIEG CIĄŻY	infekcja kataralna w I trymestrze	niepowikłany

	przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego	
PORÓD / TYDZIEŃ CIĄŻY	cesarskie cięcie (Hbd35)	fizjologiczny (Hbd40)
MASA CIAŁA / DŁUGOŚĆ / OBWÓD GŁOWY PO URODZENIU	2600 / 53 / 30	3800 / / 36
PUNKTACJA APGAR 1'; 5'; 10'	10 / 10 / 10	10 / 10 / 10
OKRES OKOŁOPORODOWY	fototerapia z powodu hiperbilirubinemii	fototerapia z powodu hiperbilirubinemii
WADY WRODZONE	nie stwierdzono	nie stwierdzono
ROZWÓJ PSYCHORUCHOWY	prawidłowy do 2 m.ż.	prawidłowy do 3 m.ż.
ROZWÓJ PSYCHORUCHOWY – UMIEJĘTNOŚCI W NAJLEPSZYM OKRESIE FUNKCJONOWANIA DZIECKA	od 2 m.ż. rozwój nie postępuje	samodzielnie raczkuje, chodzi z podparciem, mówi pojedyncze słowa, sygnalizuje potrzeby fizjologiczne, wkłada przedmioty do ust, wymaga karmienia przez drugą osobę z powodu okresowego krztuszenia się, obsługuje komputer
PODPARCIE NA KKG I UNOSZENIE GŁOWY PRZY UŁOŻENIU NA BRZUCHU	okresowo	tak
PRZEKRĘCANIE SIĘ WOKÓŁ OSI	nie	tak
SAMODZIELNE SIADANIE	nie	tak
PEŁZANIE / RACZKOWANIE	nie	tak
CHODZENIE	nie	z podparciem
CHWYT 4-9 miesiąc	nie	tak
CHWYT PĘSETKOWY	nie	tak
MOWA BIERNA	reaguje sporadycznie uśmiechem na niektóre stale pojawiające się w codziennym użyciu stwierdzenia, reaguje uśmiechem na swoje imię	rozumie polecenia i je wykonuje, w pełni odzwierciedla emocje, rozwiązuje zadania logiczne z wykorzystaniem komunikatorów alternatywnych

MOWA CZYNNA	nie mówi, wokalizacje	nie mówi, wokalizacje
ROZWÓJ SPOŁECZNY	nawiązuje kontakt wzrokowy, przygląda się, uśmiecha się, niekiedy odzwierciedla emocje innych osób	nawiązuje kontakt wzrokowy, przygląda się, uśmiecha się, wchodzi w interakcje emocjonalne z innymi osobami
WIEK WYSTĄPIENIA PIERWSZYCH OBJAWÓW	2 tydz. ż.	4 m.ż.
CHARAKTER PIERWSZYCH OBJAWÓW	napady padaczkowe (typ napadów zgięciowe)	opóźnienie rozwoju motoryki z powodu hipotonii o charakterze osiowym>obwodowym
KOLEJNE OBJAWY	2 m.ż. zahamowanie rozwoju motoryki i r.poznawczego 2 r.ż. z. pozapiramidowy (sztywność mięśniowa) 2 r.ż. ruchy mimowolne (ruchy pląsawicze, okresowe dystoniczne ułożenie kkg) 3 r.ż. napady padaczkowe (typ napadów – startle seizures)	4 m.ż. opóźnienie rozwoju motoryki 2 r.ż. zespół piramidowy 2 r.ż. z. pozapiramidowy 2 r.ż. ruchy mimowolne (okresowo elementy choreoatetozy, okresowo dystoniczne ułożenie kkg>kkd)
RUCHY MIMOWOLNE - EWOLUCJA OBJAWÓW	okresowe toniczne ułożenie kkg – dystonia ogniskowa? ruchy pląsawicze, okresowo fluktuujące, wyciszające się podczas snu, narastające przy emocjach i zdenerwowaniu, zaostrzenia po infekcjach, po ekstrakcji zęba aż do stanu pląsawiczego mimowolne ruchy gałek ocznych	okresowe toniczne ułożenie kkg>kkd – dystonia ogniskowa okresowo ruchy pląsawicze, fluktuujące, wyciszające się podczas snu, narastające przy emocjach i zdenerwowaniu, zaostrzenia podczas infekcji
NAPADY PADACZKOWE – EWOLUCJA OBJAWÓW	napady zgięciowe od 2 tyg. ż. – od 3 tyg. ż. leczona wigabatryną – od 2 m.ż. bez napadów zgięciowych, utrzymujący się nieprawidłowy zapis EEG –	nie występują

