

Molekulárno-genetické a biochemické aspekty niektorých dedičných neurologických ochorení

Ochorenia podmienené molekulárno-genetickými patológiami štrukturálnych konštituentov nervového systému – 2. časť

doc. MUDr. Ján Chandoga, CSc.¹, MUDr. Petra Jungová¹, RNDr. Katarína Kolejáková¹,
RNDr. Robert Petrovič, PhD.¹, MUDr. Juraj Štofko, MBA²

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky, Nemocnica Staré mesto, Bratislava

²I. neurologická klinika LF UK a UNB, Nemocnica Staré mesto, Bratislava

V práci prezentujeme vybrané neurogenetické ochorenia bazálnych ganglií, spinocerebelárne poruchy a ochorenia spojené s postihnutím motorických a periférnych neurónov. Opisujeme Huntingtonovu, Parkinsonovu, Friedreichovu chorobu, spinocerebelárne ataxie, amyotrofickú laterálnu sklerózu, spinálnu a bulbulárnu muskulárnu atrofiu, spinálnu muskulárnu atrofiu, hereditárne spastické paraplégie, Charcot-Marie-Tooth typ 1A chorobu a hereditárnu neuropatiu s náchylnosťou na tlakovú obrnu. Venujeme sa incidencii, molekulárno-genetickým príčinám ochorení, formám dedičnosti, patobiochemickým aspektom a stručne opisujeme klinický obraz. Uvedené chorobné jednotky sa spravidla manifestujú závažnou symptomatikou, ale klinické prejavy nemusia byť vždy typické, čo spôsobuje ťažkosti pri diagnostike ochorení. Pre určenie alebo potvrdenie diagnózy býva rozhodujúce práve molekulárno-genetické vyšetrenie. Získané informácie sú cenné aj pre genetickú konzultáciu a prenatálnu diagnostiku u postihnutých rodín. Cieľom práce je poskytnúť stručný prehľad zameraný hlavne na molekulárno-genetické príčiny uvedených ochorení.

Kľúčové slová: neurogenetika, ochorenia bazálnych ganglií, spinocerebelárne poruchy, ochorenia motorických neurónov, ochorenia periférneho nervového systému, molekulárno-genetická diagnostika, incidencia, dedičnosť, klinická manifestácia.

The molecular genetic and biochemical aspects of neurogenetic disorders

Diseases caused by molecular genetic pathology of structural constituents of nervous system – part 2

In this paper we present selected neurogenetic diseases affecting the basal ganglia, spinocerebellar disorders and diseases associated with disabilities of motor and peripheral neurons. We describe Huntington's, Parkinson's, Friedreich's disease, spinocerebellar ataxias, amyotrophic lateral sclerosis, spinal and bulbar muscular atrophy, spinal muscular atrophy, hereditary spastic paraplegias, Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and hereditary neuropathy with liability to pressure palsy. We are dedicated to the incidence, molecular genetic causes of diseases and forms of inheritance. We also briefly describe pathobiochemical aspect of diseases and the clinical symptoms. These disease entities are usually manifested with severe symptoms, but clinical presentations are not always typical that due difficulties in differential diagnosing of diseases. To determine or confirm the diagnosis the molecular genetic testing is very helpful. The acquired information is also valuable for genetic counselling and for prenatal diagnosis in affected families. The main goal of this work is provide a brief overview primarily focused on molecular genetic causes of these diseases.

Key words: neurogenetics, basal ganglia disease, spinocerebellar disorders, motor neuron diseases, diseases of the peripheral nervous system, molecular genetic diagnosis, incidence, inheritance, clinical manifestation.

Neurol. praxi 2014; 15(4): ???

Zoznam skratiek:

AD – autozómovo-dominantný typ dedičnosti
ALS – amyotrofická laterálna skleróza
AR – autozómovo-recesívny typ dedičnosti
AR – androgénový receptor
CBP – koaktivátor transkripčného faktora CREB
CMT – Choroba Charcot-Marie-Tooth
FRDA – Friedreichova choroba
HD – Huntingtonova choroba
HMSN – hereditárne motoricko-senzorické neuropatie

HNPP – hereditárna neuropatia s náchylnosťou na tlakovú obrnu
HSP – hereditárne spastické paraplégie
ISC – FeS proteín (metaloproteín)
mAAA – ATP dependentná proteáza
SBMA – spinálna a bulbulárna muskulárna atrofia (Kennedyho choroba)
SCA – spinocerebelárne ataxie
SMA – spinálna muskulárna atrofia
snRNP – malý nukleárny ribonukleoproteín
PMP – periférny myelínový proteín

Huntingtonova choroba (HD)

