

Trójpeptydylopeptydaza 1 – TPP1 –
podłoże i diagnostyka molekularna
ceroidolipofuscynozy neuronalnej typu 2
CLN2

Małgorzata Musielak i Agnieszka Ługowska
Zakład Genetyki
Instytut Psychiatrii i Neurologii
w Warszawie

Nomenklatura CLN2

- 1908, 1913 r. choroba Janskiego i Bielszowskiego
- 1970 klasyfikacja w oparciu o objawy kliniczne i ich początek (*onset*) oraz histopatologię: CLN2 – postać poniemowlęca, wczesnodziecięca, (*LINCL – late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis*)
- 1999 r. Wiśniewski KE i in. „*Reevaluation of neuronal ceroid lipofuscinoses: atypical juvenile onset may be the result of CLN2 mutations*”
- 2011/12 nowa nomenklatura w oparciu o podłoże genetyczne uwzględniająca fenotypy kliniczne

13th International Conference
on Neuronal Ceroid Lipofuscinoses
&
Patient Organisation Meeting
London, UK, 2012

- CLN2 klasyczna wczesnodziecięca, poniemowlęca (*classic late infantile*), początek 2 – 4 r. ż.
- CLN2 wczesnomłodzieńcza (*juvenile*), początek 6 – 10 (5 – 9) r. ż.
- CLN2 niemowlęca (*infantile*), początek < 1 r. ż.

Podłożem genetycznym CLN2 są mutacje w genie *TPP1*

- chromosom 11p15
- 13 eksonów
- <http://www.ucl.ac.uk/ncl>
- 72 mutacje chorobotwórcze i 22 polimorfizmy
- Human Mutation, 2012,33,1:42-63
- 89 mutacji i 22 polimorfizmy:
 - 42 missens, 14 nonsens, 17 splice-site,
 - 11 delecje, 4 insercje, 1 del/ins

Wiek dziecka, w którym choroba ujawnia się, zależy od „złośliwości” mutacji

CLN2 onset 2 – 4 r. ż.

- Popularne:
- p.Arg208Stop
- c.509-1G>C

CLN2 onset < 1 r. ż.

- p.Arg208Stop
- p.Gly284Val
- c.509-1G>C

CLN2 onset 6 – 10 r. ż.

- p.Arg447His
- p.Asn286Ser
- p.Arg127Gln
- p.Val480Gly

CLN2 onset < 1 r. ż.

p.Phe481Cys

Trójpeptydylopeptydaza 1 jest egzopeptydazą
zlokalizowaną we wnętrzu lizosomu

- Preproenzym 563 aa

częściowa proteoliza

glikozylacja typu N

aktywny enzym 368 aa

pH ~ 4 – 4,5

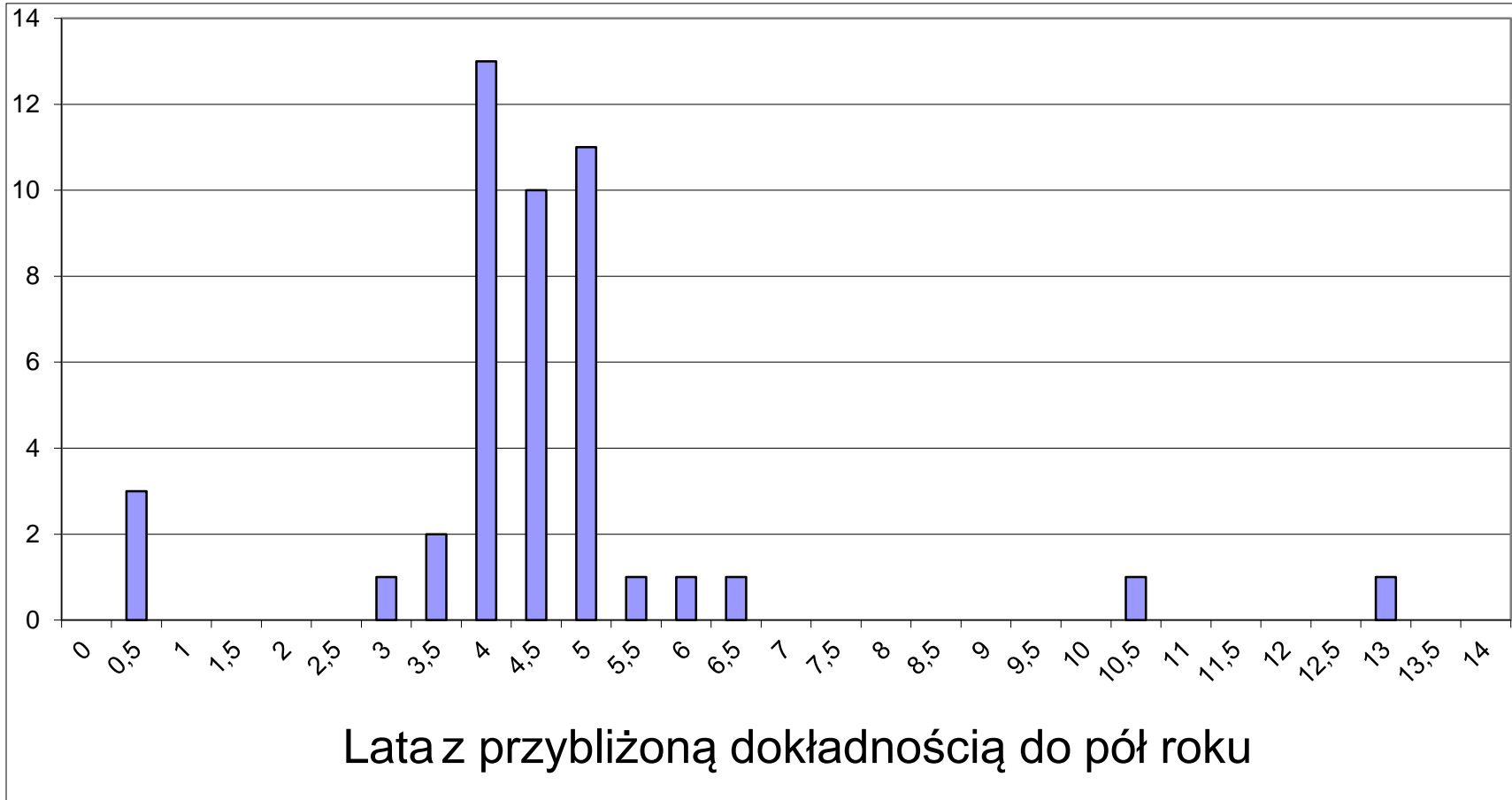
Trójpeptydylopeptydaza 1 jest sedolizyną

