

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. M. Mossakowskiego PAN

Jakub P. Fichna

**Identyfikacja i kompleksowa charakterystyka
podłoża genetycznego rzadkich miopatii
i dystrofii mięśniowych w populacji polskiej**

Praca doktorska wykonana w Pracowni Neurogenetyki IMDiK PAN

Promotor:

Prof. dr hab. n. med. Cezary Żekanowski

Warszawa 2017

Streszczenie:

Miopatie to grupa niejednorodnych klinicznie i genetycznie chorób, w których zaburzone funkcjonowanie włókien mięśniowych skutkuje osłabieniem siły mięśni. Badania podłoża genetycznego różnych chorób mięśniowych przyczyniają się do zrozumienia patofizjologii tej klasy chorób, a w konsekwencji do wypracowania przyczynowych form leczenia. Miopatie miofibrylarne (ang. *myofibrillar myopathies*, MFM) oraz dystrofie obręczowo-kończynowe (ang. *limb girdle muscular dystrophies*, LGMD) stanowią heterogenne grupy rzadkich dziedzicznych schorzeń mięśniowych o nakładających się fenotypach klinicznych. Różnicowanie pomiędzy wyżej wymienionymi jednostkami chorobowymi, a zwłaszcza między ich podtypami, jedynie na podstawie cech fenotypowych, kliniczno-patologicznych, jest niezwykle trudne. Identyfikacja mutacji sprawczych to obecnie najbardziej precyzyjna metoda diagnostyczna. Jednakże pomimo trwających od ponad 20 lat badań, podłoże genetyczne obu miopatii pozostaje w dużej części nieokreślone.

Celem pracy było:

1. poznanie podłoża genetycznego, a w szczególności mutacji sprawczych, MFM, LGMD oraz pokrewnych fenotypów klinicznych w populacji polskiej.
2. wytypowanie nowych genów, których mutacje mogą mieć wpływ na wystąpienie i stopień objawów choroby (geny sprawcze, współsprawcze i modyfikujące fenotyp).
3. oszacowanie udziału podtypów LGMD i MFM wśród chorych z miopatiami w populacji polskiej.
4. wskazanie możliwych elementów nowego podziału MFM i LGMD, opartego na wskazaniu nowych elementów biochemicznych i strukturalnych, mogących leżeć u podłoża wspomnianych chorób.

Badaniami objęto 85 chorych z 84 rodzin z klinicznym rozpoznaniem dystrofii obręczowo-kończynowej oraz 20 chorych z 11 rodzin z diagnozą miopatii miofibrylarnych. Jako kontrolę wykorzystano wyniki badań 16 pacjentów z chorobami neurologicznymi bez objawów mięśniowych, a także informacje z ogólnie dostępnych baz danych. Do sekwencjonowania eksomowego zakwalifikowano łącznie 92 przypadki dystrofii i miopatii.

Strategie filtrowania mające na celu zidentyfikowanie wariantów prawdopodobnie związanych z chorobą obejmowały: analizę danych WES poprzez powiązanie poszczególnych genów z fenotypami osłabienia mięśni, szczegółową analizę wariantów w genach ulegających

ekspresji w mięśniach, analizę wariantów w genach, których produkty białkowe należą do interaktomu badanych chorób oraz analizę wariantów liczby kopii.

Wskazanie mutacji sprawczych było możliwe w 63,5% przypadków LGMD i 83% przypadków w grupie MFM. Mutacje przeważnie identyfikowano w genach związanych dotychczas z LGMD i MFM, ale także w genach nie włączanych do obecnej klasyfikacji wspomnianych chorób (*DMD*, *COL6A2* i *COL6A3*). U czterech chorych za przyczynę choroby uznano mutacje w dwóch genach (*CAPN3* + *MYH7*, *COL6A3* + *CACNA1S*, *DYSF* + *MYH7*, *PHKB* + *CHRND*). Ponadto u wszystkich chorych stwierdzono liczne warianty w genach powiązanych z różnymi objawami chorób mięśniowych. W grupie LGMD identyfikowano średnio 35,6, a w grupie MFM 36,7 tego typu wariantów. Dodatkowo stwierdzono rzadkie warianty w obrębie genów nie wiązanych wcześniej z chorobami mięśni, ale ulegających ekspresji w mięśniach i których produkty białkowe są partnerami produktów białkowych genów już wiązanych z LGMD i MFM.

Uzyskane wyniki potwierdzają skuteczność metod sekwencjonowania nowej generacji w wykrywaniu głównych mutacji sprawczych. Liczba potencjalnych mutacji modyfikujących i przypadki w których jako sprawcze uznano mutacje w dwóch genach sugerują bardziej skomplikowane podłoże genetyczne chorób mięśniowych.

Na podstawie uzyskanych danych można zatem uznać, że LGMD i MFM lepiej definiować jako zaburzenia oligogenowe lub poligenowe, w których zmienna prezentacja kliniczna wynika z połączonych efektów mutacji w wielu genach. W tym kontekście obserwowana zmienność między przypadkami z wykrytymi tymi samymi mutacjami sprawczymi, nawet w obrębie tej samej rodziny, mogłaby odzwierciedlać specyficzne tło genetyczne i obecność różnych zestawów wariantów modyfikujących fenotyp lub wręcz wariantów współsprawczych. Jednakże wskazanie wariantów współzależnych i modyfikujących będzie wymagało bioinformatycznej analizy połączonych danych genomowych i klinicznych dużych grup etnicznie zróżnicowanych pacjentów z różnymi chorobami mięśniowymi. Przedstawione wyniki są jednym z pierwszych kroków w tym kierunku.