	uogólniona czynność napadowa od 3 r.ż. startle seizures	
LECZENIE PRZECIWPADACZKOWE	obecnie klobazam wcześniej również: kwas walproinowy, midazolam, topiramat, karbamazepina, klonazepam, fenobarbital, gabapentyna, lewetiracetam (pogorszenie kontroli napadów na topiramacie – nie wykluczone interakcje pomiędzy lekami p-padaczkowymi oraz przy próbie ponownego włączenia kwasu walproinowego, reakcja opatrzna – pobudzenie po klonazepamie)	nie dotyczy
LECZENIE RUCHÓW MIMOWOLNYCH	risperidon klobazam tetrabenazyna midazolam doraźnie w trakcie zaostrzeń (pogorszenie po włączeniu biperyden oraz L-dopy, dobra kontrola na haloperidolu, poprawa po dodaniu risperidonu, wcześniej podczas leczenia baklofenem)	Okresowo haloperidol Obecnie niewielkie dawki klonazepam oraz baklofen Nasilenie wiotkości mięśniowej oraz ślinotoku przy zastosowaniu wyższych dawek benzodwuazepin Próba włączenia L-dopy – konieczność przerwania leczenia z powodu wystąpienia nocnych ruchów mimowolnych
REZONANS MÓZGU I BADANIE	3 m.ż. nie wykazano cech ch. metabolicznej, nie obserwuje się zmian ogniskowych oraz wad wrodzonych	10 m.ż W okolicy rogów tylnych komór bocznych dyskretne, słabo zdeklarowane obszary podwyższonego sygnału w obrazach T2 zależnych i FLAIR, poszerzenie przestrzeni płynowej przymózgowej w okolicy płatów czołowych
REZONANS MÓZGU II BADANIE	4 r.ż. szersze rogi czołowe komór	4 r.ż. Bez istotnych odchyleń

	bocznych, sygnał istoty białej prawidłowy	MRS – nieco obniżony poziom Cr – obraz niejednoznaczny, poziomy pozostałych metabolitów prawidłowe, bez obecności piku mleczanów
REZONANS MÓZGU III BADANIE	6 r.ż. szersze rowki mózgu w płatach czołowych, szersze rogi czołowe komór bocznych, sygnał istoty białej prawidłowy spektroskopia MR – bez istotnych zmian	6 r.ż. Obraz mózgowia prawidłowy, przestrzenie przymózgowe nieposzerzone, torbiel części pośredniej przysadki mózgowej MRS metodą pojedynczego woksela umieszczonego w jądrach podkorowych – nie wykazano zmian
EEG	nieprawidłowe	prawidłowe
EEG – ZMIANY PADACZKOKSZTAŁTNE	tak – zapis z uogólnioną czynnością napadową	nie
WYKONANE BADANIA NEUROMETABOLICZNE PRZED POSTAWIENIEM ROZPOZNANIA	1. profil kwasów organicznych metodą GC/MS w moczu – prawidłowy 2. Tandem MS/MS – prawidłowy 3. test Beutlera i Baludy (galaktozemia) – prawidłowy 4. mleczan w PMR – prawidłowy 5. mleczan i pirogronian po doustnym obciążeniu glc – poziomy prawidłowe 6. aCGH – nie wykryto zmian	1. profil kwasów organicznych metodą GC/MS w moczu – prawidłowy 2. Tandem MS/MS – prawidłowy 3. mleczan w PMR – prawidłowy 4. izoformy transferryny, wydalanie SAICAR w moczu, aktywność biotynidazy – wyniki prawidłowe 5. neurotransmitery w PMR – podwyższone stężenia lewodopy oraz obniżone wartości kwasu homowanilinowego 6. sekwencjonowanie genu *SLC2A1* (deficyt transportera

