

University of Groningen

## The genetics of spinocerebellar ataxia and dystonia

Nibbeling, Esther

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2017

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Nibbeling, E. (2017). The genetics of spinocerebellar ataxia and dystonia. [Groningen]: Rijksuniversiteit Groningen.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

---

# Appendices





## Summary

Traditionally, the novel genetic causes underlying monogenic diseases were found using a combination of linkage analysis and Sanger sequencing of candidate genes in the linkage interval. This strategy was most often successful when applied to large multiplex families. However, in most cases this approach did not lead to the identification of the disease causing mutation because the linkage regions were too large and contained many candidate genes. Nowadays, next generation sequencing (NGS) techniques provide us with the opportunity to sequence many genes at one time, increasing the odds of identifying the disease-causing mutation. In this thesis, we have used several NGS techniques such as whole exome sequencing (WES) and targeted resequencing (TRS) to pinpoint the disease-causing mutation in families suffering from dystonia or spinocerebellar ataxia (SCA). Both are so-called movement disorders that affect the movement patterns of patients. These can either be hyperkinetic, which results in excessive and involuntary movements, or hypokinetic, when movements are slowed or absent. Dystonia is an example of a hyperkinetic movement disorder presenting with muscle contractions that lead to abnormal movements and postures. Spinocerebellar ataxia (SCA), on the other hand, is characterized by loss of balance and coordination. Both disorders arise from aberrant neuronal signaling resulting in over- or underactivity of affected muscles. Both disorders are genetically heterogeneous. For SCA, 31 disease genes and 44 subtypes been identified to date. For dystonia, 21 disease genes and 29 subtypes have been identified. Despite the identification of many disease genes that cause SCAs and dystonias, a large percentage of the patients (up to 30% for both disorders) remain genetically undiagnosed.

In **chapter 1** we describe the overlap in symptoms and molecular background of the two disorders. Despite a completely different set of genes which, when mutated, are disease-causing, altered synaptic transmission may play a large role in both disorders. By comparing gene co-expression networks generated based on the reported disease genes, we identified 99 genes as shared between dystonia and SCA. This gene overlap contains a significant enrichment for genes encoding ion channels that was not observed with Charcot-Marie-Tooth genes. This implies that SCA and dystonia are more similar to each other in pathogenesis than they are to neurologic disorders without cerebellar involvement. Our insight into shared molecular mechanisms of the disorders will help in the genetic counseling of patients and aid the development of therapies.

In the next five chapters (chapters 2-6) we aimed to further unravel the genetic background of SCA and dystonia patients who did not show mutations in the disease genes that are currently screened in regular diagnostics. In **chapter 2** we have used an approach combining WES, TRS, and gene co-expression and co-functionality network analysis to identify novel SCA genes in 20 families who did not carry mutations in the

more frequent SCA genes. Four families carried mutations in known SCA genes that had not been tested for in routine genetic diagnostics. In three other families only one damaging variant in genes not previously linked to SCA segregated with the disease. These genes were *FAT2* (FAT atypical cadherin 2), *PLD3* (phospholipase D family member 3), and *KIF26B* (Kinesin family member 26B). In thirteen families, WES was not sufficient to identify the disease-causing variant because too many potential disease-causing variants remained after filtering and co-segregation analysis. A targeted resequencing panel containing all potential candidate genes was applied to a cohort of 96 independently referred genetically undiagnosed SCA patients to screen for mutations in these candidate genes. Eight of these patients carried a reported or novel disease-causing mutation in one of the rarer (but known) SCA genes, which emphasizes the benefit of gene panel analysis in mutation detection for diagnostics. Furthermore, we identified an additional damaging variant in *FAT2* in one case, and several other cases carried damaging variants in *FAT1* (FAT atypical cadherin 1) and *EP300* (E1A binding protein p300), pinpointing these genes as putative novel SCA genes. Unfortunately, no additional cases with damaging variants in *KIF26B* and *PLD* were identified. We functionally confirmed the damaging effects of mutations in the rarer SCA genes for which we were unable to test for co-segregation and the damaging variants in novel SCA genes *FAT2* and *PLD3*. Additionally, gene network analysis of genes co-expressed with known SCA genes showed significantly increased connectivity of the network upon addition of the five novel genes. This implies that these genes are more similar in biological function to known SCA genes than would be expected by chance. Furthermore, protein co-functionality analysis reinforced the involvement of synaptic transmission and nuclear functioning in the pathology of SCA. In the end, our approach led to the identification of five novel SCA genes and highlighted neurotransmission and transcription regulation as common mechanisms underlying SCA.

