

Choroby nerwowo-mięśniowe.

Monika Gos

Zakład Genetyki Medycznej

Instytut Matki i Dziecka

Kurs: Genetyka i genomika chorób neurologicznych.



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl

Choroby nerwowo-mięśniowe

- grupa chorób w przebiegu których dochodzi do zaburzenia czynności struktur układu nerwowego (centralnego lub obwodowego) lub mięśni, które są przez nie pobudzane. Zaburzenia mogą także dotyczyć połączeń nerwowo-mięśniowych.
- objawy wspólne dla chorób nerwowo-mięśniowych:
 - zanik
 - niedowład
 - wiotkość
 - osłabienie lub zniesienie odruchów
- przyczyny: genetyczne lub nabyte; objawy w każdym wieku

Diagnostyka i różnicowanie kliniczne

- Badanie podmiotowe (wywiad osobniczy i rodzinny) i przedmiotowe (ocena słabości określonych grup mięśniowych, badanie fizykalne i wizualne, obecność objawów pozamięśniowych)
- Badania laboratoryjne, w tym badania genetyczne (heterogenność), biochemiczne (choroby metaboliczne) i immunologiczne
- Badanie elektrofizjologiczne (elektromiografia)
- Badanie histopatologiczne (biopsja mięśnia)
- Badanie obrazowe (USG, TK, MRI)

Geny a choroby nerwowo-mięśniowe



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Neuromuscular Disorders 28 (2018) 1031–1063



www.elsevier.com/locate/nmd

The 2019 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome)

Gisèle Bonne^{a,*}, François Rivier^b, Dalil Hamroun^c

^aSorbonne Université, INSERM UMRS_974, Centre de Recherche en Myologie, Institut de Myologie, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France

^bNeuropédiatrie & CR Maladies Neuromusculaires, CHU de Montpellier, U1046 INSERM, UMR9214 CNRS, Université de Montpellier, France

^cCHRU de Montpellier, Direction de la Recherche et de l'Innovation, Hôpital La Colombière, Montpellier, France

- **Disease group:** 16 categories as in the printed version

1. Muscular dystrophies	5. Other myopathies	9. Metabolic myopathies	13. Hereditary ataxias
2. Congenital muscular dystrophies	6. Myotonic syndromes	10. Hereditary cardiomyopathies	14. Hereditary motor and sensory neuropathies
3. Congenital myopathies	7. Ion channel muscle diseases	11. Congenital myasthenic syndromes	15. Hereditary paraplegias
4. Distal myopathies	8. Malignant hyperthermia	12. Motor neuron diseases	16. Other neuromuscular disorders

