

FISH analýza RNA tkání plodu z rodiny postižené myotonickou dystrofií MD1

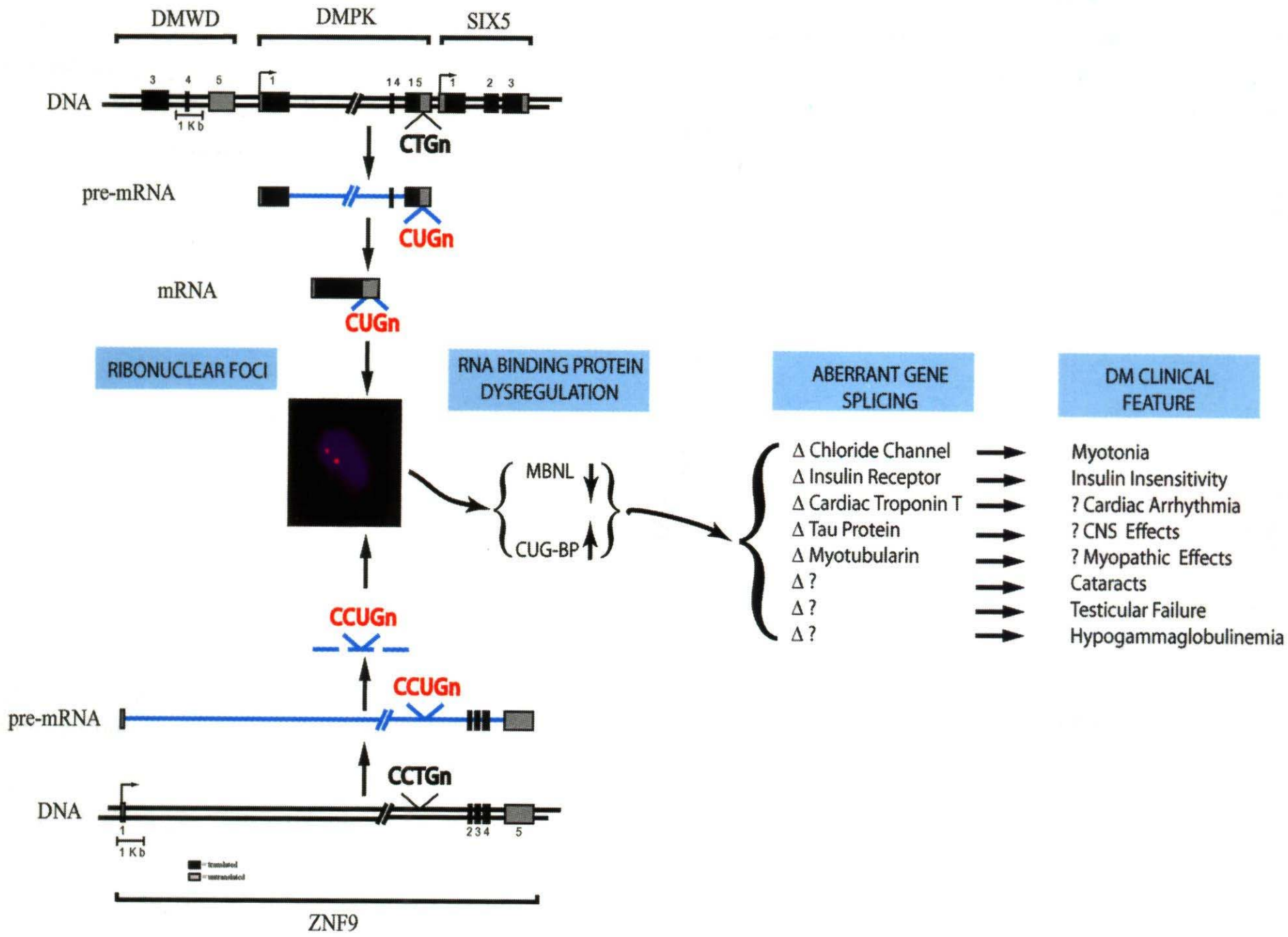
Lukáš Z, Kroupová I, Valášková I,
Falk M, Fajkusová L, Sedláčková J

- **Myotonická dystrofie (MD):** autosomálně dominantní neuromuskulární onemocnění s incidencí asi 1/8000. Nejčastější forma svalové dystrofie postihující dospělou populaci.
- **Klasická myotonická dystrofie (DM1):** Příčina - nestabilní trinukleotidová repetitivní sekvence (CTG)_n v genu kódujícím protein kinázu (DMPK, dystrophia myotonica protein kinase) na chromosomu 19q13.3 .