		GLUT-1) – nie wykryto patogennych wariantów
	7. izoformy transferryny, wydalanie SAICAR w moczu, aktywność biotynidazy – wyniki prawidłowe	7. badanie w kierunku mutacji dynamicznej warunkującej pląsawicę Huntingtona – wynik ujemny
	8. neurotransmitery w PMR – obniżone wartości neopteryn	8. genetyczne badania przesiewowe w kierunku typowych zespołów mitochondrialnych – wynik ujemny
	9. sekwencjonowanie genu *SLC2A1* (deficyt transportera GLUT-1) – nie wykryto patogennych wariantów	
	10. badanie wybranych regionów genu *CDKL5* (atypowa postać z. Retta) – nie wykryto patogennych wariantów	
INNE PROBLEMY ZDROWOTNE	1. dysfagia ustno-gardłowa 2. zez zbieżny naprzemienny, oczopląs poziomo-obrotowy z fazą szybką w prawo, astygmatyzm 3. zaburzenia snu: przedłużenie latencji snu i częste wybudzenia w nocy 4. astma	1. dysfagia ustno-gardłowa 2. okresowy przerost mięśnia lewej komory serca

Napady padaczkowe obserwowane są jedynie u pacjentki 1, co pozostaje zgodne ze spektrum objawowym typowym dla DEE17. U pacjentki napady zgięciowe, które wystąpiły w 2 tygodniu życia stanowiły pierwszą prezentację kliniczną choroby i charakteryzowały się dobrą odpowiedzią na leczenie wigabatryną. Od 3 roku życia do chwili obecnej u dziewczynki obserwuje się epizody nadmiernej reakcji przestrachu klinicznie przypominające „startle seizures" opisywane u pacjentów z hiperekpleksją (11).

W sekwencyjnie powtarzanych badaniach MR mózgowia u dwójki prezentowanych pacjentów stwierdza się postępujący zanik mózgowia, głównie w zakresie płatów czołowych

z poszerzeniem układu komorowego mózgowia, bez współistniejących zaburzeń metabolicznych w ocenie spektroskopowej.

W badaniach neurometabolicznych obejmujących oznaczenia neurotransmiterów w płynie mózgowo-rdzeniowych u pacjentki 1 wykazano niespecyficzne obniżenie stężenia neopteryn, a u pacjenta 2 – podwyższone stężenia lewodopy oraz obniżone wartości kwasu homowanilinowego. W obu przypadkach stwierdzone zmiany nie wskazywały na klasyczne wrodzone zaburzenia neurotransmisji.

Dyskusja

Przedstawiony w prezentowanej pracy opis kliniczny dwójki pacjentów ze zidentyfikowanymi wariantami patogennymi w genie GNAO1 obrazuje szerokie spektrum kliniczne objawów warunkowanych zaburzeniami funkcji podjednostki αs białka G, które jest zasadniczym modulatorem licznych szlaków neuroprzekaźnictwa: muskarynowego (receptory M2/M4), adrenergicznego (receptory α2), opioidowego (receptory μ/δ) czy GABA-ergicznego (receptory GABA-B) (8, 12, 13).

W 2013 r. po raz pierwszy powiązano występowanie patogennych wariantów w genie GNAO1 z rozwojem wczesnodziecięcych encefalopatii padaczkowych (1), a do dnia dzisiejszego opisano około trzydziestu różnych zmian, w tym głównie o charakterze zmiany sensu (missense) (24 wariantów), pojedynczą delecję i pojedynczy wariant splicingowy (2, 8) (ryc. 1). Zidentyfikowany de novo wariant patogenny w pozycji c.709G>A (p.Glu237Lys) u prezentowanego pacjenta 2 stanowi kolejną, nowo opisaną zmianę o niejasnej funkcji (prawdopodobna destabilizacja tworzenia kompleksów przed podjednostkę αs białka G) (10), która klinicznie odpowiada spektrum objawowemu NEDIM. Z kolei wariant patogenny GNAO1 c.607G>A (p.Gly203Arg), który został zidentyfikowany de novo u pacjentki 1, jest drugą co do częstości raportowaną zmianą i klinicznie koreluje głównie z fenotypem odpowiadającym DEE17 (2).