955 Diseases

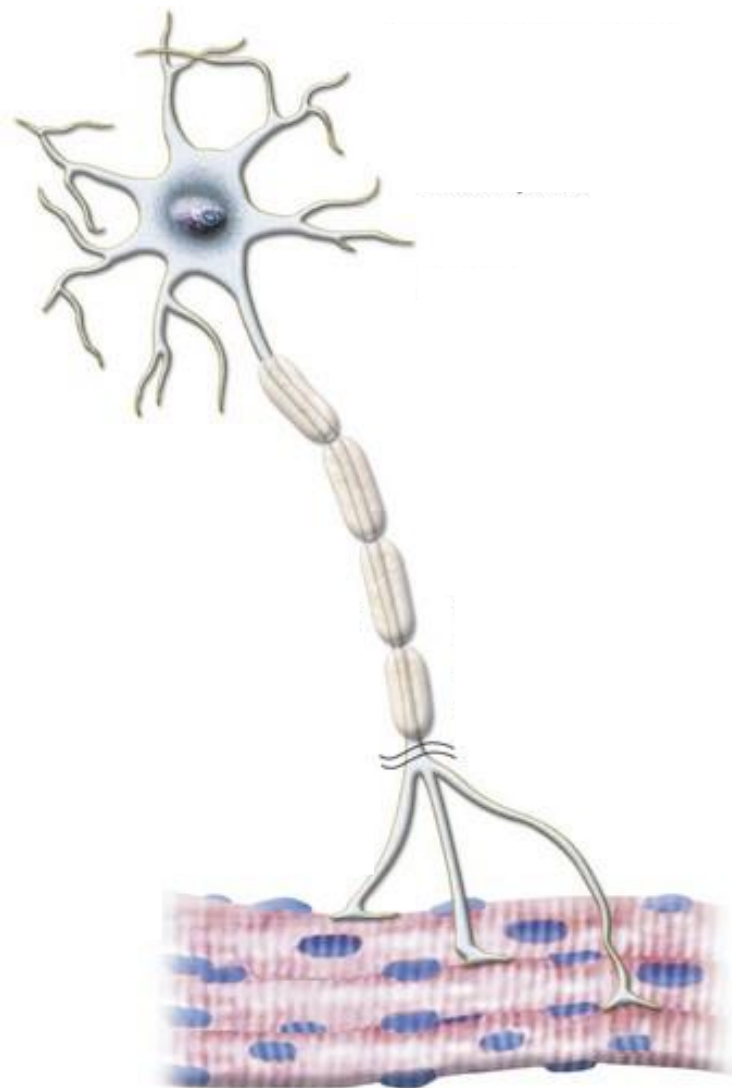
535 Different genes

535 Different proteins, of which 56 are mitochondrial (M)

69 Mapped loci awaiting gene identification

<http://www.musclegenetable.fr/>

Grupa	Geny
Miopatie wrodzone	ACTA1, BIN1, CACNA1S, CFL2, CNTN1, DNM2, HNRNPA1, KBTBD13, KLHL40, KLHL41, LMOD3, MEGF10, MTM1 , MYBPC3, MYH2, MYH7, NEB, PTPLA, RYR1, SEPN1, SPEG, TNNT1, TPM2, TPM3, TRIM32, <u>TTN</u>
Wrodzone dystrofie mięśniowe	ACTA1, ALG13, ALG13B3, B3GALNT2, B3GNT1, CHKB, COL12A1, COL6A1, COL6A2, COL6A3, DNM2, DPM1, DPM2, <u>FHL1</u> , FKRP, FKTN, GALNT2, GMPPB, GOLGA2, GTDC2, ISPD, ITGA7, LAMA2, LARGE, <u>LMNA</u> , POMGNT1, POMGNT2, POMK, POMKC, POMT1, POMT2, SEPN1, SPD, TCAP, TMEM5, RAPPC11, TRIP4
Dystrofie mięśniowe	ANO5, BVES, CAPN3, CAV3, DAG1, DES, DMD, DNAJB6, DPM3, DUX4, DYSF, EMD, <u>FHL1</u> , FKRP, FKTN, GAA, GMPPB, HNRNPD, ISPD, LIMS2, <u>LMNA</u> , MYOT, PLEC, POMGNT1, POMT1, POMT2, PTRF, SGCA, SGCB, SGCD, SGCG, SMCHD1, SYNE1, SYNE2, TCAP, TMEM43, TNPO3, TOR1AIP1, TRAPPC11, TRIM32, <u>TTN</u> , VCP
Miopatie metaboliczne	ABHD5, ACAD9, ACADVL, AGL, CPT2, ENO3, ETFA, ETFB, ETFDH, GAA, GBE1, GYG1, GYS1, LDHA, LPIN1, PFKM, PGAM2, PGK1, PGM1, PHKA1, PNPLA2, PNPLA8, PRKAG2, PYGM, RBCK1, SLC22A5, SLC25A20
Miopatie dystalne	DYSF, <u>TTN</u> , GNE, MYH7, MATR3, TIA1, MYOT, NEB, CAV3, LDB3, ANO5, DNM2, KLHL9, FLNC, VCP, ADSSL1
Inne miopatie	ACVR1, BAG3, CAV3, CLN3, CRYAB, DES, <u>FHL1</u> , FLNC, ISCU, KY, LAMP2, LDB3, MSTN, MYOT, PABPN1, PLEC, PYRODX1, RYR1, SEPN1, TRIM54, TRIM63, <u>TTN</u> , VCP, VMA21
Zespoły miotoniczne	DMPK, CNPB, CLCN1, CAV3, HSPG2, ATP2A1
Choroby neuronu ruchowego	AARS, ALS2, ANG, ASAH1, ASCC1, ATP7A, ATXN2, BICD2, BSCL2, C9orf72, CHCHD10, CHMP2B, DCTN1, DNAJB2, DYNC1H1, ERBB3, EXOSC3, EXOSC8, FBXO38, FIG4, FUS, GARS, GLE1, HEXB, HNRNPA1, HSPB1, HSPB3, HSPB8, IGHMBP2 , MATR3, NEFH, OPTN, PFN1, PIP5K1C, PLEKHG5, PRPH, RBM7, REEP1, SETX, SIGMAR1, SLC52A2, SLC52A3, SLC5A7, SMN1 , SOD1, SPG11, SQSTM1, TARDBP, TRIP4, TRPV4, UBA1 , UBQLN2, VAPB, VCP, VRK1, VRK1
Wrodzone zespoły miasteniczne	AGRN, ALG14, ALG2, CHAT, CHRNA1, CHRNB1, CHRND, CHRNE, CHRNG, COL13A1, COLQ, DOK7, DPAGT1, GFPT1, GMPPB, LAMB2, LRP4, MUSK, MYO9A, PLEC, PREPL, RAPSN, SCN4A, SLC5A7, SNAP25, SYT2



