

PARTICULARITĂȚI DE DIAGNOSTIC CLINICO-GENETIC ÎN PATOLOGIA NEUROMUSCULARĂ GENETICĂ

DIAGNOSIS PARTICULARITIES IN NEUROMUSCULAR GENETIC PATHOLOGY

Axinia Corcheș, C. Lupu

Clinica de Neurologie și Psihiatrie a Copilului
și Adolescentului, Timișoara

Rezumat

Prin definirea genomului uman s-a reușit o încadrare și clasificare etiologică a bolilor genetice umane. Noile descoperiri de boli neurodegenerative au fost încadrate în grupe precise de apartenență, ceea ce a ușurat mult clasamentele existente și descoperirile ulterioare. Studiul populațiilor mici sau izolate, a permis reperarea de multiple forme clinice, de noi entități de patologie neuromusculară. Autorii prezintă aspecte de diagnostic clinic, anatomopatologic și de identificare genetică a diferitelor forme de boli neuromusculare aparent asemănătoare la primul consult. Prezentarea se axează pe cazuistica noastră din perioada 1996-2006. Ne referim la: neuropatii periferice eredodegenerative identificate și diagnosticate de noi și confirmate genetic, boli neuromusculare diagnosticate clinic ca distrofii musculare progresive și la care analizele genetice au infirmat diagnosticul clinic sau au precizat forma de miopatie; boli eredodegenerative rare: mutații recesive sau agenezii musculare; encefalomiopatii mitocondriale; boli rare în izolate populaționale cu deformări ale membrilor.

Diagnosticile noastre depind de cunoștințele clinice, precizările genetice și de abordarea multilaterală în timp, știind că sunt mai multe cazuri care necesită încadrare mai precisă decât cazurile care sunt de la început diagnosticate

Cuvinte cheie: boli neuromusculare, particularități de diagnostic clinic și genetic

Abstract

By defining the human genome, a framing and an etiological classification of human genetic diseases have been succeeded. The new discoveries of neurodegenerative diseases were framed in specific affiliation groups, which made the existent classification and subsequent discoveries easier. Therefore, studying small or isolated populations allowed marking the clinical forms of new muscular pathological entities. The authors present aspects of clinic anatomopathological and of genetical identification diagnosis of different forms of neuromuscular diseases apparently alike during the first consultation. This presentation is based upon our cases during 1996-2006.

We are referring to: eredodegenerative peripheral neuropathies-identified and diagnosed by us and then genetically confirmed; clinical diagnosed neuromuscular diseases like: progressive muscular dystrophies to which genetically studies have infirmed the clinical diagnosis or have specified the form of myopathy; rare eredodegenerative diseases: recessive mutations or muscular agenesis; mitochondrial encephalomyopathies; rare diseases in population isolates with limb deformities. Our diagnosis depends on clinical knowledge, genetic explanation and multilateral approach in time, knowing that there are several cases which need more precise framing than cases which are put a diagnosis from the beginning.

Keywords: neuromuscular diseases, clinic and genetic particularities of diagnosis.

Realizarea secvenței draft (schiță) a genomului uman, cel mai complex genom analizat, reprezintă un moment de referință al cunoașterii umane, ca o performanță fără precedent în pătrunderea misterelor ființei umane. În iunie 2000, Francis Collins de la National Human Genom Research Institut (NHGRI) și J. Craig Venter de la Celera Genomic, au anunțat realizarea draftului secvenței genomului uman iar în data de 15 februarie 2001 au fost publicate schițele secvenței genomice și interpretările inițiale ale secvențelor asamblate, realizate de Human Genomic Project Sequencing Consortium. A fost estimat un număr de 32000 gene umane, cu un plus sau un minus de câteva mii de gene.

Stabilirea secvenței genomului uman permite identificarea secvențelor modificate care stau la baza etiogenezei eredopatologiilor.

Toate cercetările care au urmat acestui eveniment important în lumea mediclă sunt axate pe utilizarea tehnicilor geneticii moleculare în vederea elucidării unor diagnostice incerte prin metodele clasice cunoscute.

