



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace předmětu

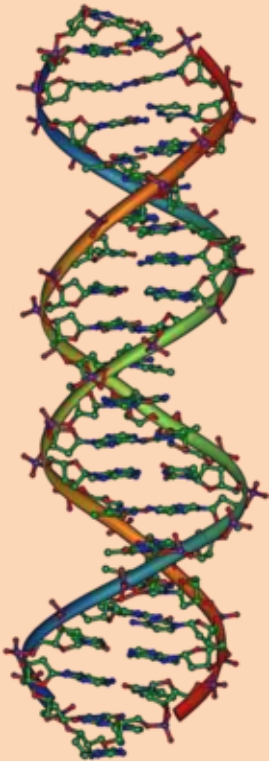
# Genetika člověka GCPSB

„Propojení výuky oborů  
Molekulární a buněčné biologie  
a Ochrany a tvorby životního  
prostředí.“

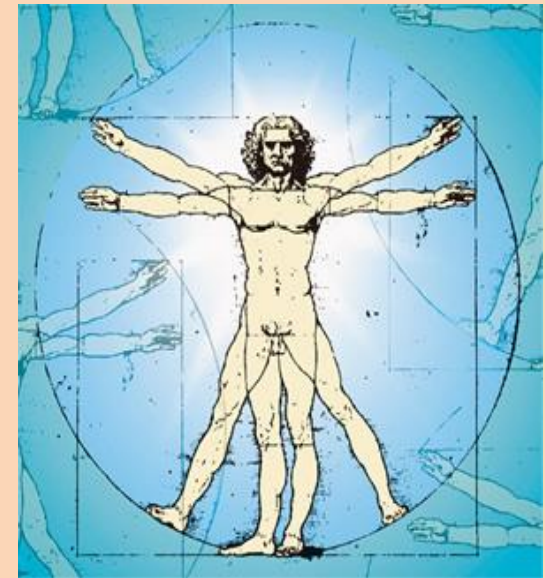
Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