zaburzenia dotyczące
neuronów ruchowych CUN
(rdzeniowy zanik mięśni – różne typy)

zaburzenia dotyczące
nerwów obwodowych
(neuropatie np. zespół Charcot-Marie-Tooth)

zaburzenia dotyczące
połączeń nerwowo-mięśniowych
(zespoły miasteniczne)

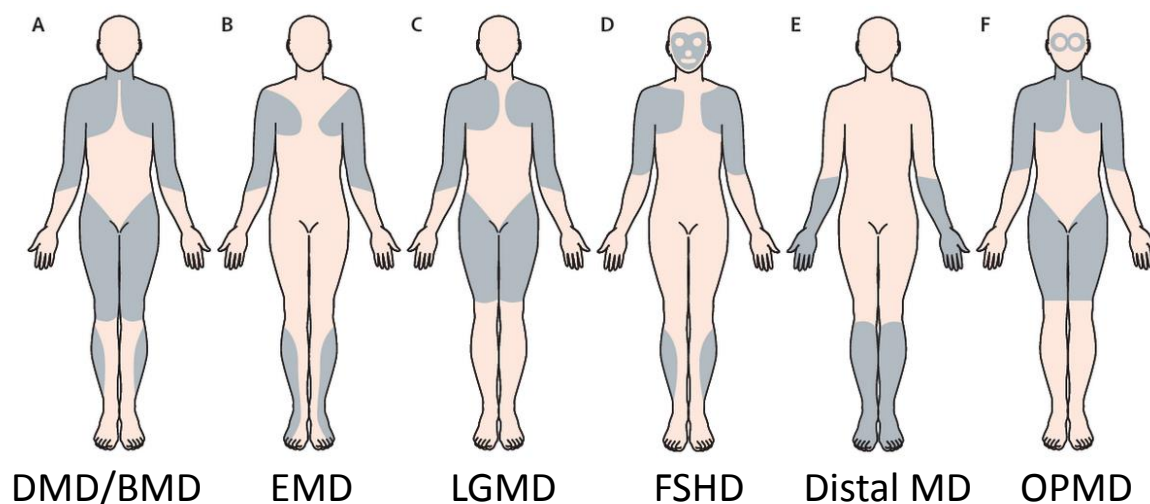
zaburzenia dotyczące
włókna mięśniowego
(miopatie, dystrofie, miotonie)

Zaburzenia dotyczące włókna mięśniowego

- dystrofie mięśniowe - degeneracja i utrata miofibryli – charakterystyczny wynik badania hist-pat.; często przebiegające z podwyższeniem poziomu CK;
- miopatie wrodzone - problemy z utrzymaniem skurczu mięśnia wynikające z zaburzeń struktury miofibryli lub nieprawidłowej akumulacji białka z cytoplazmie komórki mięśniowej;
- dystrofie miotoniczne / miotonie - opóźnienie relaksacji włókien mięśniowych; sztywność
- miopatie metaboliczne – przebiegające z zaburzeniami metabolicznymi (choroby spichrzeniowe glikogenu, zaburzenia metabolizmu lipidów)

Dystrofie mięśniowe

- postępujące osłabienie mięśnia, degeneracja, zastępowanie komórek mięśniowych tkanką łączną i tłuszczową
- Dystrofinopatie, dystrofie obręczowo-kończynowe, dystrofia twarzowo-łopatkowo-ramieniowa, dystrofia mięśniowa Emery'ego-Dreifussa