În domeniul patologiei neuromusculare, genetica moleculară a permis identificarea de noi entități clinice, încadrate în grupe precise de apartenență, ceea ce a ușurat mult clasamentele existente și descoperirile ulterioare.

În prezent criteriile de diagnostic clinic nu pot fi separate de criteriile de diagnostic genetic.

Sunt descrise multiple forme clinice superpozabile, cu puține șanse de a fi diagnosticate în afara studiilor de genetică moleculară.

În categoria:

A. DISTROFII MUSCULARE,

sunt descrise 6 entități clinico genetice, cu localizare precisă a defectului genic:

1. Duchenne/Becker, XR, xp21.2 DMD - Distrofină
2. Emery Dreifus, XR, xq28 EMD - Emerină

3. Emery Dreifus, AD, 1q21 LMNA – Lamina A/C

4. Facio-scapulo-humerală, AD, 4q35 - ?

5. Distrofia musculară de centură dominantă, cu 5 subgrupe:

- AD, 5q31-TTID Myotilina

- AD, 1q11-q21- LMNA, Lamina A/C

- AD, 3q25 – CAV3 – Caveolina-3

- AD, 6q23 - ?

- AD, 7q - ?

6. Distrofia musculară de centură recesivă, cu 10 subgrupe:

- AR, 15q151 – CAPN3, Calpaina – 3

- AR, 2p13 – DYSF, Dysferlina

- AR, 13q12 – SGCG, γ -sarcoglican

- AR, 17q12-q2133 – SGCA, α -sarcoglycan

- AR, 4q12 – SGCB, β -sarcoglican

- AR, 5q33 – SGCD, δ -sarcoglican

- AR, 17q12 – TCAP, teletonin

- AR, 9q31-q34 – TRIM32, E3-ubiquitine

- AR, 19q13.3 – FKRP, Fukutin

- AR, 2q31 – TTN, Titin

În categoria:

B. DISTROFII MUSCULARE

CONGENITALE:

sunt descrise 10 forme genetice, după cum urmează:

- DMC merozin deficientă, AR, 6q2 –

LAMA2, lamin alfa2

- DMC Fukuyama, AR, 9q31-q33 –

FCMD, Fukutin

- DMC cu deficiență de integrină, AR, 12q13 – ITGA, Integrin α 7

- Boală mușchi-ochi-creier, AR,

1p3 – POMGNT1, O-mannose β -1,2N-Acetylglucosaminil

- Sindrom Walker- Warburg, AR, 9q34

– POMT1, O-Manosiltransferază 1

- Sindrom spină bifidă, AR, 1p36 –

SEPNI, Selenoprotein N1

- DMC cu deficiență de merozină 1, AR, 1q42, ?

- DMP cu deficiență de merozină 2, AR, 19q1 – FKRP, Fukutin

- DMP cu retardare mintală severă și glicosilație anormală a distroglicanului,

AR, 22q12 – LARGE, Gglicosyltransferază

- Sindrom Ullrih, cu două forme, cu

localizare distinctă a defectului genic: - AR, 21q22 – COL6A2, Colagen tip VI subunit $\alpha 2$
- AR, 2q37 – COL6A3, Colagen tip VI subunit $\alpha 3$

În categoria:

C. MIOPATII CONGENITALE

sunt descrise 9 forme clinico-genetice în funcție de localizarea defectului genic:

1. Miopatia nemalinică cu 5 subtipuri, 2 AR ȘI 3 AD.
2. Miopatia actinică, AD, 1q42.1, ACTA1 (α -actin, scheletal)
3. Miopatia miotubulară, XR, Xq28, MTM1(miobutularin)
4. Miopatia centronucleară dominantă, AD, 19.p13.2, DNM2 (dinamin2).
5. Miopatia central core dominantă, AD, 19q13.1, RYR1 (rianodine receptor).
6. Miopatia central core recesivă, AR, 19q13.1, RYR1 (rianodine receptor).
7. Miopatia central core cu „rods”, AD, 19q31, RYR1 (rianodine receptor).
8. Miopatia multimimicore cu oftalmoplegie externă, AR, 1p36, SEPN1 (selenoprotein N1).
9. Miopatia cu corp hialin, AR, 3p22.2-p21.32, ?.