Znaczna nadwrażliwość na niewielkie dawki benzodwuazepin i baklofenu obserwowana u prezentowanych pacjentów, może wskazywać na potencjalne zaburzenia neuroprzekaźnictwa związanego z receptorami GABA, a szczególnie z receptorami typu A jako punktami selektywnego uchwytu dla benzodwuazepin (14). Powyższy rodzaj zaburzeń nie był dotychczas raportowany w przypadku mechanizmu oddziaływania wariantów patogennych w genie GNAO1 (8).

U większości pacjentów z wariantami patogennymi w genie GNAO1 powiązanymi z fenotypem DEE17 obserwuje się incydenty napadowe o morfologii ogniskowej tonicznej lub toniczno-klonicznej (1, 15, 16). U prezentowanej pacjentki 2 w pierwszych tygodniach życia obserwowano napady zgięciowe z ich dobrą odpowiedzią kliniczną na monoterapię wigabatryną, będącą farmakologicznym analogiem GABA (17). Podobna morfologia napadów została opisana u dwójki pacjentów z odmiennymi wariantami w genie GNAO1 zidentyfikowanymi podczas badań w kohorcie pacjentów z zespołem Westa (18). Epizody o charakterze nadmiernej reakcji przestrachu obecnie występujące u pacjentki 1 i przypominające „startle seizures" opisywane u pacjentów z hiperekpleksją, nie były dotychczas raportowane u żadnego pacjenta z encefalopatią padaczkową warunkowaną wariantami patogennymi w genie GNAO1. Natomiast u pacjentów z hiperekpleksją opisywano niskie stężenia GABA w płynie mózgowo-rdzeniowym potwierdzające możliwą regulację funkcji receptorów GABA-A poprzez receptory glicynowe w związku z ich wzajemną interakcją z białkiem zakotwiczającym – gefiryną (19). Powyższe obserwacje mogą stanowić kolejny argument za możliwym mechanizmem oddziaływania wariantów patogennych w genie GNAO1 poprzez receptory GABA-A. Konieczne są dalsze badania funkcjonalne celem weryfikacji postawionej hipotezy.

Wnioski

Przeprowadzona analiza korelacji fenotyp-genotyp u dwójki pacjentów z zaburzeniami neurorozwojowymi związanymi z wariantami patogennymi w genie GNAO1 zidentyfikowała reakcje na zastosowane leczenie lub reakcje nadwrażliwości na leki, które mogą wskazywać na zaburzenia czynnościowe nie tylko receptorów GABA-B, ale również GABA-A. Odpowiednio zaplanowane badania funkcjonalne na modelach komórkowych lub zwierzęcych pozwolą zweryfikować postawioną hipotezę.