- **DM1:** kongenitální, juvenilní, nebo adultní forma onemocnění podle nástupu klinických znaků.

U kongenitální formy MD často i další poruchy včetně opožděné maturace a diferenciacie svalstva

- **Expanze** trinukleotidové sekvence ▶▶
 - ▶▶ **retence** transkriptu genu DMPK v jádře, která generuje fenotyp MD. **Molekulárně genetická diagnostika:** DNA Southern blot analýzou nebo PCR.
- Retinovaná RNA v jádrech hybridizací in situ, fluorescenční (FISH) či chromogenní

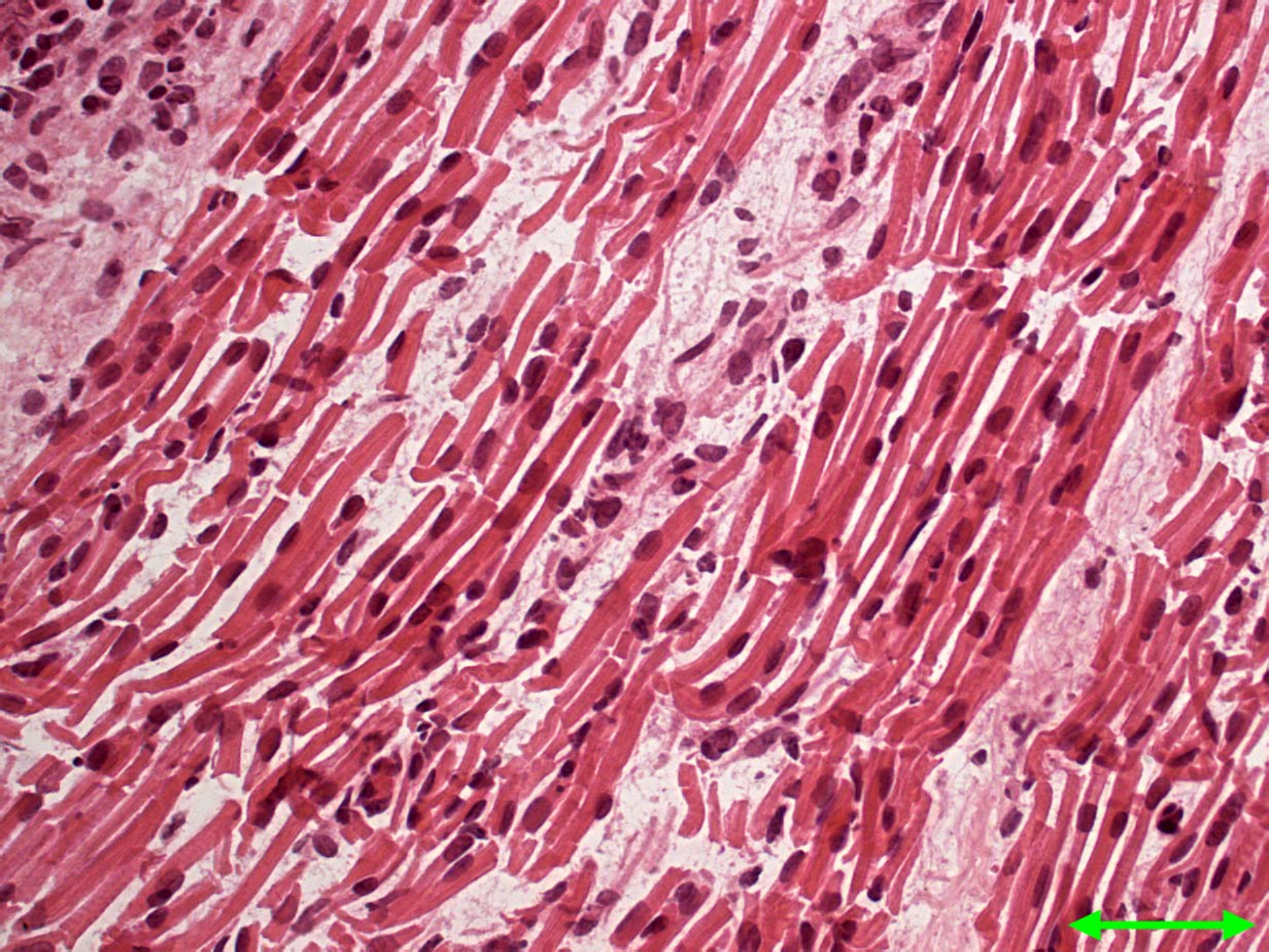


- **Předmět sdělení:**
- (1) histopatologické vyšetření a
- (2) FISH analýza RNA některých tkání fetu (22. týden intrauterinního vývoje, 360 g) postiženého kongenitální formou MD zaměřená na zjištění retinovaného transkriptu v jádře

Rodina