WES was also successful in the identification of the disease-causing variant in a family suffering from autosomal dominantly inherited writer's cramp, as described in **chapter 3**. Fifteen candidate variants remained after stringent filtering of the WES data, of which seven co-segregated with the disorder in the family. We decided to follow-up on the damaging variant in *CACNA1H* based on its presence in the dystonia gene network that contains genes that are co-expressed with known dystonia genes, and the recently published involvement of *CACNA1B* in dystonia. Whole-cell patch-clamp experiments showed overactivation of the mutated calcium channel compared to wild type that is very likely to have led to the abnormal muscle contractures in this family. *CACNA1H* is the second voltage gated calcium channel identified in dystonia, strengthening the importance of ion channels and neurotransmission in the pathogenesis of dystonia.

Given that aberrant neurotransmission, including glutamateric signaling, also seems to be a common theme in the pathogenesis of ataxia, in **chapter 4** we used a TRS approach to capture all variants in 39 genes involved in the glutamatergic pathway in a cohort of 96 independent SCA patients who remained without a genetic diagnosis after standard diagnostic testing. We identified three novel variations and one rare variation in glutamate receptors *GRIA3*, *GRIK1*, and *GRIN3B*. The patients carrying the *GRIA3* and *GRIN3B* variations exhibited motor dysfunction and ataxia, and/or intellectual disability. The *GRIK1* variants carrier showed pure ataxia. To confirm pathogenicity of the variants in *GRIK1* and *GRIN3B*, functional assays were performed including electrophysiological analysis to define receptor activity and immunocytochemistry and western blot to determine cell surface expression of the receptor complexes. Overall, our results showed that altered glutamatergic signaling is not a common cause of SCA. Instead, dysfunctional glutamate signaling may be a shared mechanism underlying both SCA and intellectual disability.

In **chapter 5** we show the value of functional analysis in the interpretation of pathogenicity of genetic variations identified in the SCA13 gene *KCNC3* by screening two Dutch cohorts of 316 and 532 cerebellar ataxia patients referred for diagnostic genetic testing of SCA. We identified nine coding variants in *KCNC3* including the previously reported p.Arg420His and p.Arg423His mutations. In three of the remaining seven missense variants, functional analysis revealed altered Kv3.3 channel activation. Of these three functional variants, only one variant segregated with disease, was predicted to be damaging *in silico*, and can thus be considered as a novel pathogenic mutation in *KCNC3* that causes SCA13. The other two variants were *in silico* predicted to be benign, and co-segregation analysis was not optimal or could only be partially confirmed, leaving them as potential disease causing variants. Thus, we show that SCA13 is one of the rarer SCA types in the Netherlands, with an estimated prevalence between 0.6% and 1.3%.

In **chapter 6** we aimed to identify the causal variants in *ARSG*, a gene recently associated with task-specific focal dystonia. Upon screening of the complete coding region of *ARSG* using Sanger sequencing, 11 rare variants were identified in our cohorts of 158 musician's dystonia cases and 72 writer's cramp patients. We did not identify causal variants, but found variant rs61999318 to be associated with writer's cramp (but not musician's dystonia). Furthermore, we demonstrated an enrichment of rare protein-changing variants in *ARSG* in writer's cramp patients compared to control samples (EVS database), which was also not observed for musician's dystonia. Overall, no definite disease-causing mutation was identified in the *ARSG* gene, suggesting that task-induced focal dystonia has a genetically complex etiology.

The results of these chapters are discussed at the end of this thesis and are placed in a broader perspective. Some recommendations for future research are also made.