- enzym posiada w centrum katalitycznym trzy kluczowe aminokwasy : S – serynę, E – glutaminian i D – kwas asparaginowy
- [typowe proteazy serynowe mają S, H, D]
- niektóre z inhibitorów specyficznych dla proteaz serynowych nie hamują aktywności TPP1
- fakt ten wykorzystuje się w prostej i szybkiej diagnostyce enzymatycznej CLN2 w Pracowni Metabolicznej Z-du Genetyki IPiN w Warszawie

Wskazania do wykonania testu aktywności TPP1

- Początek objawów we wczesnym dzieciństwie, po okresie prawidłowego rozwoju dziecko zaczyna cofać się w rozwoju, traci nabyte umiejętności np. mowy pełnymi zdaniami, chodzenia,
- Pojawiają się epizody napadowe po przebudzeniu lub z gorączką aż do padaczki z utratą przytomności z następującą sennością,
- Drgawki miokloniczne, ataksja,
- Zaburzenia równowagi i chodu,
- Retinopatia → ślepota i utrata zdolności poznawczych

Orientacyjny wiek dzieci w czasie oznaczenia aktywności TPP1



- Testy enzymatyczne wykonano w latach 2002 – 2012
- Deficyt aktywności TPP1 stwierdzono u 36 dzieci:
 - 3 dzieci – *onset* <1 r.ż.;
 - 31 dzieci – *onset* 2 – 4 r.ż.;
 - 2 dzieci – *onset* 5 r.ż.
- Brak danych własnych o analizach genetycznych
- Brak danych własnych histopatologicznych
- Strona www dr. S. Mole nie zawiera ani jednej danej dot. mutacji w genie *TPP1* u rodziny polskiej.

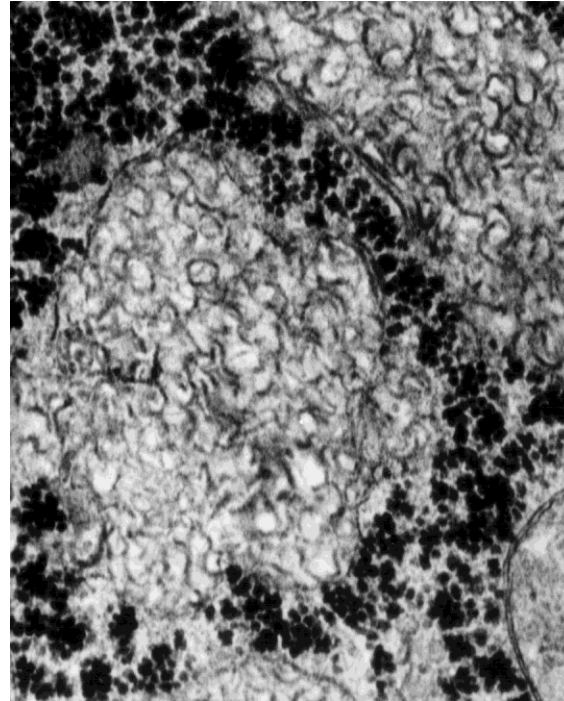
Test aktywności TPP1 w badaniu prenatalnym

