

# Pletencové svalové dystrofie

doc. RNDr. Lenka Fajkusová, CSc., Mgr. Jana Zídková, Ph.D.

Centrum molekulární biologie a genové terapie, Fakultní nemocnice Brno

Pletencové svalové dystrofie (LGMD, Limb-Girdle Muscular Dystrophies) jsou klinicky a geneticky heterogenní skupinou onemocnění. Doposud bylo identifikováno 29 genů asociovaných s LGMD, které rozdělují LGMD do 29 subtypů. Asi 10 % LGMD má dominantní typ dědičnosti, 90 % LGMD recesivní typ dědičnosti. Jednotlivé subtypy LGMD nesdílejí společný patofyziologický mechanismus onemocnění, který by je odlišoval od jiných forem svalových dystrofií. Právě naopak LGMD jsou asociovány s geny, jejichž proteinové produkty mají různou funkci a buněčnou lokalizaci. Molekulárně genetická diagnostika LGMD je vzhledem k množství asociovaných genů poměrně komplikovaný proces, který je v současné době založen na technikách sekvenování nové generace (NGS, Next-Generation Sequencing) jak na úrovni panelu vybraných genů, tak na úrovni exomu.

**Klíčová slova:** neuromuskulární onemocnění, pletencové svalové dystrofie, LGMD, NGS.

## Limb-girdle muscular dystrophies

Limb-Girdle Muscular Dystrophies (LGMD) are a clinically and genetically heterogeneous group of diseases. To date, 29 genes associated with LGMD have been identified that divide LGMD into 29 subtypes. About 10 % of LGMD have a dominant type of inheritance, 90 % of LGMD have a recessive type of inheritance. The individual LGMD subtypes do not share a common pathophysiological mechanism of the disease that would distinguish them from other forms of muscular dystrophies. On the contrary, LGMD are associated with genes whose protein products have different functions and cellular localizations. Due to the number of associated genes, molecular genetic diagnosis of LGMD is a relatively complicated process, which is currently based on Next-Generation Sequencing (NGS) techniques both at the panel level of selected genes and at the whole exom level.

**Key words:** neuromuscular diseases, limb-girdle muscular dystrophies, LGMD, NGS.

## Pletencové svalové dystrofie – molekulární příčiny onemocnění

Neuromuskulární onemocnění (NMD, NeuroMuscular Disorders) je název pro velkou skupinu onemocnění narušujících funkci svalů, a to buď přímo v důsledku patologie kosterních svalů nebo nepřímo v důsledku patologie nervů nebo nervosvalových spojení. Dle Gene Table of Neuromuscular Disorders ([www.muscle-genetable.fr](http://www.muscle-genetable.fr)) bylo k 1. 9. 2020 známo 1 042 typů geneticky podmíněných neuromuskulárních onemocnění a 587 asociovaných genů. NMD jsou onemocnění, která se vyznačují velkou klinickou a genetickou heterogenitou, kdy patologické sekvenční varianty v jednom genu

jsou spojeny s různými fenotypovými projevy a naopak velmi podobný fenotypový projev je způsoben patogenními sekvenčními variantami v různých genech. Příkladem klinické heterogenity NMD může být gen *LMNA* kódující protein lamin A/C. Patogenní varianty v genu *LMNA* mohou způsobovat dle OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) 11 různých typů onemocnění (dilatační kardiomyopatii, Charcot-Marie-Toothovu neuropatii, Emery-Dreifusovu svalovou dystrofii, Hutchinson-Gilfordovu lipodystrofii, kongenitální svalovou dystrofii a další). Kromě toho se v případě genu *LMNA* uplatňují i různé typy dědičnosti (dominantní vs. recesivní) u různých typů onemocnění ale dokonce i u stejných onemocnění.