În categoria:

D. MIOPATII DISTALE sunt descrise 5 forme clinico- genetice:

1. Miopatia distală recesivă, AR, 2p12-14, DYSF(dysferlin)
2. Miopatia tibială distală, AD, 2q31, TTN(titin).
3. Miopatia ereditară/ Miopatia distală cu vacuole, AR, 9p1-q1, IBM2(GNE) (glucosamine(UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase G).
4. Miopatia distală autosomal dominantă, AD, 14q11.2, MYH7 (myosin)
5. Miopatia distală cu declanșare târzie, AD, 8p22-q11, ?
- AD, 12q13-q22, ?

În categoria:

E. ALTE MIOPATII:

literatura de specialitate descrie 12 forme

clinico-genetice cu denominare precisă a defectului genei în 7 forme, iar în alte 7 forme urmând a fi identificat locul genei defecte.

1. Miopatie dominantă autosomală cu slăbiciune musculară proximală și implicarea mușchilor respiratori (Edström), AD, 2q24-31, ?

2. Miopatie dominantă autosomală cu slăbiciune musculară proximală și implicarea precoce a mușchilor respiratorii, AD, 2q21, ? .

3. Miopatia Bethlem-AD, 21Q22.3, COL6A1-COL6A2 (collagen type VI submit $\alpha 1$ or $\alpha 2$)

-AD, 2q37, COL6A3(collagen type VI submit $\alpha 3$).

4. Distrofia musculară oculo-faringială, AD, 14q11.2-q13, PABP2(poly(A)binding protein2).

5. Epidermoliza bullosa simplex asociată cu distrofia musculară cu declanșare târzie, AR, 8q24-qter, PLEC1 (plectin).

6. Miopatie relaționată cu Desmin -AD, 11q22, CRYAB (aB-crystallin)
-AD, 2q35, DES (desmin)

7. Miopatie asociată Desmin cu corpuri Mallory, AD, 1p36, SEPN1 (selenoprotein N 1).

8. Miopatie miofibrilară cu cardiomiopatie ventriculară dreaptă, AD, 10q22, ? .

9. Miopatie cu contractură a încheieturilor, oftalmoplegie și vacuole, AD, 17p13, MYHC2A (myosin heavy chain IIa).

10. Miopatie cu depozitare de miosină, AD, 14q12, MYH7(myosin heavy chain).

11. Miopatie cu autofagie excesivă, XR, Xq28, ? .

12. HiperCKemie, AD, 3p25, CAV3, (caveolin-3)

În categoria:

F. Sindroame mionice

sunt descrise 6 forme cu specificitate genetică:

1. Distrofia mionică (Steinert), AD, 19q13, DMPK (myotonin-protein kinase).

2. Distrofia mionică de tip 2, AD, 3q21, ZNF9 (zinc finger protein 9).

3. Miotonia dominantă (Thomsen), AD,

4. Miotonia recesivă (Becker), AR,

5. „Rippling muscle disease” -AD, 1q41, ?

-AD, 3p25, CAV3(caveolin-3).

6. Sindromul Schwartz-Jampel, AR, 1p34-p36.1, HSPG2(perlecan).

7. Boala Brody, AR, 16p12, SERCA1 (sarcoplasmic reticulum Ca⁺⁺ ATPase).

În categoria:

G. CANALOPATII

Sunt descrise următoarele forme de miopatii:

a) Canalul de clor

1. Miotonia dominantă Thomsen, AD, 7q35, CLC-1(muscle chloride channel).

2. Miotonia recesivă Becker, AR, 7q35, CLC- 1(muscle chloride channel).

b) Canalul de sodiu

1. Paralizia periodică hipercalemică, AD, 17q23, SCN4A (sodium channel α -subunit).

2. Paralizia periodică hipercalemică de tip 2, AD, 17q23, SCN4A (sodium channel α -subunit).

3. Paramiotonia congenică, AD, 17q23, SCN4A(sodium channel α -subunit).

4. Miotonia agravată de potasiu, AD, 17q23, SCN4A(sodium channel α -subunit).

5. Sindromul QT lung (Sindromul Romano-Ward), AD, 3p21-p24, SCN5(cardiac sodium channel α - subunit)

c) Canalul de calciu

1. Paralizia hipocalemică de tip 1, AD, 1q31-q32, CACA1S (dihydropyridine receptor).

2. Ataxia cerebeloasă -paroxizmală ereditară, AD, 19p13, CACNA1A.

3. Migrenă hemilpepică familială, AD, 19p13, CACNA1A (calcium channel)

4. Ataxia episodică de tip 2.

d) Canalul de potasiu

1. Paralizia periodică hipokalemică, tipul 3, AD, 11q13, KCNE3 (minimum potassium ion channel-related peptide 2).

2. Paralizia periodică, cardiodisritmică sensibilă la potasiu (Sindromul Andersen), AD, 17q23, KIR2.1 (canal de potasiu rectificator J2).

3. Sindromul QT lung, (Sindromul Romano-Ward), AD, 7q35-36, KCNH2 (potassium channel).

3. Sindromul QT lung (Romano-Ward), AD, 11p15.5, KCNQ1 (cardiac potassium

channel).

4. Sindromul QT lung, (Sindromul cardioauditiv Jervell și Lange-Nielsen), AR, 11p15.5, KCNQ1 (cardiac potassium channel).

5. Sindromul QT lung, (Sindromul Romano – Ward, AD, 21q22, KCNE1 (potassium channel).

6. Sindromul QT lung (Sindromul cardioauditiv Jervell și Lange Nielsen), AR, 21q22, KCNE1 (potassium channel).

7. Ataxia episodică/miokimia, AD, 12p, KCNA1 (voltage gated K⁺channel).

H. Hipertemia malignă reprezintă o categorie aparte, fiind descrise 6 forme autosomal dominante cu localizare diferită a defectului genetic.

AD	9q13.1	MHS1	RYR1
AD	17q11.2-q24	MHS2	?
AD		MHS3	?
AD		MHS4	?
AD		MHS5	CACA1S(canalul de calciu=receptor de dihidropiridină)
AD		MHS6	?

Pornind de la aceste clasificări clinico-genetice, ne-am propus a exemplifica pe cazistica noastră din perioada 1996-2006, aspecte de diagnostic clinic, electrofiziologic, histochimic și de identificare a defectului genetic, subliniind importanța diagnosticului genetic în forme atipice de patologie neuromusculară.

În prima categoriei pe care dorim să o prezentăm, am încadrat neuropatiile periferice erododegenerative, identificate, diagnosticate de noi și confirmate genetic, ne referim la trei forme noi de neuropatii senzorio-motorii specifice populațiilor de rromi:

1. Neuropatia senzoriomotorie Lom;

2. Neuropatia senzoriomotorie Russe

3. Neuropatia cu cataractă congenitală și dismorfism facial

Aceste boli au fost descrise pentru prima dată în România și constituie entități chimice recunoscute. Ele se încadrează în categoria neuropatiilor de tip Charcot Marie



Tooth, diferențele chimico-paraclinice fiind legate de vârsta de debut și severitatea simptomatologiei. Elementul definitoriu pentru diagnostic este însă analiza genetică moleculară care evidențiază o altă localizare a defectului genetic, (respectiv pe cromozomii 8q24, 10q22 și 18q) diferită de a celorlalte 25 de forme de neuropatii periferice ereditare descrise până în prezent.

Din colecția noastră, prezint cazul N. I. de 7 ani, diagnosticat de noi cu Neuropatie cu cataractă congenitală și dismorfism facial și familia acestuia, încheind cu o imagine ce ilustrează echipa de lucru formată din trei voluntari și familia de romi unde am identificat două cazuri cu simptomatologie identică de neuropatie cu cataractă congenitală și dismorfism facial.

În prezent studiul nostru continuă cu identificarea de noi entități clinico-genetice în izolate populaționale.

Multitudinea formelor clinice de boală neuromusculară care se suprapun ca

simptomatologie evocând fenotip similar impun investigații genetice, analiza genetică moleculară fiind singura în măsura de a preciza forma clinică de boală.

Spre exemplificare, prezentăm din cazuistica noastră, copilul I.A de sex masculin, în vârstă de cinci ani. La primul consult în clinică, simptomatologia neurologică și investigațiile paraclinice de care am dispus la timpul respectiv, nu ne-au permis un diagnostic complex și a necesitat investigații genetice în Italia.



Copilul A.I., născut la 01.11.1999;
Provine din părinți non-consanguini;
Naștere prin cezariană;

Fototerapie pentru hiperbilirubinemie neonatală;

A avut dezvoltare motorie normală:

- a ținut capul la 3 luni
- a stat în șezut la 7 luni
- primii pași la 13 luni

APP: gastroenterită la 2 ani pentru care a fost internat în spital unde s-au descoperit transaminaze crescute (de 10 ori valorile normale), cu bilirubinemie normală; a fost tratat pentru sindrom de citoliză hepatică;

În 2002 CPK era 1334 U/L.

În octombrie 2002 a avut un puseu febril prelungit pentru care a fost internat într-o clinică de pediatrie din Italia, (părinții aflându-se în acea perioadă în Italia). Investigațiile efectuate în această perioadă nu au evidențiat modificări cardiace sau oculare.

Biopsia musculară efectuată în ianuarie 2003 a evidențiat aspect de miopatie vacuolară nespecifică.

În perioada 2003- 2005 a fost internat în repetate rânduri în Clinicile de Neurologie din București și Timișoara, unde s-a încercat elucidarea formei clinice de miopatie, fenotipul nefiind caracteristic pentru o formă de distrofie musculară progresivă, respectiv Duchenne, Becker sau de centură.

În această etapă l-am trimis pentru analiză moleculară, în Italia, în iulie 2005.

La examinarea în Italia la vârsta de 5 ani este descris ca un copil inteligent, „care obosea repede și nu-i plăcea să meargă cu bicicleta”.

Nu prezenta slăbiciune musculară facială dar s-a considerat o posibilă ptoză palpebrală, ușoară cădere a umerilor și lordoză, semn Gowers absent, nu prezenta hipertrofia mușchilor gambei.

Testarea forței musculare a fost normală la nivelul membrelor; mușchii axiali au arătat o scădere ușoară a forței musculare, fără contracturi.

EMG, cu electrozi superficiali nu au detectat miotonie. CT muscular nu a evidențiat atrofie evidentă;

Glicosidaza α 1-4 în limfocite era de 0,021 μ M/mg prot/h (normal 0,200-0,500)

Analiza ADN-ului a arătat două mutații în gena GAA: IVS1(-13T>G) și 2104 C>T (pR702c).

Acest rezultat confirmă diagnosticul de **BOALĂ POMPE**, cunoscută și ca boala depozitării de colagen de tip II, glicogenoză de tip II și deficiență de acid maltază.

Tulburarea depozitării lizozomale (TDL) este rară.

Toți pacienții cu BOALA POMPE au moștenit deficiența în enzima acid alfa-glucosidază (GAA), care în lizozom transformă glicogenul în glucoză. Această deficiență a enzimei duce la acumularea de glicogen în lizozomii mușchilor cardiaci, respiratori și scheletali.

Boala este extrem de rară, cu o incidență globală estimată la 1:40.000 din totalul fenotipurilor.

BOALA POMPE are un spectru continuu de fenotipuri clinice.