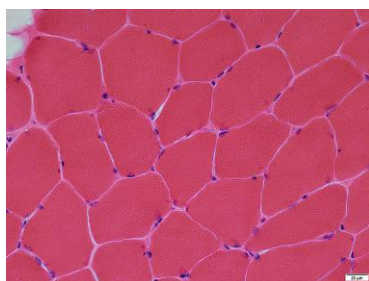
<https://www.semanticscholar.org>

Wrodzone dystrofie mięśniowe

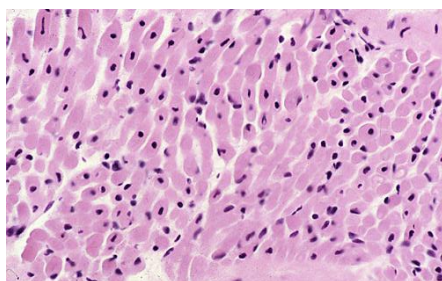
- heterogenna grupa chorób o dziedziczeniu autosomalnym recesywnym
- objawy już w trakcie życia płodowego lub przed ukończeniem 1 r.ż. – uogólniona wiotkość, osłabienie mięśni
- mutacje w genach kodujących elementy macierzy zewnątrzkomórkowej (kolagen, merozyna) lub białka zaangażowane w proces glikozylacji (Zespół Walkera-Warburg)

Miopatie wrodzone

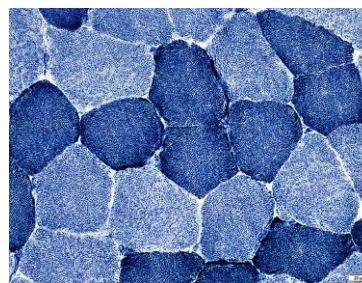
- Zaburzenia struktury miofibryli lub akumulacja białek we włóknie mięśniowym
- Choroby o wczesnym początku, o łagodnym przebiegu, hipoplazja układu mięśniowego z dysmorfizmem kostnym
- Podstawowe badanie różnicujące: morfologia komórek mięśniowych i ocena budowy komórek, położenia jądra komórkowego, obecności ciałek cytoplazmatycznych



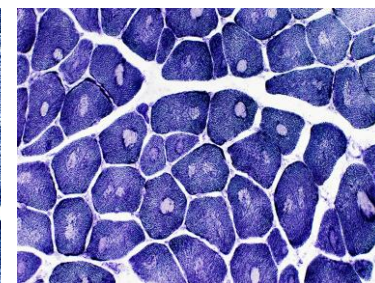
NORMAL HE



CENTRONUCLEAR HE



NORMAL NADH



CENTRAL CORE NADH

<https://neuromuscular.wustl.edu/pathol/>

Dystrofie miotoniczne

- Najczęściej występująca choroba nerwowo-mięśniowa (Orphanet: 1-5/10 000)
- Choroby związane z obecnością mutacji dynamicznej (DM1 – *DMPK*, DM2 – *ZNF9*)
- Antycypacja – nasilenie objawów w kolejnych pokoleniach
- Toksyczny RNA
- Choroba wieloukładowa, wymagająca opieki wielospecjalistycznej, w tym kardiologicznej



<https://neuromuscular.wustl.edu/>

Badania genetyczne w diagnostyce NMD

- **sekwencjonowanie następnej generacji**

panelowe, w tym sekwencjonowanie eksomu, wymagające analizy bioinformatycznej; szczególnie przydatne w przypadkach heterogennych klinicznie (i genetycznie)

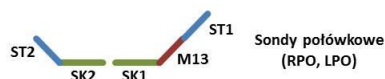
- **sekwencjonowanie metodą Sanger**

w przypadkach zdefiniowanych klinicznie, w badaniach członków rodzin

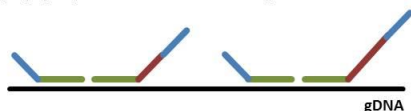
**Nie w każdym przypadku można
wykorzystać sekwencjonowanie**

Badania genetyczne w diagnostyce NMD

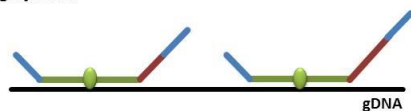
1. Sondy połówkowe MLPA



2. Hybrydizacja sond do zdentuowanego DNA



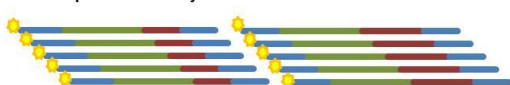
3. Ligacja sond



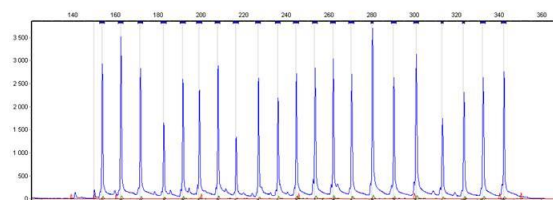
4. Denaturacja gDNA i zligowanych sond MLPA