Příkladem genetické heterogenity NMD jsou **pletencové svalové dystrofie (Limb-Girdle Muscular Dystrophies, LGMD)**. Doposud bylo identifikováno 29 genů asociovaných s LGMD, které rozdělují LGMD do 29 subtypů (Straub et al., 2018). Odhadovaná prevalence všech subtypů LGMD je 4–7 na 100 000, v závislosti na geografickém a etnickém původu. LGMD jsou čtvrtou nejčastější svalovou dystrofií (po dystrofinopatii, myotonické dystrofií a facioskapulohumerální svalovou dystrofií). Asi 10 % LGMD má dominantní typ dědičnosti, 90 % LGMD recesivní typ dědičnosti (Angelini et al., 2018). Dle publikace (Straub et al., 2018) jsou LGMD definovány jako geneticky podmíněná dědičná onemocnění,

primárně postihující kosterní svaly, vedoucí k progresivní převážně proximální svalové slabosti způsobené ztrátou svalových vláken. Aby mohlo být onemocnění považováno za určitý subtyp LGMD, musí být asociovaný gen popsán nejméně ve dvou nepříbuzných rodinách s postiženými jedinci, kteří v průběhu života dosáhli samostatné chůze, mají zvýšenou hodnotu sérové kreatinkinázy, degenerativní změny svalů na magnetické rezonanci a dystrofické změny svalů ve svalové biopsii.

Původní klasifikace rozdělovala LGMD podle typu dědičnosti na dvě podskupiny – dominantní LGMD 1 a recesivní LGMD 2. Jednotlivé subtypy pak byly označeny písmeny a řazeny abecedně podle pořadí objevení asociovaného genu. S rozvojem technik sekvenování nové generace (NGS, Next-Generation Sequencing) byly postupně objeveny další geny a poté co byl popsán subtyp LGMD 2Z, bylo zřejmé, že bude nutno řešit problém, jak postupovat v případě identifikace dalších genů spojených s LGMD. Podle nové nomenklatury jsou pletencové svalové dystrofie opět rozděleny na podskupiny s dominantní a recesivní dědičností, označené jako LGMD D a LGMD R, následuje číselné označení podle pořadí objevení asociovaného genu (Straub et al., 2018). Např. recesivní pletencová svalová dystrofie způsobená patogenními variantami v genu *CAPN3* nesla označení LGMD 2A, podle nové nomenklatury je označena jako LGMD R1.

Jednotlivé subtypy LGMD jsou variabilní ve věku nástupu onemocnění, rychlosti progresu a celkové závažnosti onemocnění, variabilita klinických projevů se ale vyskytuje i v rámci jednoho subtypu. Patogenní varianty v řadě genů, které byly přiřazeny k určitému subtypu LGMD, mohou také způsobovat alelická onemocnění spojená s jinými typy NMD, než jsou LGMD (Thompson et Straub, 2016). Příkladem jsou patogenní varianty v genech spojených s tzv. alfa-dystroglykanopatiemi, které kromě LGMD mohou způsobovat i velmi závažné formy kongenitálních svalových dystrofií (Endo, 2015).

Jednotlivé subtypy LGMD nesdílejí společný patofyziologický mechanismus onemocnění, který by je odlišoval od jiných forem svalových dystrofií. Právě naopak LGMD jsou asociovány s geny, jejichž proteinové produk-

ty mají různou funkci a buněčnou lokalizaci (Nigro et Savarese, 2014; Murphy et Straub, 2015; Liewluck et Milone, 2018). Na základě funkce nebo lokalizace kódovaného proteinu můžeme LGMD rozdělit do několika podskupin. Nejčastější podskupinou LGMD je **kalpainopatie**, tj. onemocnění spojené s genem kódujícím kalpain-3 (*CAPN3*) (Richard et al., 1995; Chu et Moran, 2018). Kalpainopatie se vyznačuje recesivní formou dědičnosti (LGMD R1), ale jsou popisovány i dominantní formy (LGMD D4) (Vissing et al., 2016). Kalpain-3 je svalově specifická vápníkem aktivovaná neutrální proteáza, která hraje jednu z hlavních rolí v remodelaci sarkomery.