Rodinný příslušník	Biologický materiál	PCR	SB: počet repetice	SB: počet kilobází
Probandův otec - asymptomatický	krev	10/57	57	
Probandova matka - asymptomatická	krev	5/13		
Probandův strýc - asymptomatický	krev	5/13		
Proband (= otec plodu) - symptomatický	krev	13/exp	280	10,6
Fetus	amniální buňky	21/exp	350	10,8

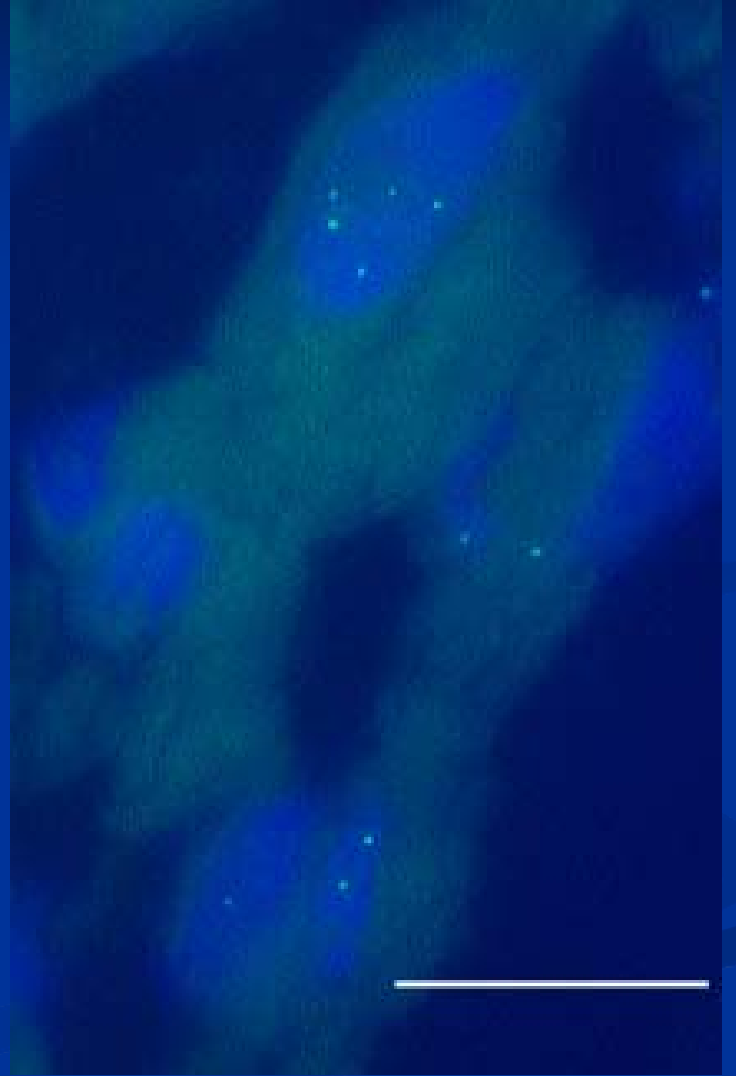
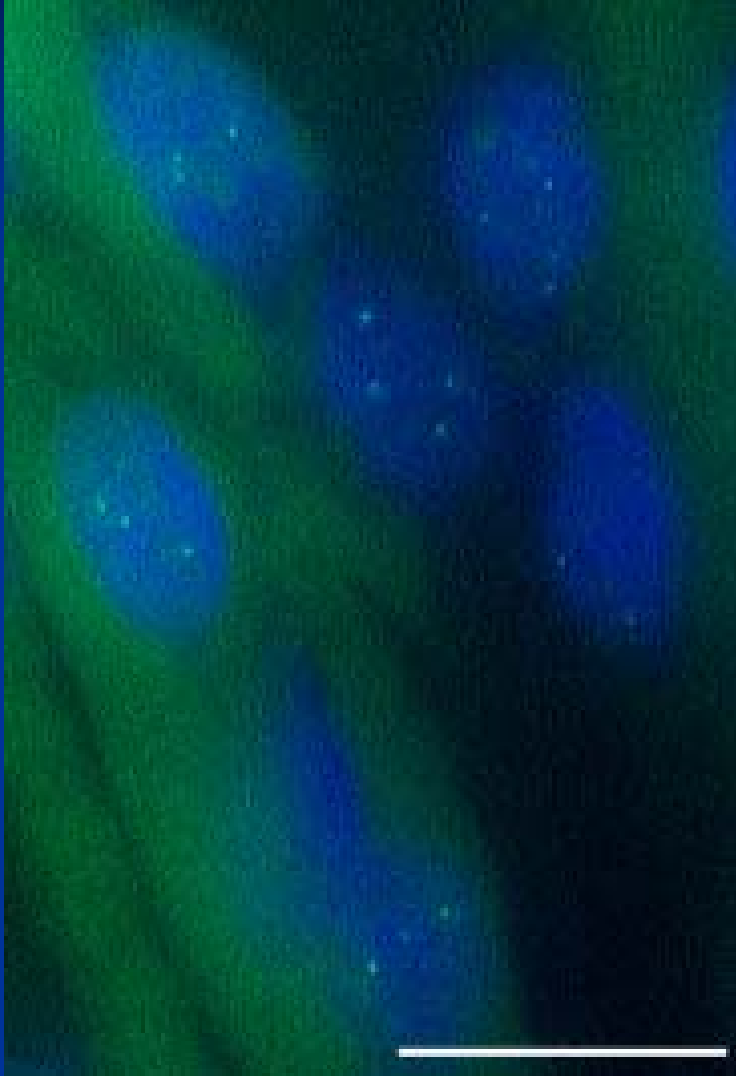
- **Kosterní sval:** myotuby s centrálními jádry, velikost průměrů:
 - VL $5,666667 \pm 1,074968$,
 - GCN $7,220339 \pm 1,317419$ u.
 - Typová diference nepřítomna.
- **Kontrola – norma:** normální fetální sval 18 týdnů průměry vláken 13- 25 um , počínající typová diference.
- U plodů gestačního stáří 20 do 23 týdnů, základní typová diference zřetelná.