## Samenvatting

Om de genetische oorzaak te vinden van ziektes waarvan verwacht wordt dat ze door slechts één gen veroorzaakt worden, werd vroeger vooral gebruik gemaakt van linkage-analyse in combinatie met Sanger sequencing van de kandidaatgenen in het gevonden linkagegebied. Deze strategie werkt het best in grote families, omdat daar het linkagegebied het best te bepalen is. Desondanks werd de ziekteveroorzakende mutatie meestal niet gevonden, omdat het linkagegebied te groot was en er daardoor te veel kandidaatgenen in lagen. Tegenwoordig zijn er veel nieuwe technieken beschikbaar, waaronder de zogenaamde 'next generation sequencing' (NGS) technieken die het mogelijk maken om een groot deel van iemands DNA in één keer af te lezen. Hierdoor wordt de kans vergroot dat de oorzaak van de ziekte van een patiënt gevonden wordt. In dit proefschrift hebben we verschillende van deze NGS-technieken, zoals 'whole exome sequencing' (WES) en 'targeted resequencing' (TRS), gebruikt om de ziekteveroorzakende mutaties te vinden in families met als ziektebeeld spinocerebellaire ataxie (SCA) of dystonie. Dit zijn bewegingsstoornissen die invloed hebben op het bewegingspatroon van de patiënten. Dit kan hyperkinetisch zijn, waarbij er een teveel aan ongewenste bewegingen is, of hypokinetisch, gekenmerkt door te langzame, of helemaal geen beweging. Dystonie is een voorbeeld van een hyperkinetische bewegingsstoornis en wordt gekarakteriseerd door spierverkrampingen die leiden tot abnormale bewegingen en posities van lichaamsdelen. SCA wordt gekenmerkt door een verlies van balans en coördinatie, en verminderde controle op bewegingen. Beide stoornissen ontstaan door afwijkende zenuwprocessen waardoor de spieren te veel of juist te weinig worden aangestuurd. Genetisch gezien zijn beide stoornissen erg heterogeen. Dit wil zeggen dat er meerdere oorzaken bekend zijn die hetzelfde ziektebeeld kunnen veroorzaken. Voor SCA zijn er op dit moment 31 ziektegenen beschreven binnen 44 SCA subtypes en voor dystonie zijn 29 subtypes beschreven waarvan in 21 het ziekteveroorzakende gen bekend is. Ondanks dat er zoveel genen bekend zijn, blijft de genetische oorzaak onbekend bij ongeveer 30% van de patiënten.

In **hoofdstuk 1** beschrijven we de overlappende symptomen en moleculaire achtergrond van SCA en dystonie. De set van genen die de ziekte kan veroorzaken is compleet verschillend voor beide stoornissen, maar desondanks zien we dat bij beide ziektebeelden signaaltransductie in zenuwcellen een grote rol speelt. Door het creëren en vergelijken van gen co-expressienetwerken gebaseerd op de bekende ziektegenen vonden we 99 genen die aanwezig waren in beide netwerken en waarbinnen een sterke verrijking te zien was van genen die coderen voor ionkanalen. Deze sterke overlap zagen we niet wanneer we de genen betrokken bij SCA en dystonie vergeleken met de genen betrokken bij Charcot-Marie-Tooth disease. Dit suggereert dat SCA en dystonie sterker aan elkaar verwant zijn qua ziektemechanisme dan aan

neurologische aandoeningen waarbij het cerebellum niet betrokken is. Beter begrip van de gemeenschappelijke onderliggende mechanismen zorgt ervoor dat er betere diagnostiek geleverd kan worden en helpt bij het ontwikkelen van therapieën.