Co se týká počtu asociovaných genů, tak největší podskupinu LGMD tvoří **alfa-dystroglykanopatie**, pro kterou je charakteristická aberantní glykosylace alfa-dystroglykanu, tj. proteinu, který propojuje proteinový komplex asociovaný s dystrofinem s extracelulární matrix a hraje tak důležitou roli při udržování integrity sarkolemy. Alfa-dystroglykanopatie mohou být způsobeny patogenními sekvenčními variantami v genu kódujícím alfa-dystroglykan (*DAG1*) nebo v genech kódujících proteiny zapojené do glykosylace alfa-dystroglykanu. Celkem alfa-dystroglykanopatie zahrnují 11 genů spojených s 11 subtypy LGMD R: *FKRP* (LGMD R9), *POMT1* (LGMD R11), *FKTN* (LGMD R13), *POMT2* (LGMD R14), *POMGNT1* (LGMD R15), *DAG1* (LGMD R16), *TRAPPC11* (LGMD R18), *GMPPB* (LGMD R19), *CRPPA* (LGMD R20), *POGLUT1* (LGMD R21), *POMGNT2* (LGMD R24). Patogenní varianty v uvedených genech zahrnují široké spektrum klinických projevů od kongenitálních forem svalových dystrofií spojených s anomáliemi očí a mozku (Fukuyama congenital muscular dystrophy, Muscle-Eye-Brain disease, Walker-Warburg Syndrome) po mírnější LGMD (Endo, 2015). Navíc další geny jsou asociovány s alfa-dystroglykanopatiemi, ale nejsou spojeny s fenotypem LGMD (Liewluck et Milone, 2018).

**Sarkoglykanopatie** tvoří další podskupinu LGMD. Sarkoglykany jsou součástí proteinového komplexu asociovaného s dystrofinem a podílí se tak, stejně jako předchozí skupina proteinů, na udržování integrity sarkolemy. Patogenní varianty v genech kódujících gama-sarkoglykan (*SGCG*), alfa-sarkoglykan (*SGCA*), beta-sarkoglykan (*SGCB*) a delta-sarko-

glykan (*SGCD*) způsobují LGMD R5, LGMD R3, LGMD R4 a LGMD R6 (Straub et al., 2018).

Dalšími podskupinami **LGMD jsou LGMD spojené s opravou buněčných membrán, proteiny jaderné obálky, proteiny Z-disku a proteiny extracelulární matrix** (Liewluck et Milone, 2018; Straub et al., 2018). Svalové dystrofie spojené s opravou buněčných membrán zahrnují dysferlinopatie a anoktaminopatie-5. Narušení integrity sarkolemy je běžným patofyziologickým mechanismem sdíleným několika typy svalových dystrofií, ale defektní oprava membrán se vyskytuje jen u několika málo svalových dystrofií. Mezi tyto svalové dystrofie patří již zmiňovaná dysferlinopatie a anoktaminopatie-5, které vznikají v důsledku mutací v genech kódujících dysferlin (*DYSF*) a anoktamin-5 (*ANO5*). Fenotypové projevy těchto onemocnění zahrnují LGMD (LGMD R2 resp. LGMD R12), ale i svalové dystrofie s primárním postižením distálních svalů.

Nejčastěji se jako příklad spojení svalové dystrofie a jaderné obálky uvádí protein lamin A/C (*LMNA*) a emerin (*EMD*), fenotypové projevy asociované s mutacemi v těchto genech nejsou ale v současné době zařazovány do kategorie LGMD. LGMD fenotyp je spojen pouze s jedním proteinem jaderné obálky a to transportinem-3 (*TNPO3*, LGMD D2), který zprostředkovává transport cílových proteinů do jádra.

Mutace v genech kódujících strukturní proteiny Z-disku nebo zabezpečující funkci Z-disku (struktura ohraničují sarkomeru a ukotvují tenká aktinová filamenta) způsobují především myofibrilární myopatie, pro které jsou typické ultrastrukturálních nálezy ve svalové biopsii. Mutace v některých genech spojených s myofibrilární myopatií mohou ale způsobovat i LGMD bez ultrastrukturálních nálezu, mezi tyto geny patří *TTN* (titin, LGMD R10), *PLEC* (plectin, LGMD R17) a *TCAP* (titin-cap, LGMD R7).