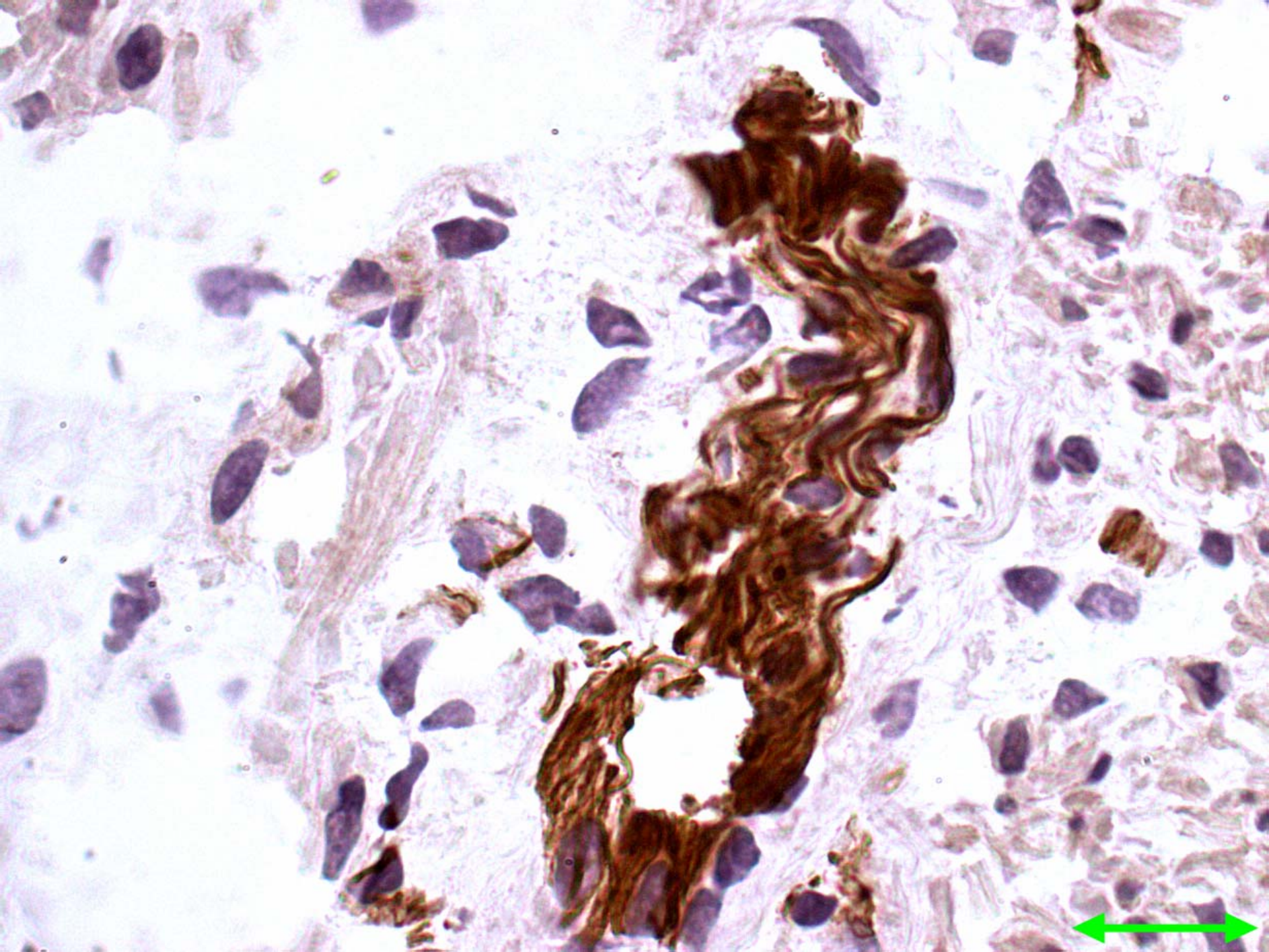
- Z histopatologické analýzy kosterních svalů plodu vyplývá:
 - (1) svalová vlákna nedosahují velikosti přiměřené době gestace,
 - (2) jsou v myotubárním stadiu vývoje a
 - (3) nejsou přítomny známky ani počínající typové diference.