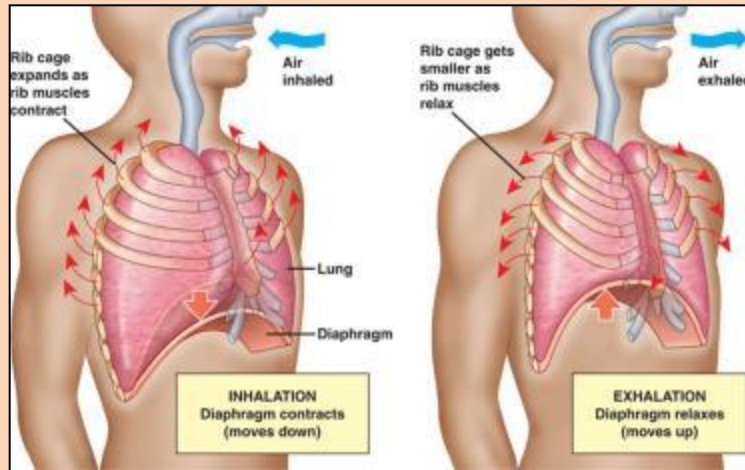
# Genetika člověka / GCPSB

## 7. Genetika svalových poruch



Radim Vrzal  
2015

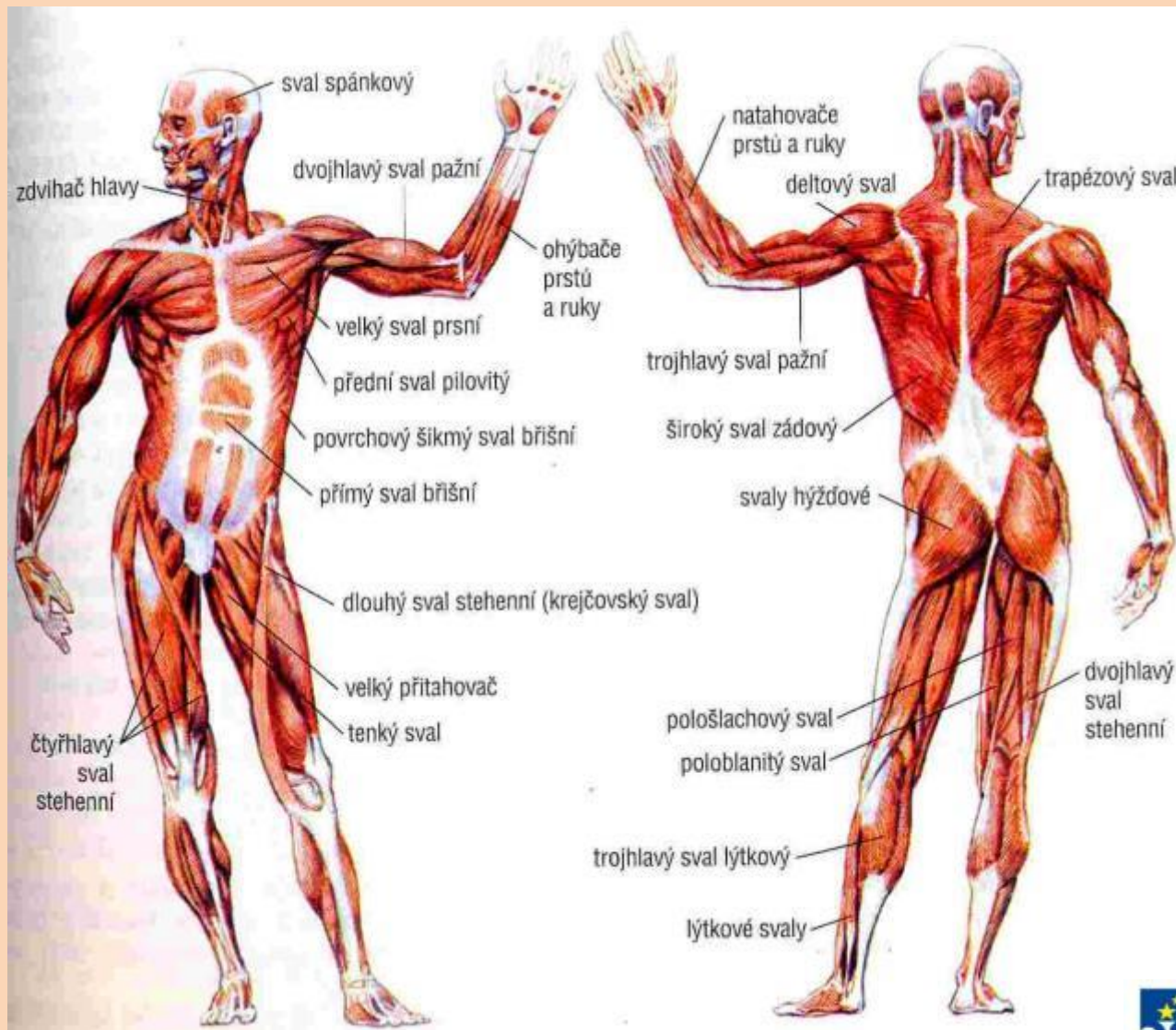




# Genetika svalových poruch



# Molekulární genetik svalových poruch



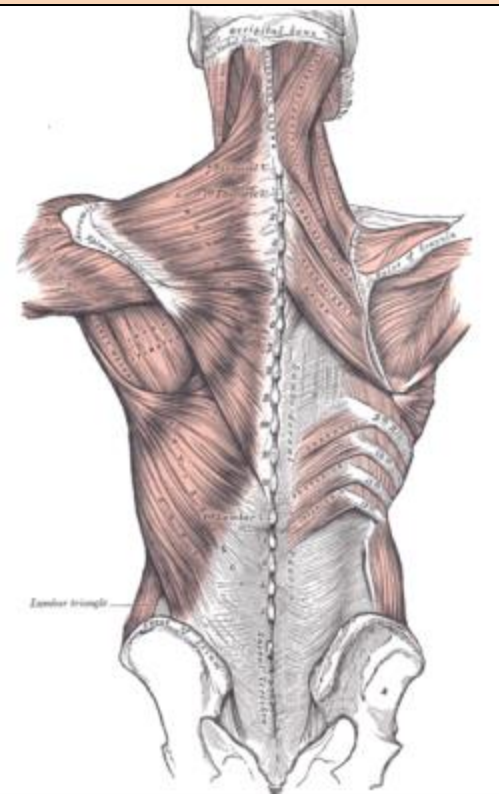
cca 650 svalů

- pohyb
- postoj
- stání na nohou
- podpora vnitřních orgánů
- produkce tepla
- uzavírání/otevírání chlopní a jiných vstupů/výstupů