Mezi proteiny extracelulární matrix spojené s LGMD patří kolagen 6 (*COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3*) a merosin (laminin alpha 2, *LAMA2*). Kolagenopatie způsobené mutacemi v genech, jejichž proteinové produkty vytváří kolagen 6, jsou dominantní i recesivní neuromuskulární onemocnění s širokým spektrem klinických projevů od kongenitálních svalových dystrofií až po mírnější formy s počátky

**Tab. 1.** Nomenklatura LGMD, asociované geny a proteinové produkty, počty patogenních variant dle HGMD

| Nová nomenklatura | Gen                          | Protein (název dle OMIM)   | Původní nomenklatura                       | Počet patogenních variant <sup>a</sup>                          |
|-------------------|------------------------------|--|--|---|
| LGMD R1           | CAPN3                        | Calpain 3  | LGMD 2A                                    | 471/431 <sup>b</sup>  |
| LGMD R2           | DYSF                         | Dysferlin  | LGMD 2B                                    | 521/198   |
| LGMD R3           | SGCA                         | Sarcoglycan, alpha   | LGMD 2D                                    | 122/105   |
| LGMD R4           | SGCB                         | Sarcoglycan, beta  | LGMD 2E                                    | 71/62   |
| LGMD R5           | SGCG                         | Sarcoglycan, gamma   | LGMD 2C                                    | 72/62   |
| LGMD R6           | SGCD                         | Sarcoglycan, delta   | LGMD 2F                                    | 26/19   |
| LGMD R7           | TCAP                         | Titin-CAP  | LGMD 2G                                    | 24/13   |
| LGMD R8           | TRIM32                       | Tripartite motif-containing protein 32   | LGMD 2H                                    | 18/14   |
| LGMD R9           | FKRP                         | Fukutin-related protein  | LGMD 2I                                    | 139/65  |
| LGMD R10          | TTN                          | Titin  | LGMD 2J                                    | 159/2   |
| LGMD R11          | POMT1                        | O-mannosyltransferase 1  | LGMD 2K                                    | 103/17  |
| LGMD R12          | ANO5                         | Anoctamin 5  | LGMD 2L                                    | 141/77  |
| LGMD R13          | FKTN                         | Fukutin  | LGMD 2M                                    | 52/11   |
| LGMD R14          | POMT2                        | O-mannosyltransferase 2  | LGMD 2N                                    | 76/23   |
| LGMD R15          | POMGNT1                      | O-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase                                       | LGMD 2O                                    | 90/2  |
| LGMD R16          | DAG1                         | Dystrophin-associated glycoprotein 1   | LGMD 2P                                    | 8/1   |
| LGMD R17          | PLEC                         | Plectin  | LGMD 2Q                                    | 99/4  |
| LGMD R18          | TRAPPC11                     | Trafficking protein particle complex, subunit 11   | LGMD 2S                                    | 16/7  |
| LGMD R19          | GMPPB                        | GDP-mannose pyrophosphorylase B  | LGMD 2T                                    | 55/31   |
| LGMD R20          | CRPPA                        | Isoprenoid synthase domain-containing protein  | LGMD 2U                                    | 51/10   |
| LGMD R21          | POGLUT1                      | O-glucosyltransferase 1  | LGMD 2Z                                    | 34/9  |
| LGMD R22          | COL6A1,<br>COL6A2,<br>COL6A3 | Collagen, type VI, alpha-1;<br>Collagen, type VI, alpha-2;<br>Collagen, type VI, alpha-3 | Bethlem myopathy recessive                 | 135/1 <sup>b</sup> ; 185/7 <sup>b</sup> ;<br>131/4 <sup>b</sup> |
| LGMD R23          | LAMA2                        | Laminin, alpha-2   | Laminin alpha-2-related muscular dystrophy | 381/19  |
| LGMD R24          | POMGNT2                      | O-mannose beta-1,4-N-Acetylglucosaminyltransferase 2                                     | POMGNT2-related muscular dystrophy         | 8/4   |
| LGMD D1           | DNAJB6                       | DNAJ/HSP40 homolog, subfamily B, member 6  | LGMD 1D                                    | 19/7  |
| LGMD D2           | TNPO3                        | Transportin 3  | LGMD 1F                                    | 4/4   |
| LGMD D3           | HNRNPDL                      | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein d-like   | LGMD 1G                                    | 2/2   |
| LGMD D4           | CAPN3                        | Calpain 3  | LGMD 1I                                    | 471/431 <sup>b</sup>  |
| LGMD D5           | COL6A1,<br>COL6A2,<br>COL6A3 | Collagen, type VI, alpha-1;<br>Collagen, type VI, alpha-2;<br>Collagen, type VI, alpha-3 | Bethlem myopathy dominant                  | 135/1 <sup>b</sup> ; 185/7 <sup>b</sup> ;<br>131/4 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup> Celkový počet patogenních variant v daném genu uvedený v databázi HGMD/počet patogenních variant vedených v databázi HGMD přímo ve spojitosti s LGMD