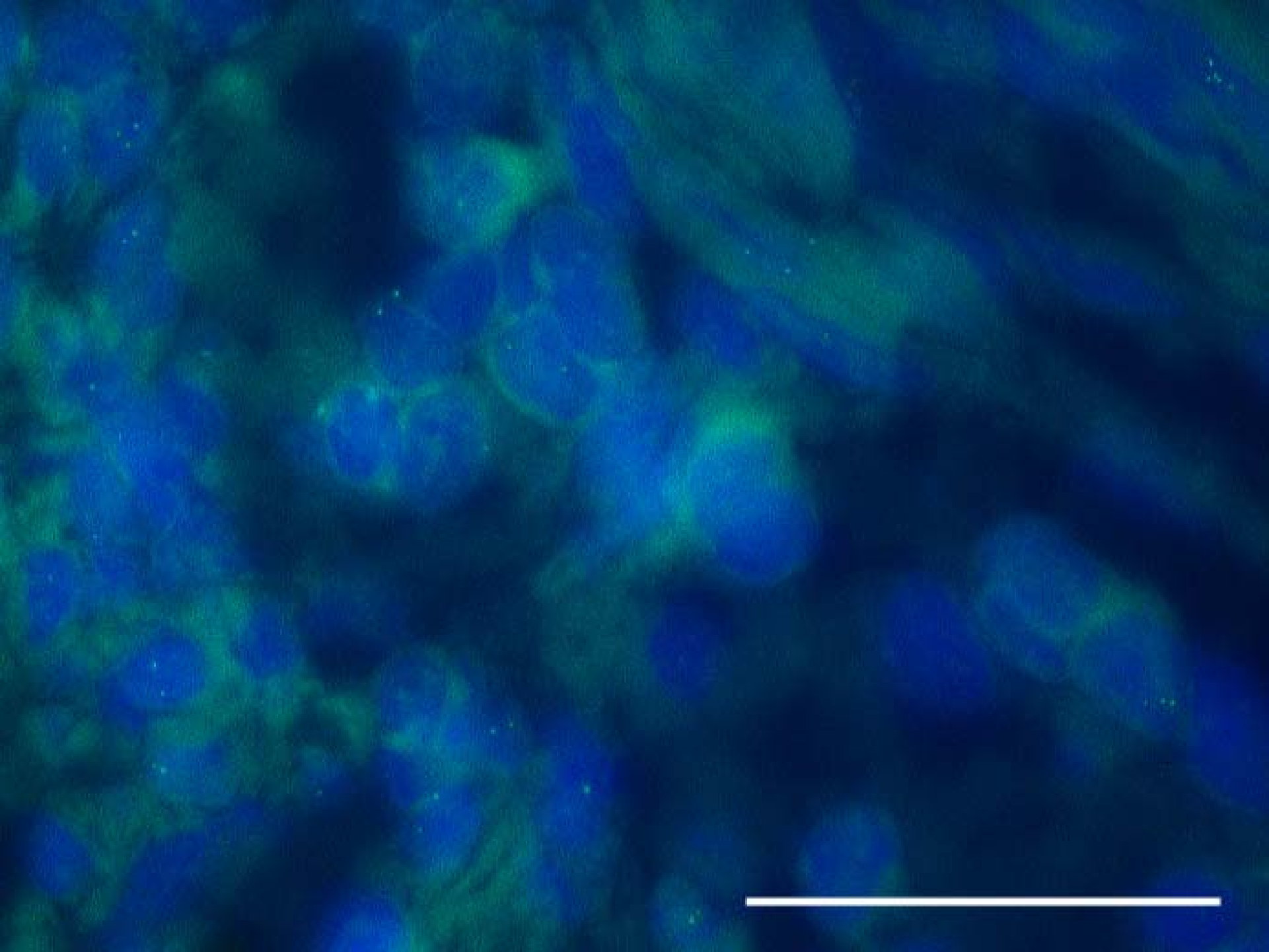
Histologické vyšetření jícnu, žaludku a střeva ukázalo zřetelnou stratifikaci stěny na sliznici, submukózu, zevní svalovinu a serózu (nedemonstrováno).