- W IPIŃ wykonano 9 badań w hodowanych komórkach płynu owodniowego (amniocytach): wyniki nieprawidłowe, 0 j./mg/h, dla 4 płodów, wyniki prawidłowe, 16 – 62 j./mg/h, dla 5 płodów, wartości kontrolne, 30 – 56 j./mg/h.
- Wykonano 1 badanie w komórkach trofoblastu: wynik nieprawidłowy, 2,5 j./mg/h, kontrola 93 j./mg/h.
- Ponadto wykonano 1 badanie w krwi pępowinowej uzyskując wynik prawidłowy, 13 j./mg/h, kontrola 21 j./mg/h.

Mikroskopia elektronowa:
CLN2

Wtręty skrętolinijne
(*curvilinear bodies*) w
cytoplazmie komórki
wydzielniczej gruczołu
potowego (biopsja
skóry)

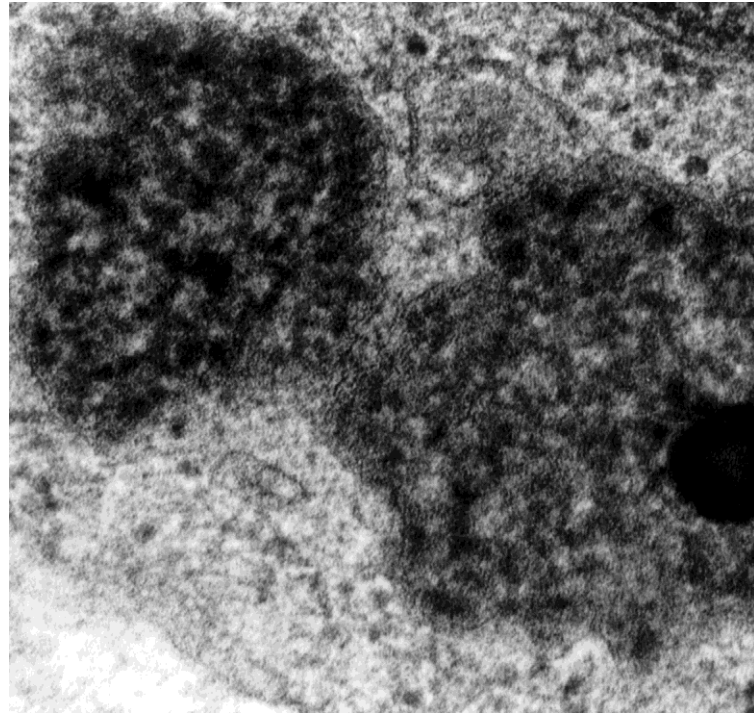
ze zbiorów dr Adama
Gołąbka



Mikroskopia elektronowa:
CLN1

Ziarniste złogi
osmofilne (*granular
osmiophilic deposits*)
w cytoplazmie
limfocyta kożucha
krwinek białych

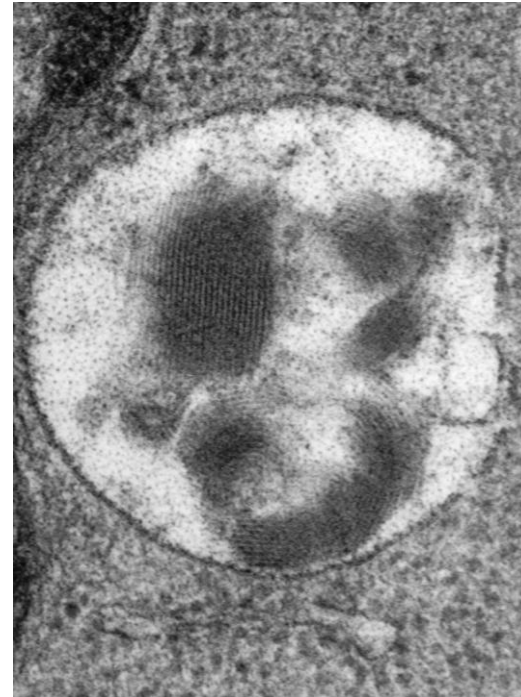
ze zbiorów dr Adama
Gołąbka



Mikroskopia elektronowa
CLN3

Wtręty typu linii papilarnych (*finger print*) w wakuoli w cytoplazmie limfocyta kożucha krwinek białych.

ze zbiorów dr Adama
Gołąbka



Badanie dna oka

CLN2

A – 4 r.ż.

naczynia w normie;

B – 4,5 r.ż.

zwężenie tętnic

C – 5 r.ż.

całkowity zanik tętnic

D – 6 r.ż.

zanik wszystkich naczyń
siatkówki i zanik tarczy n.
wzrokowego.

Zdjęcia od dr T. Kmiecia