Je progresívne ochorenie s AD dedičnosťou a s prevalenciou približne 1: 10 000 obyvateľov. **HTT** gén kóduje proteín **huntingtín** s funkciou neurotrofného faktora. Podstatnou zmenou na úrovni DNA je zmoženie tripletových opakování (repetícií) CAG v **HTT** géne u postihnutých jedincov. Oproti zdravým, ktorí majú v **HTT** géne 9 až 35 CAG opakování, u pacientov je obvykle takýchto opakování viac ako 40 (Andrew et al., 1993). Aj pri tomto ochorení ide

o nestabilné dynamické mutácie, ktoré môžu expandovať pri prenose génu medzi generáciami. Čím je väčší rozsah expanzie, tým skorší býva nástup príznakov ochorenia. CAG kódón kóduje aminokyselinu glutamín a následkom nadmerného počtu opakovaní sa syntetizuje proteín s rôzne dlhými polyglutamínovými úsekmi. Huntingtín je pozmenený, dochádza k obmedzeniu transkripcie tohto neurotrofného faktora, dôsledkom čoho je odumieranie neurónov – apoptóza. Vek nástupu ochorenia je variabilný, pričom asi polovica postihnutých s expandovanou *HTT* alelou má nástup pred 40. rokom života. Zvyčajne sa ochorenie prejaví medzi 30. až 50. rokom života, s progresiou symptómov a končí sa letálne. Skorý nástup v detstve (juvenilná forma) je opísaný v rodinách v prípade, ak je alela zdedená po otcovi. Ochorenie sa vyvíja pri prenose na nasledujúce generácie v čoraz mladšom veku – anticipácia (ak je *HTT* alela prenášaná otcom). Jedinci, ktorí majú vo svojom genóme hraničný počet repetícií (okolo 36), nemajú príznaky ochorenia, sú však prenášači tzv. premutácie. Repetície u nich sú potenciálne schopné pri meióze expandovať nad počet 40 a viac, kedy už spôsobia ochorenie. Expanzia je častejšie pozorovaná pri mužskej gametogéze. Vo včasnom štádiu ochorenia môže byť u pacientov prítomný nepokoj, zmeny nálady, správania, podráždenosť, poruchy pamäti a pozornosti. Pre pokročilé štádium Huntingtonovej choroby sú typické najmä motorické poruchy s postihnutím extrapyramídového systému – choreoatetóza (nekoordinované trhavé a krúživé pohyby tela), dystónia, hypokinézia s rigiditou. Okrem toho je prítomné aj postihnutie psychických funkcií – rozvíja sa demencia so stratou najmä kognitívnych funkcií, v konečnom štádiu dochádza až k rozpadu osobnosti (Roos, 2010).

Parkinsonova choroba

Je neurodegeneratívne ochorenie s chronicky progredujúcim priebehom. Podľa doterajších štúdií postihuje asi 1 % populácie vo veku 65 rokov. Hlavným patologickým znakom je tvorba intercelulárnych inklúzií s obsahom alfa-synukleínu (súčasť Lewyho teliesok) a postupný úbytok dopaminergných neurónov v pars compacta substantia nigra. Parkinsonova choroba sa vyznačuje genetickou heterogenitou. Familiárne formy predstavujú 10–15 % výskytu. Väčšina prípadov sú sporadické (idiopatické formy), ktoré majú multifaktoriálny pôvod. Vek nástupu je zvyčajne nad 50 rokov. Predpokladá sa, že čím skorší je nástup ochorenia, tým vyšší je predpoklad

vplyvu genetických faktorov. Ku klinickým prejavom sporadickej formy patrí pokojový tremor, bradykinéza, rigidita. Fenotyp pri familiárnych formách je menej typický, ale charakteristický pre jednotlivé typy mutácií. Dosiaľ sa identifikovalo 16 *PARK* lokusov asociovaných s ochorením. Dedičnosť je AD alebo AR. *PARK1* lokus sa nachádza na chromozóme 4q21-q23. Gén *SNCA* kóduje proteín alfa-synukleín. Ochorenie sa vyznačuje AD dedičnosťou, s vekom nástupu okolo 46 rokov, s nízkou frekvenciou tremoru a rapidnou progresiou. Gén *PARK2* sa nachádza v pozícii 6q25.2-q27 (gén kóduje proteín Parkin s aktivitou ubiquitín proteín ligázy) a jeho mutácie sú častejšou príčinou parkinsonizmu s AR dedičnosťou a so skorým nástupom (juvenilná forma). V géne bolo identifikované široké spektrum bodových mutácií a delécií. Predpokladá sa, že 50% všetkých familiárnych prípadov so skorým nástupom (menej ako 45 rokov) a čast sporadických prípadov sú homozygoti alebo zložení heterozygoti pre *PARK2* mutácie. Fenotypovo sa vyznačuje výskytom fokálnej dystónie, hyperreflexiou a pomalým priebehom ochorenia.

Familiárne dystónie

Mnoho ochorení, aj geneticky podmienených má v širšom spektre príznakov dystóniu (SCA, Huntingtonova choroba, dedičné metabolické poruchy). Je potrebné vylúčiť sekundárne postihnutie (polievkové, demyelinizačné, pri infekcii etc.). Vrodené dystónie delíme na primárne, tzv. dystónia plus syndróm, heredodegeneratívne (prítomné sú aj iné neurologické príznaky) a paroxysmálne dyskynézy s dystóniou (intermitentný priebeh). Pri primárnych typoch je možné konečné diagnostické potvrdenie prostredníctvom molekulárno-genetickej analýzy a zväčša nie je prítomný iný špecifický diagnostický korelát okrem základného klinického obrazu. V literatúre je opísaných viac ako 20 lokusov asociovaných s dedičnými formami dystónie. Podľa typu dedičnosti možno ochorenia rozdeliť na: **AD dystónia** (DYT 1, DYT 5, DYT 6, DYT8, DYT 11, DYT 12, DYT 18), **AR dystónia** (DYT 5, DYT 16) a **X – viazané dystónia** (DYT3). Existujú ďalšie typy so známou formou dedičnosti a zatiaľ nemajú stanovený kauzálny gén, ale aj typy, pri ktorých je opísané postihnutie viacerých lokusov. Klinický obraz sa pri dystóniách vyznačuje poruchou svalového tonusu, ktorá spôsobuje abnormálne držanie alebo abnormálne krúživé pohyby, ktoré nie sú ovládané vôľou. Dystónie postihujú väčšinou len určité skupiny svalstva, menej často sú generalizované. Dystónia sa pri hereditárnych ochoreniach objavuje podľa typu v rôznom ve-

ku. **Dystónia 1. typu – DYT1 (tzv. torzná dystónia Oppenheim)** je dobre opísaná, ale relatívne zriedkavá dystónia. Ide o skoro začínajúcu dystóniu s prevalenciou 1: 100 000, s neúplnou penetranciou (30 %). Vysoká frekvencia je pozorovaná u Židov Aškenázi (Bressman et al., 1994). Mutovaným gén je **TOR1A** a jeho produktom je **torzín-A** – člen rodiny ATPáz. Je exprimovaný v mnohých oblastiach mozgu, predpokladá sa jeho úloha ako chaperónu, nachádza sa najmä v endoplazmatickom retikule a v obale jadra. Najfrekvencovanejšou zmenou (takmer v 100% nálezoch) je delécia tripletu GAG. Bežné príznaky pri ochorení sú: torticollis, krúživé pohyby axiálneho svalstva, kyfokolióza, grimasovanie a spazmy očných viečok. Títo pacienti majú aj ťažkosti s rozprávaním práve pre dystóniu svalstva tváre a často trpia aj tremorom. Prvé príznaky sa objavujú bežne už pred 20. rokom života.

Friedreichova choroba a spinocerebelárne ataxie (SCA)

Friedreichova choroba je neurogenetické AR ochorenie, začínajúce sa typicky v adolescentnom veku. Frekvencia výskytu v Európe je 1: 50 000 až 1: 2 500, čo predstavuje jednu z najčastejších geneticky podmienených ataxií. Z molekulárno-genetického hľadiska sa ochorenie klasicky zaraďuje medzi dynamické zmeny – poruchy tripletových opakovaní so zmnoženým GAA tripletom v prvom intróne **FXN** génu. V géne sú opísané aj bodové mutácie, ktoré v heterozygotnom stave môžu byť kombinované s expanziou GAA a spôsobujú ochorenie (Delatycki et al., 2000). **FXN** gén kóduje proteín **frataxín**, zložený z 210 aminokyselin, ktorý je prítomný v mitochondriálnej matrix a plní funkciu proteínu viažuceho Fe-ióny. Participuje v syntéze Fe-proteínov, Fe/S proteínových klastrov (ISC) a hému. Absencia proteínu je nezlučiteľná so životom pre vyššie organizmy a jeho deficiencia vedie k mnohopočetnému enzýmovému deficitu (komponenty I, II, III mitochondriálneho komplexu, akonitáza, xantín oxidáza, RpS3) a k oxidačnému stresu. V európskej populácii je až v 98% ochorenie vyvolané expanziou GAA v prvom intróne, čo spôsobuje inhibíciu transkripcie (mRNA dosahuje 10 až 30 % kontrolných hodnôt) a nízky obsah proteínu v bunkách. U zdravých jedincov počet opakovaní GAA nie je väčší ako 38, zatiaľ čo u pacientov s FRDA je to bežne 600 až 800 tripletov. Prenášačom ochorenia je každý stý Európan, s postihnutím iba homozygotov, u ktorých sú však v malom množstve prítomné aj funkčné molekuly frataxínu. V dôsledku genetickej zmeny dôjde

pravdepodobne k strate jeho funkcie. Zmeny postihujú najmä miechu, mozoček, menej kmeň, periférne nervy, neocortex. Začiatok ochorenia sa manifestuje pri klasickej forme už medzi 8. až 15. rokom života, pri neskorších formách okolo 20. roku života. Ochorenie sa začína zväčša ataxiou, vo väčšej miere sú postihnuté dolné končatiny, neskôr aj horné. Bývajú poruchy reči v zmysle dysartrie, niekedy aj prehĺtania, prítomný býva nystagmus. Svalová slabosť sa začína na dolných končatinách ako chabá paraparéza s hypotrofiou a so šlachovookosticovou hyporeflexiou až areflexiou. Na horných končatinách skôr dominuje neocerebelárny syndróm (ataxia, hypermetria). Je porucha propiocepce, t. j. hlbokéj citlivosti (polohocit, pohybocit, vibračná citlivosť). Prvým príznakom ochorenia môže byť kardiomyopatia, či už hypertrofická alebo dilatčná a skolióza. Bývajú deformity nohy (pes equinovarus, tzv. Friedreichova noha s vysokou klenbou a klavikóvymi prstami), kyfoskolióza, kardiomyopatia a pridružuje sa aj diabetes mellitus. Sú opisované aj atypické formy s neskorším začiatkom a so spastickou paraparézou, eventuálne s prítomnosťou choreatických pohybov.

Okrem Friedreichovej ataxie existuje veľké množstvo ďalších hereditárnych cerebelárnych ataxií (SCA1 až SCA36 – Orphanet) alebo iných familiárnych ochorení s ataxiou (epizodické ataxie, AD spastická ataxia, infantilná SCA, ataxia s okulomotorickou apraxiou, ataxia s deficitom vitamínu E, ataxia-teleangiectasia atď.). Spája ich základný klinický prejav, líšia sa prídavnou symptomatikou, lokalizáciou v genóme, typom dedičnosti, typom mutácie. Pri ich prešetrovaní je potrebná komplexná diferenciálna diagnostika na úrovni najvyšších špecializovaných pracovísk. Podrobný prehľad neurogenetických ochorení vrátane ataxií možno nájsť na adrese: <http://neuromuscular.wustl.edu/>. V článku Zumrová a kol., je diskutovaná problematika náročnosti diferenciálnej diagnostiky ataxií (Zumrová et al., 2007).

Amyotrofická laterálna skleróza – ALS

Ide o neurodegeneratívnu chorobu s postihnutím oboch motoneurónov (horného aj dolného, respektíve prvého a druhého), t. j. motorického kortiko-bulbárneho a kortiko-spinálneho traktu, ako aj motorických jadier mozgových nervov a predných rohov miechy. Iba približne 10% ochorení tvoria familiárne prípady, väčšinou sú formy sporadické. Vo familiárnych prípadoch je opisovaná AD, AR dedičnosť, vzácne aj X viazaná dedičnosť. Familiárne prípady majú skorší vek nástupu prvých príznakov (priemerne 46

rokov). Prevalencia všetkých foriem ochorení ALS sa odhaduje na 4 až 8 prípadov na 100 000 obyvateľov. Najfrekvencovanejšou familiárnou formou je ALS1 (približne 20%) s frekvencovanou mutáciou A4V v prvom exóne génu (Deng et al., 1993). Pri ALS1 je mutačne poškodený gén **SOD1** pre superoxidodismutázu – enzým zapojený do metabolismu voľných superoxidových radikálov. Mutácia v **SOD1** géne sa našla aj u 2 až 7% sporadických foriem. Ďalšími frekvencovanými formami sú ALS6 (mutácie v géne **FUS**) a ALS10 (mutácie v géne **TARDBP**). Ako príčina ALS sa opisuje aj mierna expanzia polyglutaminového traktu génu **ATXN2** (27 až 33 opakovaní), pri ktorom rozsiahlejšie expanzie podmieňujú spinocerebelárnu ataxiu 2. Ochorenie vzniká vo veku 45 – 60 rokov, častejšie u mužov. Prvé príznaky sa objavujú obyčajne na horných končatinách v oblasti ramenného pletenca, neskôr aj distálne na rukách. Dochádza k únave a úbytku svalstva, typické sú najmä hypotrofie drobných svalov rúk. Neskôr nastupujú fascikulácie svalov najmä na ramenách. Neurologickým vyšetrením sa zisťujú zvýšené šlachovookosticové reflexy a prítomné sú tzv. pyramídové deliberačné javy (napríklad pozitívny Babinského príznak) ako prejav poškodenia prvého (horného) motoneurónu. V prípade postihnutia aj bulbárnych nervov dochádza k poruche prehĺtania a artikulácie. Nebývajú poruchy citlivosti. Priebeh ochorenia je relatívne rýchly, pacienti zomierajú v priebehu 1,5 až 3 rokov za príznakov respiračného zlyhania pri ochrnutí dýchacieho svalstva. Pri familiárnych formách bývajú pozorované prvé prejavy skôr na dolných končatinách, ale s rovnakou perspektívou. Ako primárna laterálna skleróza sa označuje forma ALS (ev. niekde samostatné ochorenie) kde je prítomná najmä pomaly progredujúca porucha horného motoneurónu. Ako familiárna forma asociuje s génom pre alsin (**ALS2**) vyznačuje sa s AR dedičnosťou a prvé prejavy sa dostavia v detstve. Možným začiatkom je progresívna ascendentná paralýza. Existuje viacero typov ALS s mutáciou v rôznych génoch (genetická heterogenita), preto je diagnostika tohto ochorenia technicky aj ekonomicky pomerne náročná a ani pri súčasnom využívanom rozsahu vyšetrení sa genetická príčina nemusí nájsť.

Spinálna a bulbárna muskulárna atrofia – SBMA

Spinálna a bulbárna muskulárna atrofia (SBMA) alebo aj Kennedyho choroba je zriedkavé na X chromozóm viazané recesívne dedičné neuromuskulárne ochorenie. Následky ochorenia sú pozorované len u mužov, keďže

ženy – prenášačky sú zvyčajne asymptomatické (Yang et al., 2007). Incidencia SBMA sa odhaduje na jeden prípad zo 40 000 mužov, hoci sa opodstatnene predpokladá vyššia incidencia, pretože pacienti so SBMA majú často nesprávne určenú diagnózu. Ochorenie je spôsobené expanziou CAG opakovania v exóne 1 v géne pre nukleárny androgénový receptor (La Spada et al., 1991). **AR** gén lokalizovaný na X chromozóme, je zložený z 8 exónov a kóduje proteín s 919 aminokyselinami. U zdravých jedincov je počet CAG opakovaní v rozsahu 11 až 35 (Kaukazská populácia má priemerne 21 až 22 opakovaní). U postihnutých je počet opakovaní približne 38 až 75. CAG opakovania spôsobujú syntézu proteínu so zväčšeným polyglutaminovým úsekom v N-terminálnej doméne. AR receptory sa nachádzajú hlavne v mozgovom kmeni a v α -motoneurónoch predných rohov miechy, z čoho vyplývajú aj charakteristické príznaky ochorenia. V závislosti od typu buniek, molekulárno-genetická patológia sa môže prejavovať stratou funkcie AR (loss of function), čo vedie k androgénovej insenzitivite a v dôsledkoch môže ovplyvniť pohlavnú diferenciáciu a fertilitu. Ide hlavne o mutácie postihujúce ligand viažucu doménu. Predpokladá sa, že v motoneurónoch expanzia vedie k získaniu toxikkej funkcie AR (gain of function), čo spôsobuje neurodegeneráciu. Pozmenený AR deaktivuje – viaže transkripčný faktor CBP, ktorý má histón-acetylázovú aktivitu, čo má za následok zastavenie exprese génu a následnú apoptózu neurocytov (McCampbell et al., 2000). SBMA vykazuje relatívnu meiotickú stabilitu expandovaných úsekov – fenomén anticipácie sa neprejavuje. V niektorých štúdiách sa zistila korelácia medzi počtom CAG opakovaní a vekom nástupu a závažnosťou ochorenia. U postihnutých s vysokým počtom CAG repetícií sa príznaky a symptómy SBMA dostavili v skoršom veku a boli závažnejšie. Pri SBMA ide o poškodenie motorických buniek mozgového kmeňa a miechy. Ochorenie sa objavuje v dospelosti, obyčajne vo štvrtéj dekáde života a postupne progreduje. Klinicky sa prejavuje slabosťou svalstva úst, tváre, hrdla a končatín. V dôsledku postihnutia bulbárnych motoneurónov pacienti majú ťažkosti pri artikulácii a pri prehĺtaní. Postihnutie motorických buniek miechy spôsobuje svalovú slabosť končatín, celkovú vyčerpanosť a v pokročilejších štádiách pacienti majú problémy s chôdzou. Na končatinách sa vyskytujú kŕče a pozorovať aj svalové fascikulácie. U niektorých mužov s týmto ochorením sa vyskytuje gynekomastia a môžu byť infertilní (Rajender et al., 2007).

Spinálna muskulárna atrofia – SMA

SMA je skupina rôznorodých ochorení spôsobených léziou motorických neurónov v predných rohoch miechy. Incidencia spinálnych muskulárnych atrofií je 1: 10 000 až 1: 6 000 s rôznym typom dedičnosti. Pre vitalitu motoneurónov je dôležitý **SMN proteín**, ktorý je kódovaný *SMN1* génom. **SMN1** gén je zložený z 9 exónov, pričom stop kódón sa nachádza v 8. exóne a 9. exón sa neprekľadá (Lefebvre et al., 1995). Existuje telomerická kópia *SMN1* génu a u niektorých ľudí aj centromerická kópia – **SMN2** gén (Roy et al., 1995). Tieto dva gény majú 99% nukleotidovú identitu a oba kódujú SMN proteíny s 294 aminokyselinami. Absencia *SMN1* proteínu môže byť čiastočne kompenzovaná proteínom *SMN2* v mnohých bunkách, nie však v motorických neurónoch. Normálny SMN proteín (RNA binding proteín) zohráva úlohu pri zhromažďovaní malých nukleárných ribonukleoproteínov (snRNP). *SMN2* a jeho produkt, ak je prítomný, nestačí na zaistenie normálnej funkcie. Na druhej strane, ak sa napríklad zmnožením kópií génu *SMN2* zvýši tvorba SMN proteínu, býva klinický obraz u pacientov miernejší. Preto sa dá povedať, že klinický obraz SMA nezávisí iba od mutácií v *SMN1*, ale aj od zmien na iných génoch, napríklad na spomínanom *SMN2* (Wirth et al., 2006). Dôležitý je poznatok, že neexistuje jednoznačná genotyp-fenotypová korelácia a nedá sa predikovať závažnosť postihnutia iba na základe znalosti genotypu. V 95 percentách ide o deléciu exónu 7 a 8 alebo iba exónu 7, pričom väčšie delécie bývajú asociované so skorším začiatkom a výraznou progresiou (Rudnik-Schoneborn et al., 2009). V molekulárno-genetickej patológii sa často zisťuje bialelická delécia exónu 7 a 8 *SMN1* génu a na druhej strane zmnoženie kópií *SMN2* génu v počte 2 až 4 (Jedrzejowska et al., 2008). U niektorých pacientov sa zistí hybridný gén *SMN1-SMN2*. SMA sa prejavuje postihnutím buniek predných rohov miechových (podobne ako ALS), riadiacich proximálne, alebo distálne svalstvo končatín, niekedy je aj postihnutie motorických buniek mozgového kmeňa. Na rozdiel od ALS nebýva postihnutie prvého (horného) motoneurónu (šlachovookosticové reflexy nie sú vysoké, negatívny je Babinského príznak). Z toho je odvodený aj klinický obraz – chabá kvadruparéza, svalová slabosť, únava, hypotónia, hypotrofia svalstva a pri neurologickom vyšetrení nízke šlachovookosticové reflexy. Viac bývajú postihnuté dolné ako horné končatiny. Nebývajú poruchy citlivosti. Existujú rôzne formy SMA od najťažších foriem, kedy dochádza k úmrtiu už v dojčenskom veku (SMA 0, SMA 1), až po mierne formy (SMA IV). SMA 0, SMA I – Werdnigova-Hoffmannova choroba je

ťažká infantilná forma, SMA II – chronická infantilná forma, SMA III – Wohlfarth-Kugelberg-Welander choroba je juvenilná forma a SMA IV predstavuje adultnú formu.

Hereditárne spastické paraplégie – HSP (Strümpell-Lorraine)

Predstavuje geneticky rôznorodé ochorenie, pretože je spôsobená mutáciami viac než 10 génov. AD formy sú spôsobené mutáciami nasledovných génov a zmenou korešpondujúcich proteínov: *SPG3A* (atlastín), *SPG4* (spastín), *SPG6* (NIPA1), *SPG10* (KF5A), *SPG13* (Hsp60), *SPG17* (BSC12). Mutácie v géne *SPG4* tvoria podľa niektorých štúdií až 40% prípadov AD foriem ochorení (Shoukier et al., 2009). Predpokladá sa, že funkcia spastínu je dôležitá pri tvorbe cytoskeletálnej štruktúry buniek a intracelulárnom membránovom transporte. NIPA1 kóduje proteín potrebný pre celulárny transport Mg^{2+} iónov, *SPG3A* kóduje GTPázu lokalizovanú v Golgiho aparáte (atlastín). V spektre HSP predstavujú tieto formy až 80% prípadov. X-viazané formy sú spôsobené mutáciami génov *SPG1*, *SPG2* a deficitnými proteínmi L1CAM a PLP1. AR formy HSP netvoria viac než 10% prípadov a sú zapríčinené mutáciami génu *SPG7* kódujúceho proteín paraplégín a mutáciami génu *SPG20* produkujúceho spastín. HSP 7 spôsobená mutáciami *SPG7* génu je príkladom ochorenia, pri ktorom dochádza k deficitu funkcií dýchacieho reťazca v dôsledku zmeny proteínu, ktorý nie je priamo zahrnutý v štruktúre OXPHOS (Casari et al., 1998). Gén *SPG7* kóduje metaloproteín paraplégín s funkciou proteázy a chaperónu. Proteín je integrovaný do vnútornej mitochondriálnej membrány pričom operuje svojou aktivitou smerom do matrix. Paraplégín je klasifikovaný ako ATP dependentná proteáza (mAAA) kontrolujúca štruktúru proteínov vnútornej mitochondriálnej membrány (vrátane ich foldingu) a má aj dôležitú úlohu, spolu s homológym proteínom AFG3L2, pri proteolytickej kontrole maturácie ribozómov v mitochondriách. Proteín má pleiotropnú funkciu – zasahuje do bunkového delenia, biogenézy organel, zoskupovania proteínov a do ich posttranslačnej úpravy. Opísané mutácie génu spôsobujú funkčný deficit komplexov I, II, III dýchacieho reťazca, hlavne vo svalovom tkanive. Podrobnejšie je problematika geneticky podmienených axonopatií a neuronopatií prezentovaná v práci (Lisý, 2006). Morfologickou podstatou HSP je axonálna degenerácia kortiko-spinálnych dráh. Pri všetkých typoch ochorenia dominuje v klinickom náleze svalová slabosť dolných končatín vyúsťujúca až do spastickej paraplégie (odtiaľ názov). U niektorých foriem môže byť prítomná

aj ataxia, optická neuropatia, mentálna retardácia, demencia, senzorická neuropatia so zníženou vibračnou citlivosťou, epileptické záchvaty, príznaky hypertonického močového mechúra. Vzhľadom na veľký počet génov algoritmus molekulárno-genetických vyšetrení spravidla zahŕňa najskôr vyšetrenie mutácií génov, ktoré sú najčastejšie príčinou HSP (*SPG4*, *SPG7*, *SPG3A*, *SPG2*).

Choroba Charcot-Marie-Tooth, typ 1A – CMT1A

Ochorenie patrí do heterogénnej, pomerne často sa vyskytujúcej skupiny hereditárnych motoricko-senzorických neuropatií (HMSN). Dedičnosť ochorení je rôzna, od AR dedičnosti, cez X viazanú až po AD. Sú prítomné odlišnosti v priebehu ochorenia, v objektivnom náleze, ktoré sú podmienené rozdielnymi génmi a typom mutácie. Najčastejší je typ – CMT1A s AD dedičnosťou. Zmenou na úrovni DNA je mutácia v géne **PMP22**, ktorého produkt je **periférny myelinový proteín 22** – membránový proteín myelinu periférnych nervov produkovaný Schwannovými bunkami. PMP22 je zložený z 5 exónov a kóduje proteín so 160 aminokyselinami. Patogenéza ochorenia nie je presne známa, pravdepodobne ide o poruchu pri tvorbe myelinu v dôsledku nesprávnej terciárnej štruktúry nadprodukovaného PMP (Katona et al., 2009). V prevažnej väčšine prípadov ide o duplikáciu génu **PMP** a zvýšenú transkripciu mRNA (Lupski et al., 1992). Boli opísané aj bodové mutácie, ktoré sú príčinou ochorenia. Prevalencia tejto genetickej poruchy je pomerne vysoká, až 1: 2 500. Typ CMT1A tvorí okolo 70% pacientov s CMT a je pomerne častou primárnou demyelinizačnou neuropatiou s veľmi variabilným obrazom medzi jednotlivými postihnutými. Pri CMT1A ide o zmiešanú demyelinizačnú polyneuropatiu s léziou motorických aj senzitivných periférnych vlákien. Motoricky je postihnutá prevažne antero-laterálna skupina svalstva predkolení a nôh s atrofiami, ktoré pripomínajú tzv. „bocianie nohy“ (chudé lýtko), pritom sú charakteristické aj deformity nôh v zmysle „pes cavus“. V neskorších štádiách bývajú postihnuté aj horné končatiny s rozvojom tzv. „drápotovitých rúk“. Pri neurologickom vyšetrení sa zisťujú nízke šlachovookosticové reflexy. Keďže ide o zmiešanú motoricko-senzitivnú polyneuropatiu, je výrazným spôsobom postihnutá aj citlivosť – taktilná, aj hlboká (polohocit a pohybovit) hypestézia. Podľa závažnosti ochorenia existujú rôzne formy od veľmi ľahkých, keď pacienti ani nevyhľadávajú pomoc lekára, až po veľmi ťažké invalidizujúce stavy s neschopnosťou chôdze. Ochorenie sa manifestuje relatívne neskoro, niekedy v prvej, prevažne však

v druhej a tretej dekáde života. **Typ CMT1B** je na rozdiel od predošlej formy podmienené mutáciami génu **MPZ**, ktorý kóduje tzv. **myelinový proteín zero** – štrukturálny proteín myelínu periférnych nervov (Hayasaka et al., 1993). Ochorenie sa vyznačuje AD dedičnosťou a klinický obraz je podobný ako pri predošlej forme CMT1A. Typ označovaný ako **CMT1E** sa prejavuje hluchotou a často sa u pacientov potvrdí prítomnosť mutácia Ala67Pro. Pri type CMT2 ide o axonálnu neuropatiu s AD dedičnosťou, ktorá je vyvolaná mutáciami viacerých génov. Pri tomto type ide o postihnutie prevažne axónu, nie obalu, preto pri EMG vyšetrení je rýchlosť vedenia sice znížená, ale nie významne. Postihnuté sú spravidla dolné končatiny, výnimočne horné. Začiatok nástupu príznakov býva neskôr, až v druhej dekáde života a priebeh ochorenia je oveľa miernejší ako pri type CMT1A. **Typ CMT3 (Dejérine-Sotas)** s AD alebo AR dedičnosťou, je ochorenie spôsobené bodovými mutáciami **PMP22** génu alebo zmenou jeho čítacieho rámca. Ide o najťažšiu formu CMT so závažnými morfológickými zmenami periférnych nervov pôsobenými zvrátením perineurálneho spojivového tkaniva – „cibuľovitá hlúza“. Začiatok ochorenia je už v dojčenskom veku. Pacienti majú parestézie, poruchy citlivosti akralne. Motorické postihnutie je rovnako na horných, ako aj na dolných končatinách – hypotónia, na rukách drápanie postavenie prstov, na dolných končatinách pes cavus. Postihnuté deti sa často ani nenaučia chodiť, inokedy chodia s oporou. Majú navyše kyfokoliózu, poruchy fotoreakcie zreníc, niekedy nystagmus.

Hereditárna neuropatia s náchylnosťou na tlakovú obrnu – HNPP je odlišný typ ochorenia ako CMT1, pričom molekulárno-genetické zmeny sa týkajú toho istého génu. U pacientov s týmto ochorením sa spravidla zistia delécie oblasti 17p11.2 alebo posunové mutácie **PMP22** génu (Chance et al., 1993). HNPP je tzv. polyneuropatia „hypertrofického typu“. Typické pre toto ochorenie sú tzv. „tlakové obrny“, keď po kompresii alebo traume periférneho nervu dochádza k brneniu, stŕpnutiu až ochrnutiu. Obrny v priebehu času ustúpia – môžu trvať minúty, hodiny, ale aj viac dní. Najnáchylnejšie na tlak sú nervus

peroneus, nervus ulnaris a nervus medianus. Hoci sa tieto „tlakové obrny“ označujú ako nebolestivé, 10 až 15% pacientov udáva aj bolesť. Porucha sa manifestuje až medzi 20. až 40. rokom života.