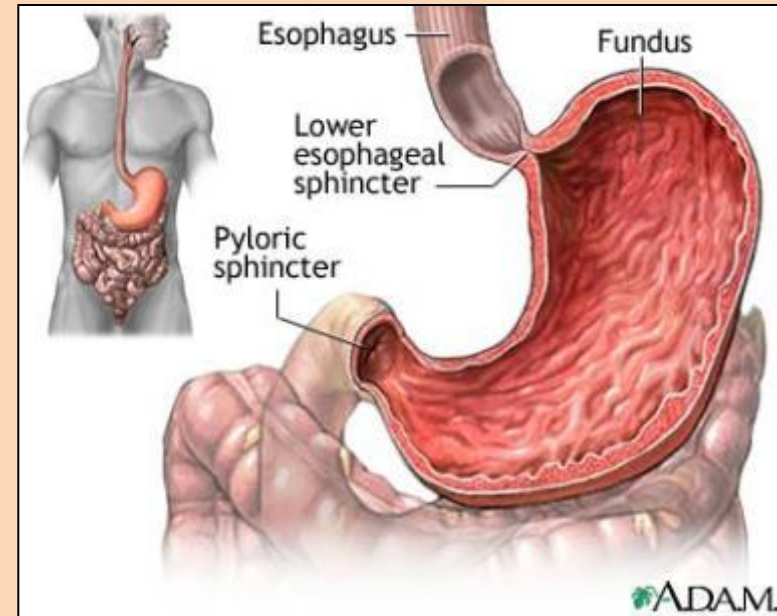
# 3 typy svalové tkáně

- kontrakce
- ovládáno nervovými pulsy

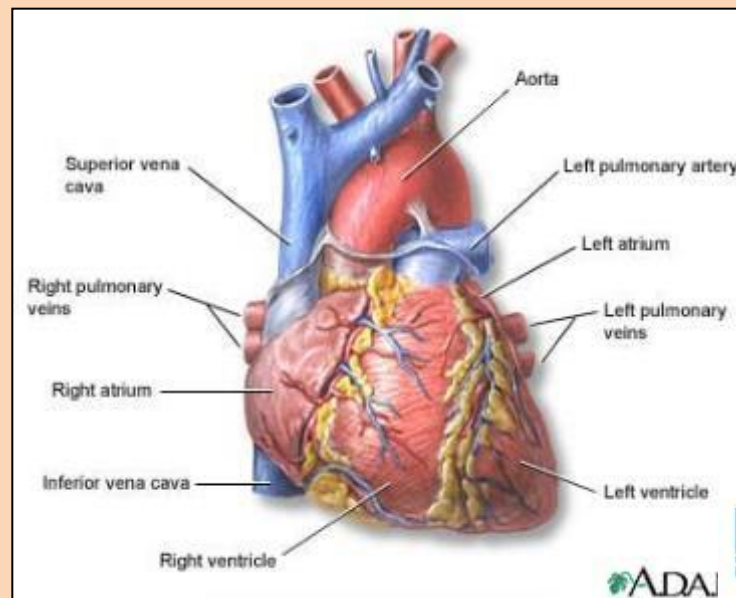
**Kosterní – zajišťuje pohyb, vůlí říditelný**



**Hladká – lemuje vnitřní orgány, reflexní**



**Srdeční – jen srdce, pumpuje krev, reflexní**

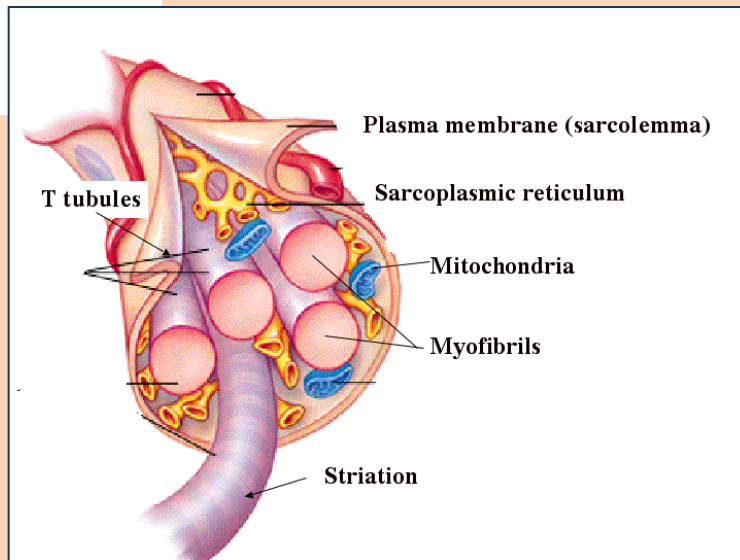
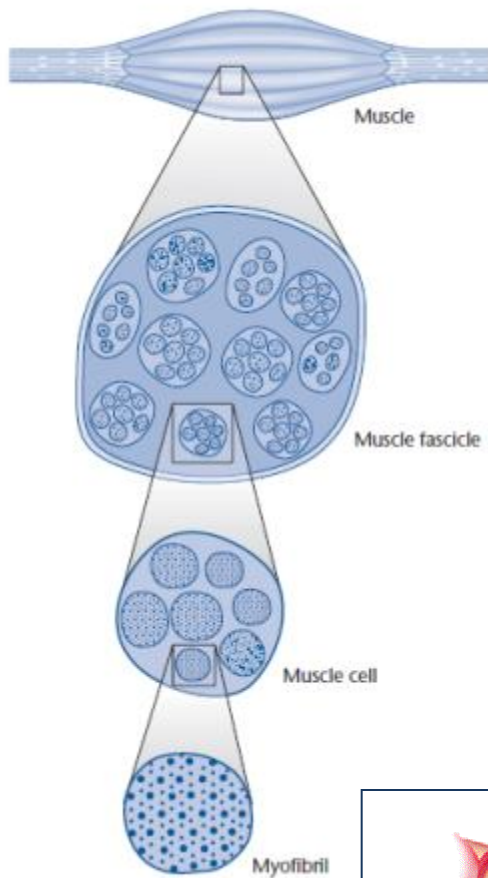


# Struktura kosterního svalu

- svalové vlákno = **shluk svalových buněk**

Svalová buňka je mnohoaderná.

Membrána = **sarkolema**  
Cytoplasma = **sarkoplasma**  
Mitochondrie = **sarkosomy**



- svalové buňky - délka až 20 cm, průměr 10 - 100  $\mu\text{m}$
- uvnitř svalové buňky – dlouhé proteinové molekuly (**myofibrily**)

# Struktura kosterního svalu

Myofibrily se skládají z **myofilament**

(proteinových řetězců)

– po histologickém barvení - světlé a tmavé

proužky = **tlustá a tenká myofilamenta**

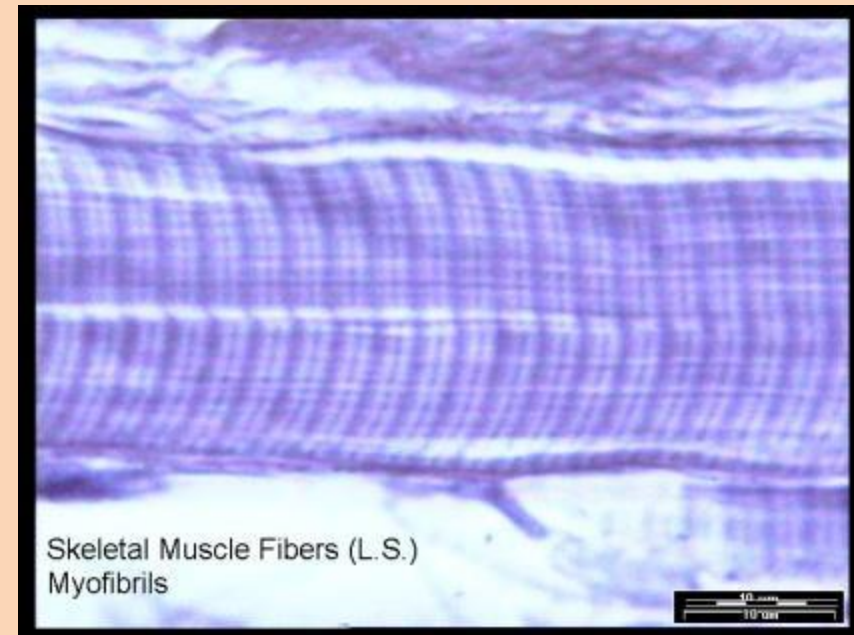
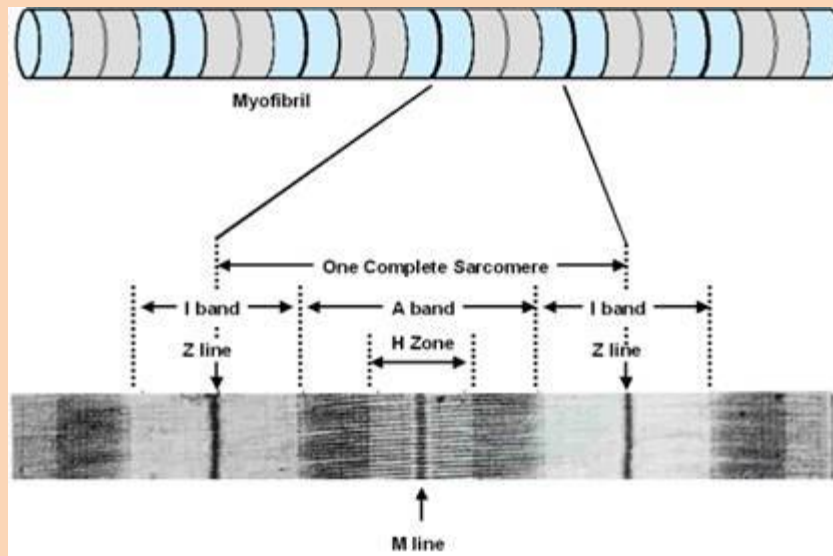
Rozdělení svalu na proužky

- A (anizotropní)

- I (izotropní)



**Žíhaný / Příčně pruhovaný vzhled**



# Základní jednotka myofibrily

- **sarkomera**

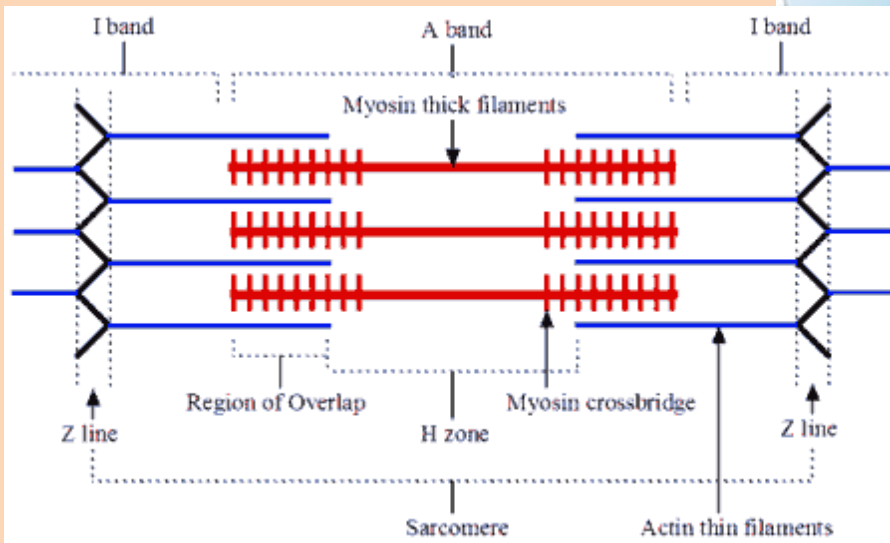
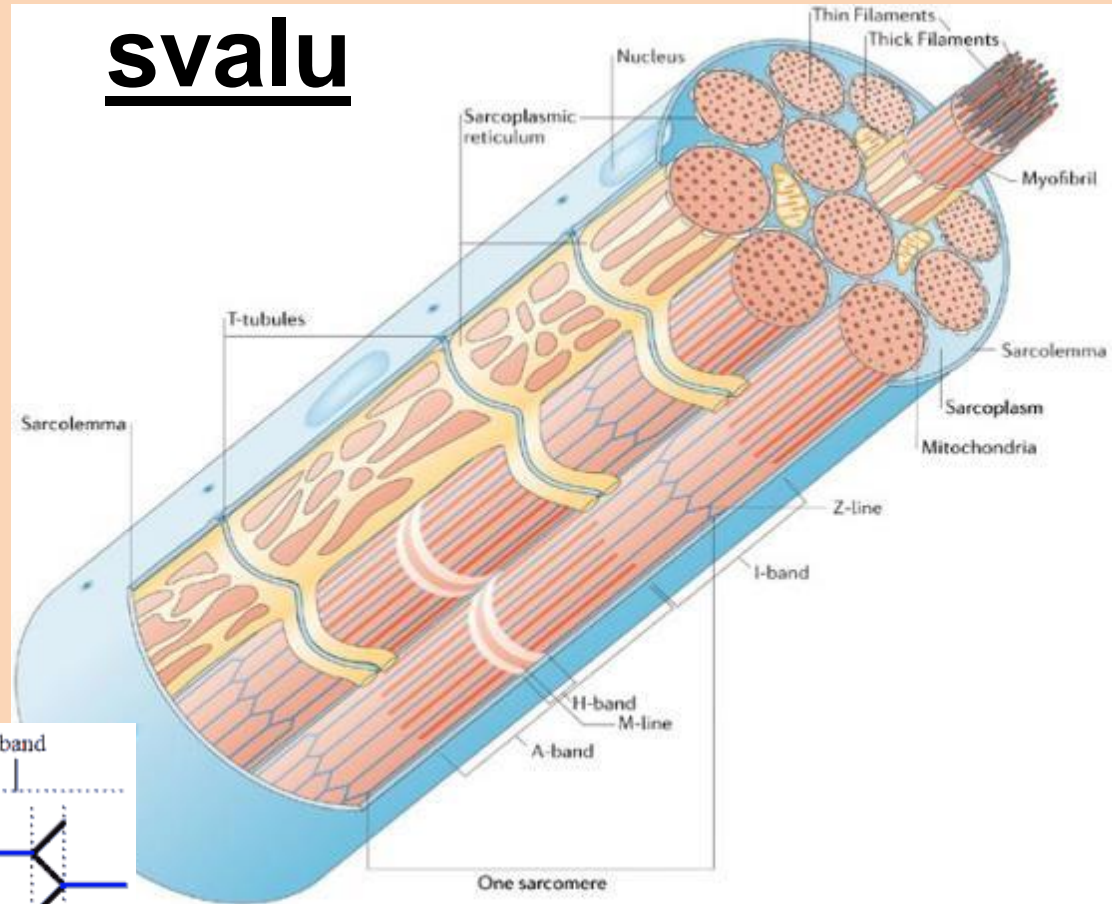
- ohraničena Z-linií (diskem)

- ukotvení **tenkých (aktinových) filament**

- paralelně **tlustá (myosinová) filamenta** – spojena M-zónou

- proužky A – zónu H – místo, kde se myofilamenta nepřekrývají

# Struktura kosterního svalu



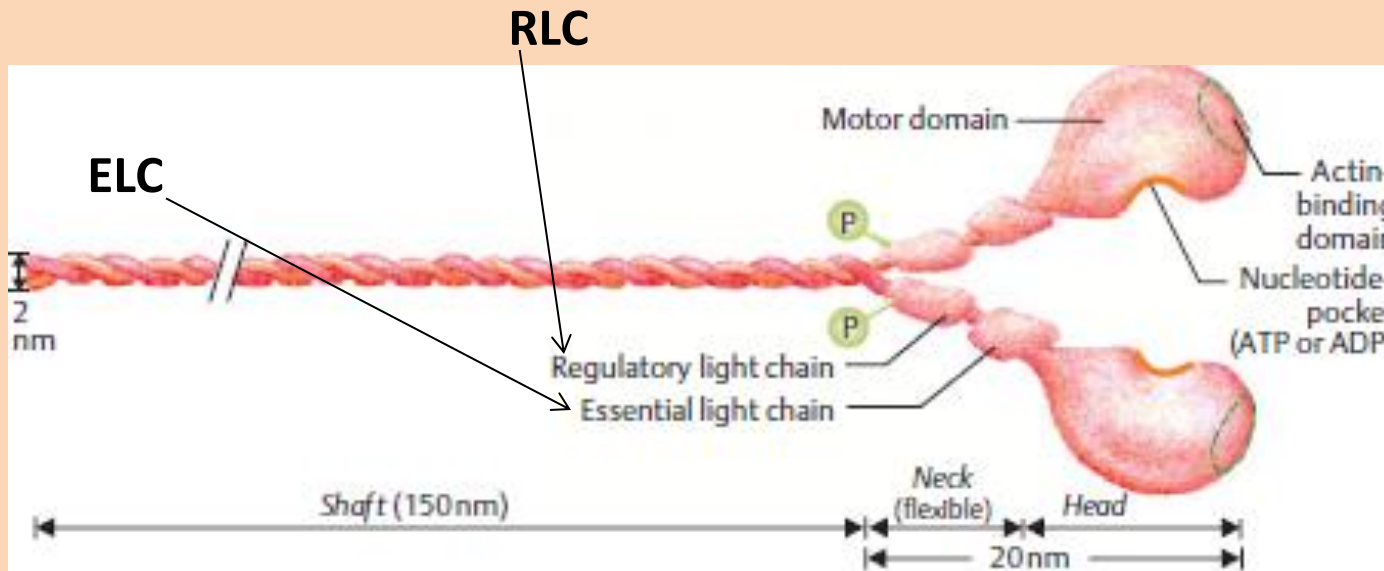
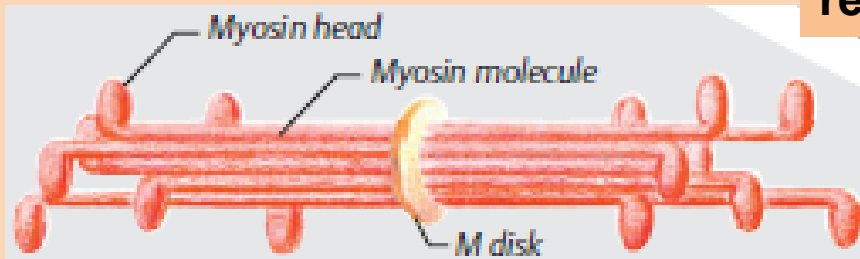