Piśmiennictwo

1. Nakamura K, Kodera H, Akita T, Shiina M, Kato M, Hoshino H, et al. De Novo Mutations in GNAO1, Encoding a G alpha(o) Subunit of Heterotrimeric G Proteins, Cause Epileptic Encephalopathy. Am J Hum Genet. 2013;93(3):496-505. doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.07.014
2. Schirinzi T, Garone G, Travaglini L, Vasco G, Galosi S, Rios L, et al. Phenomenology and clinical course of movement disorder in GNAO1 variants: Results from an analytical review. Parkinsonism Relat Disord. 2019;61:19-25. doi: 10.1016/j.parkreldis.2018.11.019.
3. Jiang MS, Gold MS, Boulay G, Spicher K, Peyton M, Brabet P, et al. Multiple neurological abnormalities in mice deficient in the G protein G(o). Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95(6):3269-3274. doi: 10.1073/pnas.95.6.3269.
4. Law C-Y, Chang ST-L, Cho SY, Yau EK-C, Ng GS-F, Fong N-C, et al. Clinical whole-exome sequencing reveals a novel missense pathogenic variant of GNAO1 in a patient with infantile-onset epilepsy. Clin Chim Acta. 2015;451(Part B):292-296. doi: 10.1016/j.cca.2015.10.011.
5. Ananth AL, Robichaux-Viehoever A, Kim YM, Hanson-Kahn A, Cox R, Enns GM, et al. Clinical Course of Six Children With GNAO1 Mutations Causing a Severe and Distinctive Movement Disorder. Pediatr Neurol. 2016;59:81-84. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2016.02.018.
6. Garcia-Marcos M, Ghosh P, Farquhar MG. Molecular Basis of a Novel Oncogenic Mutation in GNAO1. Oncogene. 2011;30(23):2691-2696. doi: 10.1038/onc.2010.645.
7. Pei X, Zhang J, Wu L, Lü B, Zhang X, Yang D, et al. The down-regulation of GNAO1 and its promoting role in hepatocellular carcinoma. Biosci Rep. 2013;33(5):e00069. doi: 10.1042/BSR20130001.
8. Danti FR, Galosi S, Romani M, Montomoli M, Carss KJ, Raymond FL, et al. GNAO1 encephalopathy: Broadening the phenotype and evaluating treatment and outcome. Neurol Genet. 2017;3(2):e143. doi: 10.1212/NXG.0000000000000143.
9. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. Hum Mutat. 2016;37(6):564-569. doi: 10.1002/humu.22981.
10. Okumura A, Maruyama K, Shibata M, Kurahashi H, Ishii A, Numoto S, et al. A patient with a GNAO1 mutation with decreased spontaneous movements, hypotonia, and dystonic features. Brain Dev. 2018;40(10):926-930. doi: 10.1016/j.braindev.2018.06.005.
11. Ryan SG, Sherman SL, Terry JC, Sparkes RS, Torres MC, Mackey RW. Startle disease, or hyperekplexia: response to clonazepam and assignment of the gene (STHE) to chromosome 5q by linkage analysis. Ann Neurol. 1992;31(6):663-668. doi: 10.1002/ana.410310615.
12. Holz GG, Rane SG, Dunlap K. GTP-binding proteins mediate transmitter inhibition of voltage-dependent calcium channels. Nature. 1986;319(6055):670-672. doi: 10.1038/319670a0.
13. Rosenbaum DM, Rasmussen SGF, Kobilka BK. The structure and function of G-protein-coupled receptors. Nature. 2009;459(7245):356-363. doi: 10.1038/nature08144.

14. Bounds CG, Nelson VL. Benzodiazepines. [Updated 2020 Nov 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470159/. (dostęp 2021.12.19).
15. Arya R, Spaeth C, Gilbert DL, Leach JL, Holland KD. GNAO1-associated epileptic encephalopathy and movement disorders: c.607G> A variant represents a probable mutation hotspot with a distinct phenotype. Epileptic Disord. 2017;19(1):67-75. doi: 10.1684/epd.2017.0888.
16. Saitsu H, Fukai R, Ben-Zeev B, Sakai Y, Mimaki M, Okamoto N, et al. Phenotypic spectrum of GNAO1 variants: epileptic encephalopathy to involuntary movements with severe developmental delay. Eur J Hum Genet. 2016;24(1):129-134. doi: 10.1038/ejhg.2015.92.
17. Ben-Menachem E. Mechanism of action of vigabatrin: correcting misperceptions. Acta Neurol Scand Suppl. 2011(192):5-15. doi: 10.1111/j.1600-0404.2011.01596.x.
18. Appenzeller S, Balling R, Barisic N, Baulac S, Caglayan H, Craiu D, et al. De Novo Mutations in Synaptic Transmission Genes Including DNM1 Cause Epileptic Encephalopathies. Am J Hum Genet.100(1):179. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.12.012.
19. Kasaragod VB, Schindelin H. Structure-Function Relationships of Glycine and GABA. Front Mol Neurosci. 2018;11:317. doi.org/10.3389/fnmol.2018.00317.