

JAKÁ JE VAŠE DIAGNÓZA? – ODPOVĚDI

1. otázka: Lze určit strukturu/tkáň, z níž je uvolňována vysoká aktivita sérové CK?

Vysoká aktivita sérové CK kojence musí mít svůj původ v příčně pruhované svalovině. Je pro to racionální vysvětlení: pokud by se skutečně jednalo o akutní postižení jater (např. hepatitida typ A, toxické vlivy, Reye-like syndrom), pak by vysoká aktivita aminotransferáz ALT a AST byla provázena současným zvýšením aktivity izoenzymu LDH5. Přitom u těchto nemocných je vždy aktivita ALT > AST. V okamžiku, kdy dojde k přesmyknutí aktivit, tj. AST > ALT, je to doklad nekrózy jaterních buněk. Za této situace jde o poškození jater velmi těžké. Kojenec však nemá žádné jiné objektivní doklady postižení jater a izoenzym LDH5 zvýšen není.

Poznámky ke zvýšení aktivity celkové CK. Cirkulující CK u zdravých jedinců tvoří 3 izoenzymy, jejichž procentuální podíl na celkové CK je následující: izoenzym MM (CK3) 96–100%, izoenzym MB (CK2) 0–4% a izoenzym BB (CK1) 0%. Izoenzym MM je zastoupen zejména v kosterní svalovině, myokardu, ale i hladké svalovině zažívacího traktu. Izoenzym MB má svůj původ převážně v myokardu a izoenzym BB v mozku. U kojence je sice zvýšena aktivita izoenzymu MB, ale při normální hodnotě poměru CK–MB/CK a při nezměněné aktivitě izoenzymu LDH1. Za této situace by se tak nemělo jednat o závažné poškození myokardu. Dítě nemá žádné klinické symptomy sdružené s postižením hladkého svalstva zažívacího traktu, podobně chybí příznaky poškození mozku. Lze tak předpokládat, že rozhodující podíl na vysoké aktivitě celkové CK má převážně/pouze izoenzym MM a strukturou, z níž je tato aktivita uvolňována tedy jednoznačně musí být kosterní svalovina. Svědčí pro to i zvýšená aktivita izoenzymu LDH2 a poměr CK/AST (při poškození kosterního svalu je tento poměr > 10) (2).

2. otázka: Pokud ano, jaký další diagnostický postup navrhuje ke stanovení konečné diagnózy?

U dítěte je třeba zvolit diagnostický algoritmus, který by určil svalovou poruchu. Jednou z možností je zahájit tento algoritmus vyšetřením EMG, příp. zobrazením kosterní svaloviny (ultrasonografie/MRI); vzhledem k němuž klinickému nálezu však nemusí být závěry těchto vyšetření jednoznačné. Tak tomu bylo i v našem případě, kdy všechna

tato vyšetření byla hodnocena jako normální. Nejprůkaznější by tak měla být analýza molekulárně genetická a komplexní histologická analýza ze svalové biopsie. Závěry těchto vyšetření:

- Molekulární genetika z DNA (materiál periferní krev): přímou diagnostikou genu pro dystrofin byla detekována delece exonů 45–50 (oblast Pm a exony 3, 4, 6, 8, 13, 19, 42, 43, 44, 52 a 60 detekovány nebyly). Nález potvrzuje klinické podezření na Duchennovu svalovou dystrofii (DSD).
- Molekulární genetika mRNA (materiál svalová biopsie): byla nalezena delece v mRNA dystrofinového genu a to v poloze 6439–7309 (45–50 exon).
- Histologie vč. imunohistochemie: na sarkomách svalových vláken kompletně chybí dystrofin, nález je kompatibilní s DSD.

Objektivizovaná DSD u dítěte iniciovala provedení obdobných analýz u jeho matky. Na základě těchto vyšetření se prokázalo, že je de novo přenašečkou DSD. V případě plánování dalšího těhotenství byla proto rodina našeho pacienta seznámena s tím, že:

- je 50% riziko pro syny, že budou mít DSD
- polovina z dcer budou přenašečky DSD
- v každém dalším těhotenství je nepostradatelná prenatální diagnostika a molekulárně genetické vyšetření plodu na DSD
- v případě využití metod IVF lze nabídnout preimplantační genetické vyšetření metodou FISH a volbu pohlaví embrya.

Demonstrováný pacient byl zařazen do databáze nemocných s rizikem rozvoje maligní hypertermie v závislosti na event. výkonech v celkové anestezii.

Diskuze

Dystrofin (DY, cytoskeletární protein) je protein nacházející se především v příčně pruhované svalovině, v menším množství ho lze izolovat také z lymfocytů. Jeho molekulová hmotnost je 427 kD (pro srovnání: molekulová hmotnost albuminu je 69 kD). DY je produktem genu, který je lokalizován na krátkém raménku chromozomu X (Xp21.2) a bývá označován jako dystrofin-gen. Svojí délkou (2,5 mb) je to v současnosti nejdelší známý gen, sestává z cca 79 exonů.

DSD je těžké progresivní svalové onemocnění s dědičností X-recesivně vázanou a s výskytem 1:3500 novorozenců chlapců.

DSD je značně podobná Beckerova svalová dystrofie (BSD). DSD/BSO jsou podmíněny mutacemi dystrofin-genu. Z těchto mutací jde přibližně v 60–65% o velké delece, v 5% o duplikace a v ostatních případech se jedná o různé mutace bodové (1, 4, 5).

Za fyziologického stavu, ale také u většiny nemocných s jinými neuromuskulárními chorobami má DY normální charakter a je přítomen v normálním množství. Změny DY proto jednoznačně potvrzují diagnózu DSD/BSO, kdy u naprosté většiny pacientů s DSD je DY deficitní a vyšetřením se neprokáže, v případě BSD lze detekovat změny charakteru DY nebo jeho snížené množství. Tyto změny DY jsou dobře průkazné imunohistochemickým vyšetřením ze svalové biopsie.

Zřetelné symptomy DSD se většinou manifestují u dětí mladších pěti let – objevují se problémy s osvojováním chůze/běhu/vystupování do schodů. Je to důsledek převládajícího postižení proximálních svalových skupin; chůze je kolébavá, po špičkách, s častými pády. Vzácněji se první příznaky mohou manifestovat v kojeneckém období, kdy dítě nemá věku adekvátní kontrolu držení hlavy. Slabost extenzorů kolenního a kyčelního kloubu a slabost svaloviny gluteální vede ve stoji k výrazné bederní lordóze. Pro nemocné je typické využívání Gowerova manévru – dítě ve snaze se postavit z dřepu/sedu/lehu používá horní končetiny, těmi se postupně opírá o podložku, poté o dolní končetiny a nakonec se postaví. Tuková a fibrózní infiltrace vede k pseudo-hypertrofii zejména lýtkových svalů. Postižení kosterní svaloviny progreduje a většina nemocných je kolem 12. roku upoutána na invalidní vozík. Téměř 90% nemocných má současně poškozenou svalovinu srdeční vedoucí k dilatující kardiomyopatii (6). U přibližně 20% pacientů je i mentální postižení. Bronchopneumonie/kardiomyopatie jsou nejčastější příčinou úmrtí. Při BSD se první příznaky objevují většinou mezi 10.–12. rokem života, postiženy jsou stejné svalové skupiny jako u DSD, rozsah postižení a průběh choroby jsou poněkud mírnější.

Specifická farmakoterapie DSD neexistuje. Medikamentózní léčba se tak zaměřuje na doprovodné infekce dýchacího ústrojí a ovlivnění srdečního selhávání; u některých pacientů bývá provedena elektivní tracheostomie, jiní jsou vázáni na chronickou umělou plicní ventilaci. Vedle toho jsou doporučovány další léky, které mohou přispívat k oddálení progresu choroby (kreatin, koenzym Q10,

selen, vitaminy B₆ a B₁₂, kyselina listová, kyselina thioktová, trimetylglycin, kortikoidy). Chirurgické intervence se u pacientů s DSD týkají zejména korekce svalových kontraktur a skoliózy. Operace skoliózy je však komplikovaná a vyžaduje vždy individuální posouzení. Komplexní léčebná opatření vedou k tomu, že v současné době dochází k úmrtí nemocných později než v minulosti a to mezi 20.–30. rokem života (3). Prozatím opatrný badatelský optimismus je vkládán do možnosti ovlivnit DSD a jiné svalové dystrofie genovou terapií, příp. transplantací kmenových buněk (7, 8).

Závěr

Předloženým kvízem jsme chtěli upozornit na správnou interpretaci abnormálních biochemických parametrů a racionální analýzu v jejich objasňování. Na základě tohoto postupu bylo u demonstrovaného pacienta prokázáno závažné onemocnění již v preklinické fázi. Současně bylo našim záměrem přiblížit možnosti některých specializovaných laboratorních analýz, které umožnily precizní stanovení konečné diagnózy. Pomocí těchto vyšetření tak bylo možno:

1. rodině nabídnout cílenou prenatální diagnostiku v případě dalšího těhotenství
2. vyloučit možnost přenašečství DSD u dalších žen v rodině a tak zabránit náhodnému narození dalšího dítěte s touto závažnou chorobou.

Pro snazší pochopení a přehlednost uvádíme na závěr našeho sdělení „malý genetický slovník“ použitých pojmů:

báze	zkrácené označení pro dusíkaté komponenty (adenin, guanin, cytosin, thymin, uracil) v molekule nukleové kyseliny
delece	ztráta části chromozomu nebo ztráta jednoho/více nukleotidů z určitého úseku DNA
duplikace	část chromozomu/DNA/genu v dvojnásobném množství
exon	DNA úsek genu, který se po transkripci nachází v mRNA a kóduje primární strukturu genového produktu
FISH	fluorescenční hybridizace in situ; jde o techniku „zviditelnění“ specifických sekvencí DNA v chromozomech/v buněčných jádrech/tkáních
gen	úsek molekuly (sekvence bází) DNA, který kóduje tvorbu určitého funkčního polypeptidu nebo molekuly tRNA/rRNA; v současnosti se promiskue používá i termínu lokus
mb	velikost úseku DNA se udává buď molekulovou hmotností nebo počtem nukleotidových párů; protože se tyto páry od sebe liší pouze svojí bází, používá se termín báze pár (bp); 10 ⁶ bp = 1 megabáze (mb)
mRNA	mediátorová RNA; je matricí pro tvorbu polypeptidu/tRNA/rRNA
mozaika	stav, kdy jedinec nebo určitá tkáň obsahuje dva či více geneticky odlišných buněčných linií pocházejících však z jediné zygoty; tyto linie se navzájem liší genotypem nebo karyotypem
mutace	změna genetického materiálu vedoucí často ke změně fenotypu
nukleotid	komplex tvořený pentózou, fosfátovou skupinou a některou z bází
rRNA	ribozomová RNA; nemá přesně známou funkci
tRNA	transferová RNA; přenáší jednotlivé aminokyseliny v cytoplazmě a správně je zařazuje do polypeptidů, které jsou syntetizovány v ribosomech

Literatura

1. Dalkilic I, Kunkel LM. Muscular dystrophies: genes to pathogenesis. *Curr Opin Genet Dev*, 2003; 13: 231–238.
2. Doležel Z, Kopečná L, Jičínská H. Jaká je vaše diagnóza? *Čs Pediat*, 1998; s. 450–451.
3. Dubowitz V. Report of the 75th ENMC international workshop: treatment of muscular dystrophy. *Neuromuscular Disord*, 2000; 10: 313–320.
4. Emery AEH. The muscular dystrophies. *Lancet*, 2002; 359: 687–695.
5. Sršeň S, Sršňová K. Základy klinické genetiky a její molekulární podstata. 3. vydání. Osveta, Martin, 2000, 409s.
6. Todorova A, Constantinova D, Kremensky I. Dilated cardiomyopathy and new 16 bp deletion in exon 44 of the dystrophin gene: The possible role of repeated motifs in mutation generation. *Am J Med Genet*, 2003; 120A: 5–7.
7. Torrente YD, Angelo MG, Li Z, et al. Transplacental injection of somite-derived cells in mdx mouse embryos for the correction of dystrophin deficiency. *Hum Mol Genet*, 2000; 9: 1843–1852.
8. www.enmc.org and enmc.spc.ox.ac.uk.