FISH: Fokusy retinované RNA přítomny v jádrech svalových vláken obou vyšetřených kosterních svalů i v jádrech hladké svaloviny jícnu, žaludku a střeva.



- **FISH:** Pozitivní reakce neuronů Auerbachova plexu, i hladké svaloviny cévní medie.
- Vysoká frekvence ložisek RNA je i v epitelu jícnu, žaludku i střeva.





Význam sledování expanze CUG pro studium patogeneze MD:

‘To fully characterize the role of DMPK loss and the dominant negative effect of CUG repeat expression in the development of DM1 pathology, it is therefore necessary to establish the identity of the cells and tissues and cell types in which the DMPK protein and the DMPK mRNA are expressed ‘(Sarkar et al. NMD 2004).

Exprese DMPK v lidských tkáních prokázána:

V lidských buňkách a tkáních byla exprese **DMPK proteinu** zjištěna jen v hladkém a kosterním svalu a v myokardu. Avšak jaderné inkluze obsahující **retinovanou mRNA** byly popsány ve svalové tkáni, neuronech, fibroblastech, myoblastech - a ve tkáňových kulturách z těchto buněk. Rovněž byly popsány v extraembryonálních strukturách lidského zárodku – v buňkách trofoblastu.

Závěry:

Popsané nálezy ukazují, že jaderné inkluze obsahující retinovanou mRNA jsou přítomny nejen ve vyvíjejícím se kosterním svalu ale i v hladké svalovině a nervových pleteních GIT i v dalších tkáních. Zda a jak se mohou uplatnit v geneze onemocnění, lze jenom spekulovat: nabízí se zejména u vzniku poruch motility GIT u pacientů postižených MD.