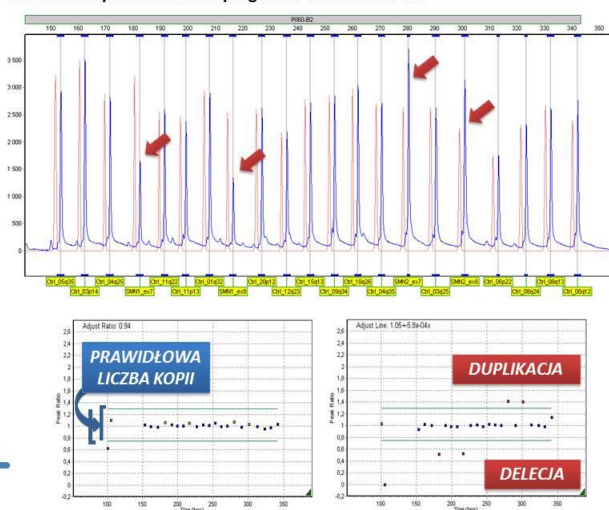
5. Multiplexowa reakcja PCR



6. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR w sekwenatorze i analiza wstępna



7. Analiza wyników MLPA w programie GeneMarker 1.6



Metoda MLPA

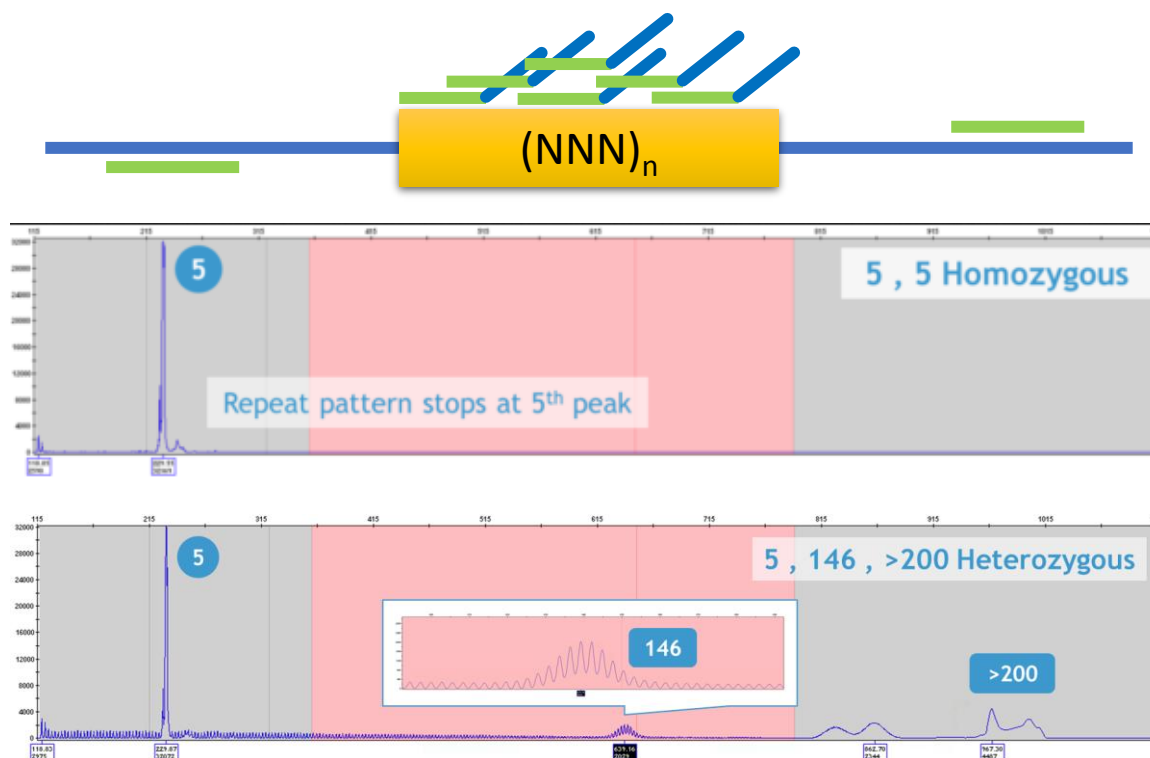
DMD: 65-80%delecja

SMN1: 95% delecja

PMP22: 80% duplikacja

Badania genetyczne w diagnostyce NMD

Metoda TP-PCR - odmiana PCR do identyfikacji mutacji dynamicznych



Materiały Asuragen

Dziękuję za uwagę.
e-mail: monika.gos@imid.med.pl



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl