

Klinické a genetické spektrum prejavov paramyotonia congenita v slovenských rodokmeňoch

František Cibulčík¹, Ivan Martinka¹, Peter Špalek¹,
Milan Grofik², Egon Kurča²

¹Neurologická klinika LF SZU UNB Bratislava
²Neurologická klinika Jesseniovej LF UK Martin

Úvod: Nondystrofické myotónie sú skupina zriedkavých monogénových svalových ochorení, spôsobených mutáciami v génoch pre napäťovo závislý sodíkový kanál svalu (SCN4A) alebo chloridový kanál (CLCN1). Paramyotonia congenita je autozómovo dominantne dedičné ochorenie zo skupiny nondystrofických myotónií. Vo väčšine prípadov je spôsobená mutáciou v SCN4A géne na chromozóme 17q23-3, len ojedinele v géne CLCN1. Charakterizuje ju myotónia zhoršujúca sa opakovaním svalovej aktivity (paradoxná myotónia). Ochorenie sa väčšinou objavuje pred 10. rokom života slabosťou rúk, tváre a šíje s relatívnym ušetrením dolných končatín, vzácnejšie sa u pacientov vyskytuje epizodická slabosť vo forme periodickej paralýzy.

Cieľ: Cieľom našej práce je opísať klinické, elektrofyziológické a genetické charakteristiky paramyotonia congenita v 6 sledovaných rodokmeňoch probandov zo slovenských pracovišť.

Metodika: Klinické vyšetrenie s podrobnou anamnézou, základné hematologické a biochemické laboratórne vyšetrenie, elektromyografické vyšetrenie, genetické vyšetrenie

Výsledky: Sledovali sme 6 rodokmeňov probandov s klinickými príznakmi paramyotonia congenita. Zistili sme prítomnosť 2 kauzálnych mutácií v géne sodíkového kanála SCN4A – v piatich rodokmeňoch mutáciu typu c.3938C>T, p.Thr1313Met, v jednej rodine mutáciu typu c.2111C>T, p.Thr704Met. Klinické prejavy boli u väčšiny probandov a vyšetrených rodinných príslušníkov podobné – chladom vyvolaná svalová stuhnutosť v oblasti končatín a hlavy. Periodická svalová slabosť bola zriedkavá – prítomná len v jednej rodine. U všetkých pacientov boli pri vyšetrení ihlovou elektromyografiou zistené myotonické výboje v postihnutých svaloch. Naše výsledky vo veľkej miere korelujú s údajmi pacientov v rodokmeňoch publikovaných v iných krajinách.

Kľúčové slová: paramyotónia, iónové kanály, genetika

Clinical and genetic characteristics of paramyotonia congenita in Slovak pedigrees

Introduction: The nondystrophic myotonias are rare muscle hyperexcitability disorders caused by mutations in the SCN4A gene or mutations in the CLCN1 gene. Paramyotonia congenita is characterized by myotonia that worsens, instead of improving, with repeated muscle activity (paradoxical myotonia). The myotonia is usually cold induced and more prominent in the face, patients with paramyotonia congenita can also experience episodic weakness.

Objective: The aim of this work is to describe clinical, electrophysiological and genetic pictures of 6 pedigrees with paramyotonia congenita patients in Slovakia.

Methods: Clinical investigation, family history, electromyography, genetic testing

Results: Our results revealed 2 potential disease-causing mutations present in the probands and affected family members – mutations c.3938C > T (p.T1313M) in five families and mutation c.2111C>T (p.T704M) in one family. Clinical presentation in all genetically affected members was uniform – cold induced muscle stiffness in head and extremities. Intermittent periods of weakness we observed in only one family. Needle electromyography showed typical myotonic discharges in all patients.

Keywords: paramyotonia, ion channels, genetics

Neurológia 2021; 16 (2): 79-82

Úvod

Nondystrofické myotónie sú skupina zriedkavých monogénových svalových ochorení spôsobených mutáciami v génoch pre napäťovo závislý sodíkový kanál svalu (SCN4A) alebo chloridový kanál (CLCN1). Tieto mutácie vedú k zvýšenej dráždivosti membrány svalových buniek a klinicky sa prejavujú myotóniou – oneskorenou relaxáciou kostrových svalov po vôľovej kontrakcii alebo poklepe⁽¹⁾. Nondystrofické myotónie spôsobujú poruchu funkcie výlučne svalového tkaniva a pacientom väčšinou neskracujú očakávaný čas prežitia⁽²⁾. Paramyotonia congenita je autozómovo dominantne dedičné ochorenie zo skupiny

nondystrofických myotónií. Vo väčšine prípadov je spôsobená mutáciou v SCN4A géne na chromozóme 17q23-3, len ojedinele v géne CLCN1. Prvýkrát bola opísaná Eulenborgom⁽³⁾ a charakterizuje ju myotónia zhoršujúca sa opakovaním svalovej aktivity (paradoxná myotónia). Ochorenie sa väčšinou objavuje pred 10. rokom života slabosťou rúk, tváre a šíje s relatívnym ušetrením dolných končatín. Rodičia si môžu už u malých detí všimnúť po plači pretrvávajúci stridor alebo stuhnuté očné viečka. Ťažkosti vznikajú alebo sú zhoršované chladom a svalovou námahou, niekedy aj hladovaním či podaním horčička. V neskoršom veku sa pacienti sťažujú najmä na paradoxné horšenie myotonických

prejavov po opakovanej námahe – špeciálne pri opakovanom otváraní očí a päste. Prejavy sa dajú vyvolať aj ochladením. Vzácnejšie sa u pacientov s paramyotonia congenita vyskytuje epizodická slabosť vo forme periodickej paralýzy. V diagnóze okrem klinického obrazu pomáha elektromyografické vyšetrenie. Typický je nález myotonických výbojov v akrálnych svaloch pri ihlovej elektromyografii najmä pri miernom ochladení, pri výraznejšom ochladení pod 20 stupňov Celzia elektrická aktivita mizne. Pri repetitívnej stimulácii motorického nervu nízkou frekvenciou býva pozorovaný dekrement amplitúdy, v single fiber EMG pozorujeme zvýšené hodnoty jitter a blokovanie⁽⁴⁾. Paramyotonia congenita je vzácne ochorenie, na Slovensku bolo prvýkrát opísané v roku 1980⁽⁵⁾, v roku 2019 sme publikovali prehľad geneticky dokázaných rodokmeňov na Slovensku⁽⁶⁾. V aktuálnej práci ho rozšírujeme o nové údaje.

Materiál a metódy

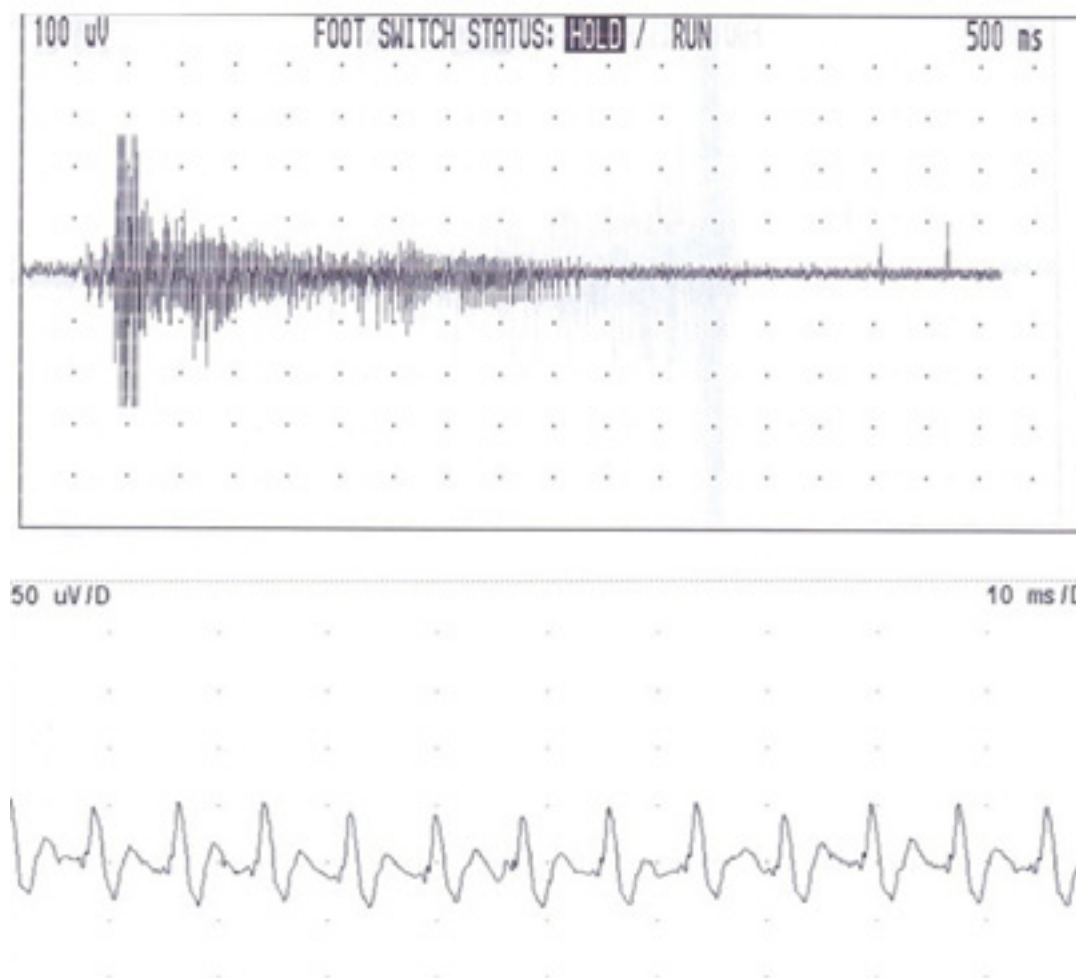
V našej práci uvádzame údaje zo sledovania 6 probandov a ich príbuzných s geneticky verifikovanou diagnózou paramyotonia congenita, ktorí boli vyšetrení v Centre pre neuromuskulárne ochorenia Neurologickej kliniky SZU Univerzitetnej nemocnice v Bratislave a na Neurologickej klinike LF v Univerzitetnej nemocnici Martin. Pacienti a dostupní príbuzní boli neurologicky vyšetrení a bola získaná kompletná anamnéza. Pacienti vykazovali klinicky prejavy typické pre nondystrofické myotónie ľahkej až stredne ťažkej intenzity. Všetci pacienti a dostupní príbuzní mali

urobené elektromyografické vyšetrenie a vyšetrenie základných hematologických a biochemických parametrov. Genetické testovanie bolo robené po extrakcii genomickej DNA z leukocytov periférnej krvi a jej následnej amplifikácii. PCR produkty boli následne priamo sekvenované a analyzované, nakoniec boli porovnané s SCN4A referenčnými sekvenciami. Diagnóza bola urobená v súlade s odporučeniami Diagnostic criteria for neuromuscular disorders⁽⁷⁾ a kritériami formulovanými expertmi v rámci odporúčaní na diagnostiku a liečbu nondystrofických myotónií⁽¹⁾.

Výsledky

Štyria probandi v našom súbore boli ženského pohlavia, dvaja mužského. V laboratórnom biochemickom skríningu mali piati normálne nálezy, u jedného bolo zistené ľahké zvýšenie hladiny kreatínfosfokinázy. Klinické prejavy boli u väčšiny probandov a vyšetrených rodinných príslušníkov podobné – chladom vyvolaná svalová stuhnutosť v oblasti končatín a hlavy. Periodická svalová slabosť bola zriedkavá – prítomná len v jednej rodine. U všetkých pacientov boli zistené myotonické výboje v postihnutých svaloch bez inej patológie pri vyšetrení ihlovou elektromyografiou a vodivostnými štúdiami – **obrázok 1**. V piatich rodinách bola pri genetickej analýze zistená mutácia génu SCN4A typu c.3938C>T, p.Thr1313Met, v jednej rodine typu c.2111C>T, p.Thr704Met. Prehľad klinických charakteristík súboru pacientov a príbuzných prináša podrobnejšie **tabuľka 1**.

Obrázok 1. Ukážka myotonického výboja v dvoch rôznych nastaveniach zobrazenia EMG signálu



Tabuľka 1. Prehľad klinických a laboratórnych parametrov v 6 rodokmeňoch pacientov s paramyotonia congenita

Pacient	HV	LR	IP	LF	MH	EH
Gén	SCN4A	SCN4A	SCN4A	SCN4A	SCN4A	SCN4A
Mutácia	c.3938C>T, p.Thr1313Met	c.3938C>T, p.Thr1313Met	c.2111C>T, p.Thr704Met	c.3938C>T, p.Thr1313Met	c.3938C>T, p.Thr1313Met	c.3938C>T, p.Thr1313Met
Pohlavie	Ž	Ž	Ž	Ž	M	M
Vek vzniku (roky)	4	6	3	10	8	10
Vek pri dg (roky)	23	8	22	30	45	25
Úvodné príznaky	Chladová stuhnutosť končatín	Chladová stuhnutosť končatín akrálne	Chladová stuhnutosť prstov HK	Chladová stuhnutosť prstov HK a tváre	Chladová stuhnutosť HK a tváre	Chladová stuhnutosť HK, šije a tváre
Rozsah	Tvár, končatiny	Končatiny	Tvár, končatiny	Tvár, končatiny	Tvár, končatiny	Tvár, končatiny
Epizodická slabosť	Áno	Nie	Nie	Nie	Nie	Nie
Výskyt v rodine	Sestra, otec, dedko	Matka, strýko, babka, pradedko, babkina sestra a jej syn a vnučka	Otec, dedko a bratranec	Otec, dedko	Matka, sesternica, dcéra	Otec, dvaja strýkovia, brat, 3 deti, 2 synovci

Diskusia

Paramyotonia congenita (PMC) je ochorenie spôsobené takmer výlučne mutáciou v géne sodíkového kanála SCN4A, ktorý je zodpovedný za kódovania alfa podjednotky sodíkového kanála vo svaloch. Gén SCN4A sa skladá z 24 exónov a je lokalizovaný na chromozóme 17 v lokalite 17q23-3. SCN4A proteín sprostredkuje priepustnosť membrány pre sodík vo forme napätovo závislého kanála. Proteín má 4 domény (DI-IV), z ktorých každá 6 transmembránových segmentov (S1-S6). Segment S4 každej domény obsahuje 4-7 opakovaní pozitívne nabitých aminokyselín (najčastejšie arginín) nasledovaných dvoma hydrofóbnymi aminokyselinami. Tento segment je zodpovedný za napätovo závislé riadenie funkcie iónového kanála⁽⁹⁾.

V nami referovanom súbore boli u všetkých vyšetovaných zistené mutácie v géne SCN4A s autozómovo dominantným typom dedičnosti. V piatich rodokmeňoch bola prítomná mutácia c.3938C>T, p.Thr1313Met. Táto mutácia je v súboroch pacientov s PMC u niektorých autorov udávaná ako najčastejšia⁽⁹⁾, tvorí viac ako 30 % všetkých zistených mutácií. V iných publikovaných súboroch pacientov s PMC^(10,11) je jej zastúpenie menšie – tvorí menej ako 10 %, v štúdií talianskych autorov⁽¹²⁾ len necelé 3 %. Mutácia sa nachádza v spojkke medzi doménami DIII a DIV, rezíduum T1313 je blízko COOH – terminálu IFM, ktorý je považovaný za časť zodpovednú za inaktiváciu kanála počas rýchlej inaktivácie⁽¹³⁾. Treonín je polárna hydrofilná aminokyselina, zatiaľ čo metionín nahrádzajúci ho pri mutácii je nepolárna hydrofóbná aminokyselina s dlhšími postrannými reťazcami. Experimentálne je dokázané, že táto mutačná výmena vedie k ovplyvneniu rýchlej inaktivácie kanála, pričom pomalá inaktivácia a deaktivácia nie sú zmenené⁽¹⁴⁾. Ovplyvnenie rýchlej inaktivácie môže v modeloch viesť k perzistentne vysokému Na prúdu s klinickým prejavom paralýzy – príznaky svalovej slabosti sme zistili v jednom z troch referovaných rodokmeňov. Naopak depolarizujúca zmena napätia a spomalená rýchla inaktivácia bez perzistentne vysokého prúdu v modeloch spôsobuje myotóniu⁽¹⁵⁾, ktorú sme zistili vo všetkých troch rodokmeňoch.

Jeden rodokmeň v našom súbore bol charakterizovaný mutáciou c.2111C>T, p.Thr704Met, lokalizovanou v piatom transmembránovom segmente druhej domény sodíkového kanála. Táto mutácia býva často opisovaná u pacientov s hyperkalemickou periodickou paralýzou. Experimentálne bolo dokázané, že táto mutácia vedie k posunu napätovej závislosti aktivácie kanála o 10-15 mV nadol, mutované kanály sa otvárajú skôr s menšou mierou depolarizácie⁽¹⁶⁾. Ďalším experimentálnym zistením je absencia pomalej inaktivácie až pri 50 % mutovaných kanálov⁽¹⁷⁾, čo môže tiež prispieť k zmene ich funkcie. Pacienti s uvedenou mutáciou v našom rodokmeni nemali klinické príznaky hyperkalemickej periodickej paralýzy, vykazovali prítomnosť myotonických prejavov provokovaných chladom a námahou s prevahou na prstoch HK.

Pri celkovom hodnotení klinických a elektrofyziologických charakteristík pri porovnaní nášho súboru a už spomínaných súborov z iných krajín^(9,10,11,12) boli zistené mnohé podobnosti – vznik klinickej symptomatológie v detskom veku, častý výskyt stuhnutosti v tvárových svaloch, chladové zhoršovanie myotónie a elektrofyziologicky prakticky 100 % záchytnosť myotonických výbojov pri vyšetrení viacerých svalov. V našom súbore bola zistená prítomnosť periodickej svalovej slabosti len v jednom rodokmeni zo šiestich, v ostatných súboroch sa výskyt pohyboval od 64 do 76 %. V liečbe klinických prejavov sa najčastejšie opisuje použitie mexiletínu a acetazolamidu, menej lamotrigínu a novinky ranolazínu – látky potenciujúcej pomalú inaktiváciu sodíkových kanálov⁽¹⁸⁾. V našom súbore väčšina symptomatických jedincov pre miernu intenzitu príznakov farmakoterapiu nedostávala, u niektorých bol vzhľadom na nedostupnosť mexiletínu skúšaný acetazolamid s kolísavým efektom.

Záver

Dedičné ochorenia s myotonickými prejavmi predstavujú v klinickej praxi diagnostickú výzvu. Klinické prejavy jednotlivých skupín sa môžu podobáť a na správnu diagnózu je nutné genetické vyšetrenie. Klinické prejavy paramyotonia congenita

aj v našom súbore tvorí stuhnutosť zhoršujúca sa chladom, ktorá býva kombinovaná s periodickou slabosťou – tú sme zistili len v jednom z našich rodokmeňov. Detailné poznanie genetickej poruchy okrem samotného potvrdenia diagnózy môže priniesť i úvahy o patogenéze klinických príznakov, použiteľné vo vývoji nových farmakoterapeutických postupov.

Literatúra

1. Stunnenberg BC, LoRusso S, David Arnold W et al. Guidelines on clinical presentation and management of nondystrophic myotonias. *Muscle Nerve* 2020; 62:430-444.
2. Trivedi JR, Bundy B, Statland J et al. Non-dystrophic myotonia: prospective study of objective and patient reported outcomes. *Brain* 2013; 136:2189-2200.
3. Eulenburg A. Über eine familiäre, durch 6 Generationen verfolgbare congenitale Paramyotonia. *Neurol Centralbl.* 1886; 12:265-272.
4. Heatwole CR, Statland JM, Logigian EL. The diagnosis and treatment of myotonic disorders. *Muscle Nerve* 2013; 47:632-648.
5. Špalek P, Lisý L, Orolin D, Štofej P. Kongenitálna myotónia Eulenburg. *Čs Neurol Neurochir* 1980; 43/76: 203-7.
6. Cibulčík F, Špalek P, Martinka I et al. Paramyotonia congenita in a Slovak population: Genetic and pedigree analysis of 3 families. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2019; 163: 362-5.
7. Lehmann-Horn F, Ruedel R. Non-dystrophic myotonias and periodic paralyses. In: Emery AEH (ed).: *Diagnostic Criteria for Neuromuscular Disorders*. London: Royal Society of Medicine Press 1997; pp 31-6.
8. Nurputra DK, Nakagawa T, Takeshima Y, et al. Paramyotonia congenita: from clinical diagnosis to in silico protein modeling analysis. *Pediatr Int* 2012;54:602-12.
9. Trivedi JR, Bundy B, Statland J et al, Non-dystrophic myotonia: prospective study of objective and patient reported outcomes. *Brain* 2013; 136:2189-2200
10. Stunnenberg BC, Raaphorst J, Deenen JCW et al. Prevalence and mutation spectrum of skeletal muscle channelopathies in the Netherlands. *Neuromuscular Disorders* 2018; 28:402-47.
11. Meyer AP, Roggenbuck J, LoRusso S et al. Genotype-phenotype correlations and characterization of medication use in inherited myotonic disorders. *Front. Neurol.* 2020; 11:593.
12. Maggi L, Brugnoli R., Canioni E et al. Clinical and molecular spectrum of myotonia and periodic paralyses associated with mutations in SCN4A in a large cohort of Italian patients. *Front. Neurol.* 2020; 11:646
13. Eaholtz G, Sheuer T, Catterall WA. Restoration of inactivation and block of open sodium channels by an inactivation gate peptide. *Neuron* 1994; 12:1041-8.
14. Dice MS, Abbruzzese JL, Wheeler JT. Temperature – sensitive defects in paramyotonia congenita mutants R1448C and T1313M. *Muscle Nerve* 2004; 30:277-88.
15. Hayward LJ, Brown RH, Cannon SC. Inactivation defects caused by myotonia-associated mutations in the sodium channel III-IV linker. *J General Physiol* 1996; 107:559-76.
16. Cummins TR, Zhou J, Sigworth FJ et al. Functional consequences of a Na channel mutation causing hyperkalemic periodic paralysis. *Neuron* 1993; 10:667-678.
17. Cannon SC. Spectrum of sodium channel disturbances in the nondystrophic myotonias and periodic paralyses. *Kidney International* 2000; 57:772-779.
18. LoRusso S, Kline D, Bartlett A et al. Open – label trial of ranolazine for the treatment of paramyotonia congenita. *Muscle Nerve* 2019; 59:240-243.

PodĎakovanie: Molekulárnogenetické vyšetrenie zaistuje Centrum molekulárnej biológie a genové terapie, IHOK, FN Brno. Ďakujeme pani doc. RNDr. Lenke Fajkusovej, CSc. za výbornú spoluprácu.

Adresa pre korešpondenciu:

MUDr. František Cibulčík, PhD.
Neurologická klinika LF SZU UNB Bratislava
Ružinovská 6, 826 06 Bratislava
e-mail: cibulcik@hotmail.com