Pacienții cu această formă, cu debut în primii ani de viață, prezintă tipic, hipotonie slăbiciune musculară, întârziere motorie și tulburări de deglutiție.

În forma clasică cu debut în copilărie, cardiomiopatia hipertrofică și cardiomegalia apar precoce, cu decompensări cardiorespiratorii în jurul vârstei de un an.

În formele cu debut tardiv, apar semne și simptome din copilăria mică până spre a șasea decadă de viață.

În această formă slăbiciunea musculară e variabilă, cu implicare mai mare a mușchilor scheletici ai trunchiului și proximali ai membrelor inferioare. Este afectată funcția respiratorie, cu crușarea funcției cardiace.

Inițial simptomele miopatie se reduc la:

- dificultate la ridicarea de pe scaun
- dificultate la urcatul scării
- dificultate la ridicarea din poziția ghemuit

În prezent nu se cunoaște tratament pentru BOALA POMPE.

Studii clinice cu acid alfa-glucosidază (rh GAA) uman recombinat, purificat din laptele iepurilor transgenici sau din celulele ovarelor hamsterilor (CHO), au oferit rezultate promoționale.

Pacienții cu BP au avut beneficii clinice cu tratament cu rh GAA:

- creșterea duratei de viață
- îmbunătățiri ale funcțiilor respiratorii

- creștere și dezvoltare motorie

În acest moment există un medicament MYOZYME, disponibil doar pentru centrele de cercetare.

GENZIME a anunțat în decembrie 2004 că AGENȚIA EUROPEANĂ DE MEDICINĂ a acceptat cererea de autorizare a comercializării medicamentului MYOZYME® (aglucoșidaza alfa), ca terapie de înlocuire de enzimă în BP.

Concluzii

Patologia neuromusculară ereditară este extrem de complexă și impune investigații performante pentru elucidarea unor forme de boală, cu simptomatologie similară, dar cu genotip caracteristic.

Analiza genetică moleculară a devenit o necesitate datorită multitudinilor de forme clinice care nu pot fi diagnosticate prin mijloacele comune de care dispunem.

Diagnosticul nostru depinde de cunoștințele clinice, precizările genetice și de abordarea multilaterală în timp, știind că sunt mai multe cazuri care necesită încadrare mai precisă decât cazurile de la început diagnosticate.

Bibliografie

1. **Corches A.**, 2004, Teza de doctorat: *Profilul clinico-genetic al neuropatiilor periferice in izolate populationale*;

2. **Bushby KMD.** *The limb-girdle muscular dystrophies multiple genes, multiple mechanisms* .Hum. Mol.Genet 1999; 8: 1875-82;

3. Gene table - Gene location. *Neuromuscular Disord* 2006; 16:64-78.

4. **Muntoni F.** *Journey into muscular dystrophies caused by abnormal glycosylation* Acta. Myol; 2004; 23 : 79-84.

5. **Muntoni F.; Voit T.**, *The congenital muscular dystrophies in 2004: a century of exciting progress* *Neuromuscular Disorder* 2004; 14: 635-49.

6. **Jungbluth H, Sewry CA, Muntoni F.** *What's new in neuromuscular disorder? The congenital myopathies.* *Eur J Peadiatr Neurol* 2003; 7: 23-30.

7. **Ionescu V V, Searby C, Ionescu R, Neuhaus IM Werner R.** *Mutation of the noncoding region of the Connexin 32 gene in X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth neuropathy.* *Neurology* 1996; 47: 541-4.

8. **Street VA, Golden AS, et al.** *Mapping of Charcot-Marie-Tooth diseases type 1C to chromosome 16p identifies a novel locus for demyelinating neuropathies.* *Am J Hum Genet* 2002; 70: 244-50.

9. **Dubng O, Tardieu S, Brocek N, et al.** *Clinical electrophysiological and molecular genetic characteristics of 93 patients with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease.* *Brain* 2001; 124: 1958-67.

10. **Dubowitz V,** *Muscle Disorders in childhood Second Edition*, 1995, W.B. Saunders Company Ltd.