De volgende vijf hoofdstukken van dit proefschrift (hoofdstuk 2-6) zijn gericht op het verder uitpluizen van de genetische achtergrond van SCA- en dystoniepatiënten die op basis van de reguliere testen die in diagnostiek worden aangeboden nog geen genetische diagnose hadden gekregen. In **hoofdstuk 2** hebben we dit gedaan met een combinatie van WES, TRS, gen co-expressie en gen co-functionaliteitsnetwerken in twintig SCA families die geen mutatie hadden in de meest frequente SCA genen. In vier van deze families vonden we direct mutaties in bekende, maar zeldzame SCA genen waar deze patiënten nog niet op getest waren. In drie andere families bleef er slechts één schadelijke variant over in genen die nog niet gelinkt waren aan SCA, maar die wel met het ziektebeeld segregeerden in de families. Deze genen waren *FAT2* (FAT atypical cadherin 2), *PLD3* (phospholipase D family member 3), en *KIF26B* (Kinesin family member 26B). In de overige dertien families was alleen WES niet genoeg om de ziekteveroorzakende variant aan te wijzen, omdat er te veel varianten over waren na alle filterstappen en segregatie-analyses. Omdat het vinden van een tweede familie met een mutatie in hetzelfde gen de waarschijnlijkheid een stuk groter maakt dat het gen daadwerkelijk een ziektegen is, zijn we door middel van TRS op zoek gegaan naar een 'tweede-hit' in alle mogelijke kandidaatgenen in 96 onafhankelijk verwezen SCA-patiënten. Dit leverde voor acht patiënten een directe diagnose op van een mutatie in een bekend SCA-gen, wat het belang van het gebruik van genpanels in de diagnostiek onderstreept. Daarnaast hebben we een extra variant gevonden in het *FAT2* gen, en meerdere varianten in *FAT1* (FAT atypical cadherin 1) en *EP300* (E1A binding protein p300) waardoor ook deze genen nu aangewezen zijn als potentiële nieuwe SCA genen. Helaas hebben we geen extra varianten gevonden in *KIF26B* en *PLD3*. Voor de varianten in de zeldzame SCA genen en de kandidaatgenen *FAT2* en *PLD3* was het niet mogelijk om segregatie-onderzoek te doen in families en daarom hebben we de pathogeniteit van deze varianten met functioneel onderzoek bevestigd. Daarnaast hebben we met gennetwerkanalyse op basis van co-expressie laten zien dat de samenhang van het SCA-gennetwerk significant toenam wanneer de vijf kandidaatgenen worden toegevoegd. Dit impliceert dat deze genen meer vergelijkbaar zijn met de bekende SCA-genen dan verwacht wordt van vijf willekeurige genen. Dit beeld werd versterkt door het co-functionaliteitnetwerk dat laat zien dat de kandidaatgenen actief zijn in vergelijkbare processen als de bekende SCA-genen waaronder signaaltransductie en regulatie van transcriptie. Deze aanpak heeft uiteindelijk geleid tot het identificeren van vijf nieuwe SCA-genen en heeft signaaltransductie en transcriptieregulatie aangewezen als gemeenschappelijke mechanismen in het SCA ziektebeeld.



WES was ook succesvol bij de identificatie van de ziekteveroorzakende variant in een familie met schrijfkrimp zoals beschreven in **hoofdstuk 3**. Vijftien kandidaatvarianten bleven over na filtering van de WES data en daarvan segregeerden er zeven met het ziektebeeld in de familie. Gebaseerd op aanwezigheid in het dystonie gennetwerk en een recente publicatie die betrokkenheid van *CACNA1B* in dystonie beschreef, hebben wij besloten de schadelijke variant in *CACNA1H* verder op te volgen. Met patch-clamp experimenten hebben we laten zien dat de variant leidt tot overactivatie van het calciumkanaal en dit veroorzaakt waarschijnlijk de abnormale spiersamentrekkingen in deze familie. *CACNA1H* is het tweede calciumkanaal dat betrokken is bij dystonie, wat het belang van deze kanalen in de pathogenese van dystonie onderstreept.

Wegens de betrokkenheid van afwijkende neuronale signaaltransductie in de SCA pathogenese, waaronder de glutamatoire signaaltransductie, hebben we in **hoofdstuk 4** TRS gebruikt om alle varianten in 39 genen betrokken bij de glutamatoire signaaltransductie te bekijken in 96 onafhankelijke SCA patiënten. Hiermee vonden we drie nieuwe varianten en één zeldzaam polymorfisme in de glutamaatreceptoren *GRIA3*, *GRIK1* en *GRIN3B*. De patiënten met de varianten in *GRIA3* en *GRIN3B* hadden motorische problemen en ataxie en/of verstandelijke beperking. De persoon met de *GRIK1* variant had pure ataxie. Om de pathogeniteit van de varianten in *GRIK1* en *GRIN3B* te bevestigen hebben we functionele testen gedaan waaronder electrofysiologische analyses om de receptoractiviteit te bepalen, en immunocytochemie en western blot om de expressie van de receptoren op het celoppervlak te bekijken. Uit deze analyses is gebleken dat afwijkende glutamatoire signaaltransductie geen veelvoorkomende oorzaak is voor SCA, maar het lijkt een mechanisme dat SCA en verstandelijke beperkingen met elkaar verbindt.

In **hoofdstuk 5** laten we de toegevoegde waarde zien van functionele analyses bij het interpreteren van de pathogeniteit van varianten in het SCA13 gen, *KCNC3*. Met Sanger sequencing hebben we twee cohorten van 316 en 532 cerebellaire ataxie patiënten gescreend die voor genetische SCA testen waren aangemeld. Hiermee werden negen coderende varianten gevonden in *KCNC3* waaronder de bekende pathogene mutaties p.Arg420His en p.Arg423His. Functionele analyses lieten afwijkende activatie van het Kv3.3-kanaal zien bij drie van de zeven resterende varianten. Van deze drie functionele varianten was er slechts één *in silico* (met computerprogramma's) voorspeld als pathogeen. Deze variant co-segregeerde ook met het ziektebeeld in de familie en kan daardoor als nieuwe pathogene SCA13 mutatie worden beschouwd. De andere twee functionele varianten waren *in silico* voorspeld als onschuldig, en co-segregatie in de familie was niet optimaal of kon slechts gedeeltelijk worden bevestigd, waardoor we deze varianten classificeren als mogelijk pathogeen. Dit werk laat zien dat SCA13 een

zeldzaam SCA-type is in Nederland met een geschatte prevalentie tussen de 0,6% en 1,3%.

In **hoofdstuk 6** hebben we ernaar gestreefd causale varianten te vinden in het *ARSG* gen dat recent is geassocieerd met taak-specifieke focale dystonie. Middels Sanger sequencing van het gehele coderende deel van het *ARSG* gen in onze cohorten van 158 personen met muziekkrimp en 72 schrijfkramppatiënten vonden we elf zeldzame varianten. We hebben geen causale mutaties geïdentificeerd, maar vonden wel dat variant rs61999318 geassocieerd is met schrijfkrimp, maar niet met muziekkrimp. Daarnaast lieten we een verrijking zien van zeldzame eiwitveranderende varianten in *ARSG* in schrijfkramppatiënten in vergelijking met controles (EVS database), die ook niet werd waargenomen voor muziekkrimp. Uiteindelijk hebben we dus geen causale variant gevonden in het *ARSG* gen, wat suggereert dat focale dystonieën een complexe genetische etiologie hebben.

De resultaten van deze hoofdstukken worden bediscussieerd aan het eind van dit proefschrift en zijn daar ook in een breder perspectief geplaatst. Hierbij worden ook aanbevelingen voor toekomstig onderzoek gedaan.

## Dankwoord

Het zit erop, mijn proefschrift is af. Dit is het moment om iedereen te bedanken die mij op welke manier dan ook heeft geholpen en gesteund om het promotieonderzoek tot een succes te maken. Dus voor iedereen die zich aangesproken voelt: ontzettend bedankt! Een aantal mensen wil ik persoonlijk bedanken:

Allereerst natuurlijk Dineke, op de valreep toch nog mijn eerste promotor geworden! Bedankt voor het vertrouwen dat je mij hebt gegeven om aan jouw droomproject te werken. Je hebt hier tijdens jouw promotie al hard aan gewerkt en we zijn nu een stuk verder gekomen. Ik hoop van harte dat je de andere families ook nog op zult lossen.

Richard, hoe vaak heb jij mij wel niet verteld dat ik enthousiaster moest zijn over mijn resultaten, dat het hartstikke leuk is wat ik heb bereikt? Nu ik mijn hele proefschrift bij elkaar zie, begin ik daar eindelijk ook in te geloven. Bedankt voor al je steun, vooral tijdens het schrijven van alle stukken.

Marina, jouw enthousiasme en wil om bij alle families de genetische oorzaak te achterhalen werkte erg motiverend. Bedankt ook Tom, omdat jij altijd als een soort tolk functioneerde tussen de genetici en Marina.

Mijn paranimfen Ettje en Marijke, wat vind ik het fijn dat jullie vandaag naast me staan. We hebben een groot deel van onze promotietijd samen doorgebracht en ondanks dat jullie heel ander onderzoek deden dan ik, hadden we natuurlijk wel dezelfde perikelen om het promoveren heen. Op tijd thee drinken is altijd een goede stimulans geweest om daarna weer vol goede moed verder te werken. Ook niet onbelangrijk bij deze pauzes waren Lieke, Marijn, Suzanne en Rudi.

Alle artsen, bedankt voor het aanleveren van de patiënten. Zonder jullie was dit onderzoek niet mogelijk geweest. En speciaal bedankt Corien, voor het verzamelen van alle klinische data bij alle betrokken artsen.

Michiel, Anna and Cleo, thank you for all your efforts in the lab, you really did of a lot of the functional stuff in my projects. And I have learned a lot from you.

Daarnaast heb ik veel hulp gehad van mijn studenten; Melissa, Mirjam, Marijke en Louise bedankt voor jullie inzet en al het werk dat jullie hebben verzet.

Iedereen van de sequentiefaciliteit en de bijbehorende bioinformatici: zonder jullie werk zou dit een leeg proefschrift zijn geweest. Lude met bijbehorend team, bedankt voor alle complexe bio-informatische analyses, die ik nooit zelf had kunnen doen. Jackie en Kate bedankt dat jullie de Engelstalige stukken tekst ook echt Engels hebben gemaakt.

Alle analisten en andere onderzoekers van de genetica bedankt voor jullie hulp wanneer nodig, maar vooral voor de gezelligheid tijdens de lunch en koffiepauzes.

Pap, mam, Sander, opa en oma, bedankt dat jullie me altijd hebben gesteund tijdens mijn promotie in het verre Groningen. Het was misschien niet altijd te snappen wat ik aan het doen was, maar gelukkig bleven jullie altijd vragen hoe het ging. Daar is nu nog één ding over te zeggen: het is klaar!

## List of publications

**Nibbeling, E.A.R.**, Delnooz, C.C.S., de Koning, T.J., Sinke, R.J., Jinnah, H.A., Tijssen, M.A.J., and Verbeek, D.S. (2017). *Using the shared genetics of dystonia and ataxia to unravel their pathogenesis*. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 75, 22–39

Duarri, A., **Nibbeling, E.A.R.**, Fokkens, M.R., Meijer, M., Boerrigter, M., Verschuuren-Bemelmans, C.C., Kremer, B.P.H., van de Warrenburg, B.P., Dooijes, D., Boddeke, E., et al. (2015). *Functional Analysis Helps to Define KCNC3 Mutational Spectrum in Dutch Ataxia Cases*. *PLoS One* 10, e0116599.

**Nibbeling, E.**, Schaake, S., Tijssen, M.A., Weissbach, A., Groen, J.L., Altenmüller, E., Verbeek, D.S., and Lohmann, K. (2015). *Accumulation of rare variants in the arylsulfatase G (ARSG) gene in task-specific dystonia*. *J. Neurol.* 262, 1340–1343.

Duarri, A., Lin, M.A., Fokkens, M.R., Meijer, M., Smeets, C.J.L.M., **Nibbeling, E.A.R.**, Boddeke, E., Sinke, R.J., Kampinga, H.H., Papazian, D.M., et al. (2015). *Spinocerebellar ataxia type 19 / 22 mutations alter heterocomplex Kv4 . 3 channel function and gating in a dominant manner*. *Cell. Mol. Life Sci.* 72, 3387–3399.

Van Egmond, M.E., Verschuuren-Bemelmans, C.C., **Nibbeling, E.A.**, Elting, J.W.J., Sival, D.A., Brouwer, O.F., de Vries, J.J., Kremer, H.P., Sinke, R.J., Tijssen, M.A., et al. (2014). *Ramsay Hunt syndrome: clinical characterization of progressive myoclonus ataxia caused by GOSR2 mutation*. *Mov. Disord.* 29, 139–143.

Duarri, A., **Nibbeling, E.A.R.**, Fokkens, M.R., Meijer, M., Boddeke, E., Lagrange, E., Stevanin, G., Brice, A., Durr, A., and Verbeek, D.S. (2013). *The L450P mutation in KCND3 brings spinocerebellar ataxia and Brugada syndrome closer together*. *Neurogenetics* 14, 257–258.

Forkink, M., Manjeri, G.R., Liemburg-Apers, D.C., **Nibbeling, E.**, Blanchard, M., Wojtala, A., Smeitink, J. a M., Wieckowski, M.R., Willems, P.H.G.M., and Koopman, W.J.H. (2014). *Mitochondrial hyperpolarization during chronic complex I inhibition is sustained by low activity of complex II, III, IV and V*. *Biochim. Biophys. Acta* 1837, 1247–1256.

Cliffe, S.T., Kramer, J.M., Hussain, K., Robben, J.H., de Jong, E.K., de Brouwer, A.P., **Nibbeling, E.**, Kamsteeg, E.-J., Wong, M., Prendiville, J., et al. (2009). *SLC29A3 gene is mutated in pigmented hypertrichosis with insulin-dependent diabetes mellitus syndrome and interacts with the insulin signaling pathway*. Hum. Mol. Genet. 18, 2257–2265.