Literatúra

- Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, Starr E, Squitieri F, Lin B, Kalchman MA. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat genet* 1993; 4: 398–403.
- Bressman SB, de Leon D, Kramer PL, Ozelius LJ, Brin MF, Greene PE, Fahn S, Breakefield XO, Risch NJ. Dystonia in Ashkenazi Jews: clinical characterization of a founder mutation. *Ann Neurol* 1994; 36: 771–777.
- Casari G, De Fusco M, Ciarmatori S, Zeviani M, Mora M, Fernandez P, De Michele G, Filla A, Coccoza S, Marconi R, Durr A, Fontaine B, Ballabio A. Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. *Cell* 1998; 93: 973–983.
- Chance PF, Alderson MK, Leppig KA, Lensch MW, Matsunami N, Smith B, Swanson PD, Odelberg SJ, Distèche CM, Bird TD. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell* 1993; 72: 143–151.
- Delatycki MB, Williamson R, Forrest SM. Friedreich ataxia: an overview. *J Med Genet* 2000; 37: 1–8.
- Deng HX, Hentati A, Tainer JA, Iqbal Z, Cayabyab A, Hung WY, Getzoff ED, Hu P, Herzfeldt B, Roos RP. Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu, Zn superoxide dismutase. *Science* 1993; 261: 1047–1051.
- Hayasaka K, Himoro M, Wang Y, Takata M, Minoshima S, Shimizu N, Miura M, Uyemura K, Takada G. Structure and chromosomal localization of the gene encoding the human myelin protein zero (MPZ). *Genomics* 1993; 17: 755–758.
- Jedrzejowska M, Borkowska J, Zimowski J, Kostera-Pruszyk A, Milewski M, Jurek M, Sielska D, Kostyk E, Nyka W, Zaremba J, Hausmanowa-Petrusewicz I. Unaffected patients with a homozygous absence of the SMN1 gene. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 930–934.
- Katona I, Wu X, Feely SM, Sottile S, Siskind CE, Miller LJ, Shy ME, Li J. PMP22 expression in dermal nerve myelin from patients with CMT1A. *Brain* 2009; 132: 1734–1740.
- La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991; 352: 77–79.
- Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, Benichou B, Cruaud C, Millasseau P, Zeviani M. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995; 80: 155–165.
- Lisý L. Hereditárne motorické axonopatie a neuronopatie. *Neurol prax* 2006; 7: 75–78.
- Lupski JR, Wise CA, Kuwano A, Pentao L, Parke JT, Glaze DG, Ledbetter DH, Greenberg F, Patel PI. Gene dosage is a mechanism for Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nat genet* 1992; 1: 29–33.
- McCampbell A, Taylor JP, Taye AA, Robitschek J, Li M, Walcott J, Merry D, Chai Y, Paulson H, Sobue G, Fischbeck KH.

CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2197–2202.

- Rajender S, Singh L, Thangaraj K. Phenotypic heterogeneity of mutations in androgen receptor gene. *Asian J Androl* 2007; 9: 147–179.
- Roos RA. Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 40.
- Roy N, Mahadevan MS, McLean M, Shutler G, Yaraghi Z, Farahani R, Baird S, Besner-Johnston A, Lefebvre C, Kang X. The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy. *Cell* 1995; 80: 167–178.
- Rudnik-Schoneborn S, Berg C, Zerres K, Betzler C, Grimm T, Eggermann T, Eggermann K, Wirth R, Wirth B, Heller R. Genotype-phenotype studies in infantile spinal muscular atrophy (SMA) type I in Germany: implications for clinical trials and genetic counselling. *Clin Genet* 2009; 76: 168–178.
- Shoukier M, Neesen J, Sauter SM, Argyriou L, Doerwald N, Pantakani DV, Mannan AU. Expansion of mutation spectrum, determination of mutation cluster regions and predictive structural classification of SPAST mutations in hereditary spastic paraplegia. *Eur J Hum Genet* 2009; 17: 187–194.
- Wirth B, Brichta L, Schrank B, Lochmuller H, Blick S, Baasner A, Heller R. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number. *Hum Genet* 2006; 119: 422–428.
- Yang Z, Chang YJ, Yu IC, Yeh S, Wu CC, Miyamoto H, Merry DE, Sobue G, Chen LM, Chang SS, Chang C. ASC-J9 ameliorates spinal and bulbar muscular atrophy phenotype via degradation of androgen receptor. *Nat Med* 2007; 13: 348–353.
- Zumrová A, Mušová Z, Košťálová E, Apltová L, Křepelová A, Paděrová K. Autosomálne dominantní spinocerebelárna ataxie. *Neurol. prax* 2007; 5: 268–271.
- Slovenská spoločnosť lekárskej genetiky: <http://www.slg.sk/pracoviska> (Pracoviská lekárskej genetiky na Slovensku)
- Spoločnosť lekárskej genetiky ČLS JEP:
- [http://www.slg.cz/pracoviste/molekularni-genetika/\(databaza-geneticky-pracovisk\)](http://www.slg.cz/pracoviste/molekularni-genetika/(databaza-geneticky-pracovisk)).
- [http://www.slg.cz/pracoviste/vysetreni/\(zoznam-podla-vysetrenia/diagnozy\)](http://www.slg.cz/pracoviste/vysetreni/(zoznam-podla-vysetrenia/diagnozy)).
- http://www.fnspsba.sk/Nemocnica-Stare-Mesto/oddelenia/genetika/index.htm#Oddelenie_molekulovej_a_biochemickej_genetiky.
- portál pre vzácne ochorenia Orphanet s databázou laboratórií: <http://www.orpha.net/>.

Článok doručen redakci: 10. 4. 2013

Článok prijat k publikaci: 31. 8. 2013

doc. MUDr. Ján Chandoga, CSc.

Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB
Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky, Nemocnica Staré mesto, Bratislava
Mickiewiczova 13, 813 69 Bratislava
clgfn@post.sk