<sup>b</sup> V databázi HGMD nejsou rozlišeny patogenní varianty spojené s recesivní a dominantní dědičností

příznaků v dospělosti. Fenotypy LGMD jsou spíše vzácností a jsou značeny jako LGMD D5 nebo LGMD R22. Kolageny 6 vytváří síť kolagenových mikrofibril, která je nutná pro integritu a soudržnost svalové tkáně a pro signální funkce (Jokela et al., 2019). Mutace v genu *LAMA2* podobně jako je tomu u mnoha výše uvedených genů, mohou způsobovat spektrum klinických příznaků od kongenitálních svalových dystrofií s úplným nebo částečným deficitem merosinu po fenotyp LGMD (LGMD

R23). Merosin se váže k alfa-dystroglykanu a propojuje tak extracelulární matrix s proteinovým komplexem asociovaným s dystrofínem.

Dalšími subtypy jsou LGMD D1 asociovaná s genem *DNAJB6*, LGMD D3 asociovaná s genem *HNRNPDL* a LGMD R8 asociovaná s genem *TRIM32*. Protein *DNAJB6* působí jako molekulární chaperon (potlačuje agregaci proteinů náchylných k agregaci). Protein *HNRNPDL* je regulátorem transkripce. Protein

*TRIM32* je ubikvitin ligáza působící v ubikvitin-proteazomovém systému, který je odpovědný za degradaci proteinů.

## Pletencové svalové dystrofie – molekulární genetická diagnostika

U genů spojených s LGMD byly popsány různé typy patogenních sekvenčních variant – substituce vedoucí ke změně kódované aminokyseliny (missense mutace), vzniku předčasného terminačního kodonu (nonsense mutace), změně sestřihu mRNA; delece/duplikace/inzerce vyskytující se na úrovni několika nukleotidů nebo celých exonů zachovávající (in-frame) nebo rušící (frame-shift) čtecí rámec translace; delece/duplikace na úrovni celých genů. Obecně je ale možné konstatovat, že převažují patogenní sekvenční varianty malého rozsahu. Tabulka 1 udává celkové počty jednotlivých patogenních variant v genech spojených s LGMD, které jsou uvedeny v databázi HGMD (Human Gene Mutation Database) a taky počty patogenních sekvenčních variant vedených v databázi přímo ve spojení s fenotypem LGMD.

Molekulární genetická diagnostika LGMD je vzhledem k množství asociovaných genů poměrně komplikovaný proces, který je v současné době založen na technikách NGS. Tento metodický přístup se v diagnostické praxi skládá z několika dílčích kroků: (1) příprava sekvenační knihovny, (2) masivní paralelní sekvenace, (3) bioinformatické zpracování dat, (4) interpretace identifikovaných sekvenčních variant. Cílovými úseky DNA pro přípravu sekvenační knihovny bývá nejčastěji soubor genů nebo celý exom. Soubor genů obsahující exony a přilehlé intronové oblasti, většinou označovány jako panel genů, může být různě velký od několika genů až po stovky genů a laboratoř si často navrhuje vlastní panel genů, který průběžně aktualizuje. Základem bioinformatického zpracování dat je mapování všech sekvenačních čtení na referenční sekvenci (tzv. alignment). V dalším kroku je pak potřeba nalézt rozdíly mezi jednotlivými sekvenačními čteními mapovanými na referenční sekvenci a touto referenční sekvencí, tzn. detekovat sekvenční varianty. Výsledkem NGS je identifikace velkého množství sekvenčních variant, které je třeba vyhodnotit

z pohledu jejich závažnosti, tj. patogenity. V současné době většina laboratoří vychází při interpretaci sekvenčních variant z doporučení vydaných American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (Richards et al., 2015). Toto ACMG doporučení rozděluje sekvenční varianty do pěti kategorií – patogenní, pravděpodobně patogenní, nejasného významu, pravděpodobně benigní a benigní. Pro popis identifikovaných sekvenčních variant existují standardy vydané Human Genome Variation Society (<http://varnomen.hgvs.org>). Detekované sekvenční varianty všech kategorií jsou shromažďovány v různých databázích, např. v Genome Aggregation Database (<https://gnomad.broadinstitute.org>), ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>); Leiden Open Variation Database (<https://www.lovd.nl>), Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>), se kterými je nutno při interpretaci pracovat stejně jako s publikacemi, na které se uvedené databáze odkazují. Bioinformatická analýza může být použita i pro identifikaci rozsáhlejších delecí a duplikací na základě rozdílů v počtu sekvenčních čtení daného fragmentu DNA. Identifikované patogenní varianty jsou pak většinou ověřovány přímou sekvenční analýzou nebo v případě identifikace rozsáhlejších delecí/duplikací metodou MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification), pokud tato je pro daný gen k dispozici.

U pacienta s podezřením na pletencovou svalovou dystrofii genetické testování zahrnuje nejen geny spojené přímo s LGMD, ale všechny další geny asociované se svalovými dystrofiemi a myopatiemi, protože

klinické projevy těchto onemocnění se mohou do značné míry překrývat (tzv. fenotypy LGMD-like). V případě negativního výsledku po provedení NGS může být po zhodnocení fenotypových projevů pacienta doporučeno i genetické testování facioskapulohumerální svalové dystrofie typu 1 (FSHD1), která může vykazovat fenotypové překryvy s kalpainopatií. FSHD1 je onemocnění s autosomálně dominantní dědičností, spojené s kontrakcí makrosatelitních repetice D4Z4 v subtelomerní oblasti chromozomu 4q35. Molekulárně genetická diagnostika FSHD1 je založena na restričním štěpení DNA, rozdělení fragmentů DNA pulzní gelovou elektroforézou, přenesení rozdělené DNA z gelu na membránu (Southern blot), hybridizaci s radioaktivně značenými sondami a autoradiografii; výsledkem je identifikace velikosti fragmentu DNA nesoucího repetice D4Z4 na chromozomu 4q35. Molekulárně genetická diagnostika FSHD je poměrně složitá a navíc komplikována potřebou rozlišit alelické varianty 4qA a 4qB (FSHD1 je spojena pouze s alelou 4qA) a přítomností téměř identických repetice D4Z4 na chromozomu 10q (Lemmers et al., 2002). Pro molekulárně genetickou diagnostiku FSHD je zapotřebí dostatek kvalitní vysokomolekulární DNA.

Molekulárně genetická diagnostika pacientů s LGMD, u kterých nebyly identifikovány patogenní varianty pomocí NGS panelu genů nebo exomu, může eventuálně pokračovat NGS celého genomu případně RNA na úrovni vybraného souboru genů nebo celého transkriptomu. Tyto metodické přístupy se ale zatím v diagnostické praxi příliš nepoužívají,

což souvisí s většími finančními náklady ale hlavně s podstatně náročnější interpretací identifikovaných variant.

## Závěr

Termín „limb-girdle muscular dystrophy“ je používán v medicínské praxi od roku 1954 a sloužil k oddělení této klinické entity od běžnějších svalových dystrofií, jako je Duchennova svalová dystrofie, facioskapulohumerální svalová dystrofie a myotonická dystrofie (Walton et Nattrass, 1954). První gen spojený s LGMD – CAPN3 – byl popsán v roce 1995 (Richard et al., 1995). Do současné doby LGMD zahrnují 29 genů a dá se samozřejmě předpokládat, že díky moderním molekulárně genetickým přístupům budou detekovány další asociované geny. Identifikace nových genů spojených s určitým fenotypem a problematika genetických variant nejasného významu jsou dvě velké výzvy současné molekulárně genetické diagnostiky a to nejen v oblasti svalových dystrofií. Metodický přístup jejich řešení je primárně založen na technikách NGS, v dalších krocích následuje interpretace variant, která by měla u nových genů a variant nejasného významu zařadit i analýzy na úrovni *in vitro* a *in vivo*, což ale není součástí běžné diagnostické praxe. Dá se předpokládat, že rozvoj tzv. translační medicíny, která je založena na přenosu výsledků základního výzkumu do klinického výzkumu a do klinické praxe, přispěje k objasnění patofyziologického působení variant nejasného významu a jejich reklasifikaci na patogenní, event. benigní.

## LITERATURA

1. Angelini C, Giarretta L, Marozzo R. An update on diagnostic options and considerations in limb-girdle dystrophies. *Expert Rev Neurother* 2018; 18(9): 693–703.
2. Endo T. Glycobiology of alpha-dystroglycan and muscular dystrophy. *J Biochem* 2015; 157(1): 1–12.
3. Chu ML, Moran E. The Limb-Girdle Muscular Dystrophies: Is Treatment on the Horizon? *Neurotherapeutics* 2018; 15(4): 849–862.
4. Jokela M, Lehtinen S, Palmio J, Saukkonen AM, Huovinen S, Vihola A, Udd B. A novel COL6A2 mutation causing late-onset limb-girdle muscular dystrophy. *J Neurol* 2019; 266(7): 1649–1654.
5. Lemmers RJ, de Kievit P, Sandkuijl L, Padberg GW, van Ommen GJ, Frants RR, van der Maarel SM. Facioscapulohumeral muscular dystrophy is uniquely associated with one of the two variants of the 4q subtelomere. *Nat Genet* 2002; 32(2): 235–236.
6. Liewluck T, Milone M. Untangling the complexity of limb-girdle

- muscular dystrophies. *Muscle Nerve* 2018; 58(2): 167–177.
7. Murphy AP, Straub V. The Classification, Natural History and Treatment of the Limb Girdle Muscular Dystrophies. *J Neuromuscul Dis* 2015; 2(s2): S7–S19.
8. Nigro V, Savarese M. Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update. *Acta Myol* 2014; 33(1): 1–12.
9. Richard I, Broux O, Allamand V, Fougereousse F, Chiannikoulchait N, Bourg N, Brenguier L, Devaud C, Pasturaud P, Roudaut C, Hillaire D, Passos-Bueno MR, Zal M, Tischfield JA, Fardeou M, Jackson CE, Cohen D, Beckmann JS. Mutations in the proteolytic enzyme calpain 3 cause limb-girdle muscular dystrophy type 2A. *Cell* 1995; 81(1): 27–40.
10. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL, Committee ALQA. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Ge-

- nomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17(5): 405–424.
11. Straub V, Murphy A, Udd B and L. w. s. group. 229<sup>th</sup> ENMC international workshop: Limb girdle muscular dystrophies – Nomenclature and reformed classification Naarden, the Netherlands, 17–19 March 2017. *Neuromuscul Disord* 2018; 28(8): 702–710.
12. Thompson R, Straub V. Limb-girdle muscular dystrophies – international collaborations for translational research. *Nat Rev Neurol* 2016; 12(5): 294–309.
13. Vissing J, Barresi R, Witting N, Van Ghelue M, Gammelgaard L, Bindoff LA, Straub V, Lochmuller H, Hudson J, Wahl CM, Arnardottir S, Dahlbom K, Jonsrud C, Duno M. A heterozygous 21-bp deletion in CAPN3 causes dominantly inherited limb girdle muscular dystrophy. *Brain* 2016; 139(Pt 8): 2154–2163.
14. Walton JN, Nattrass FJ. On the classification, natural history and treatment of the myopathies. *Brain* 1954; 77(2): 169–231.