# Struktura kosterního svalu

**Thustá filamenta** se skládají z velkého počtu svázaných **myosinových** molekul seřazených v překrývajících se polích.

## Myosinové filamentum

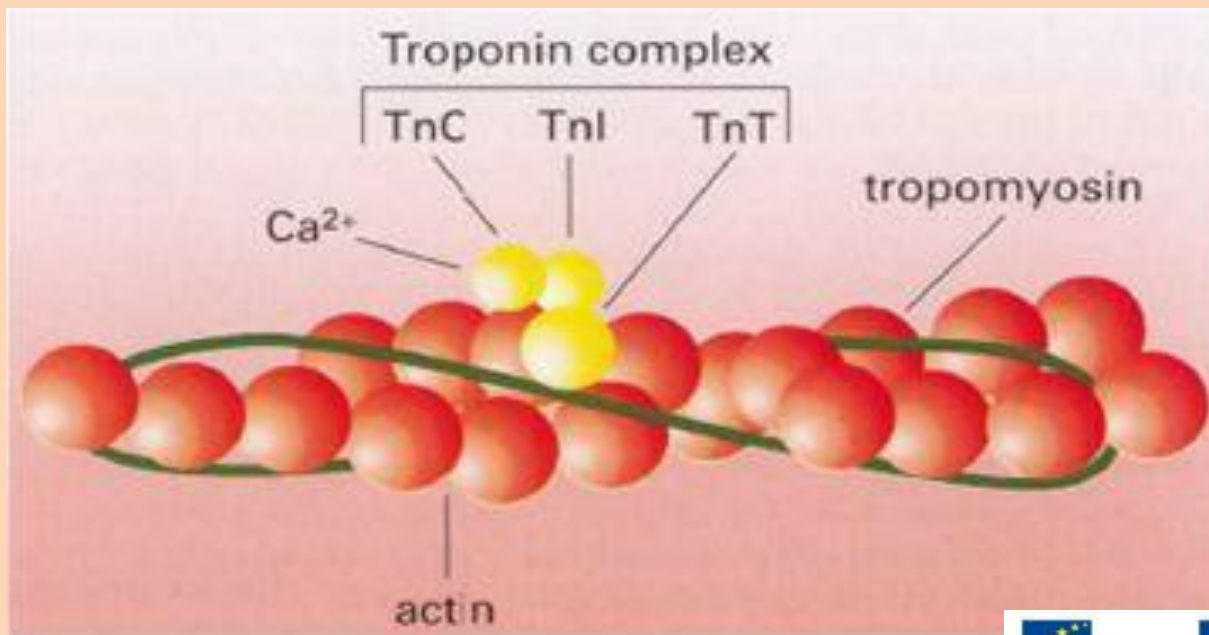
**Myosin – hexamer, 2 identické těžké řetězce, 2 páry lehkých řetězců**



# Struktura kosterního svalu

**Tenké filamentum (F-actin)** – dvoušroubovice vláknitého F-aktinu tvořeného kulovitými monomery (G-aktin)

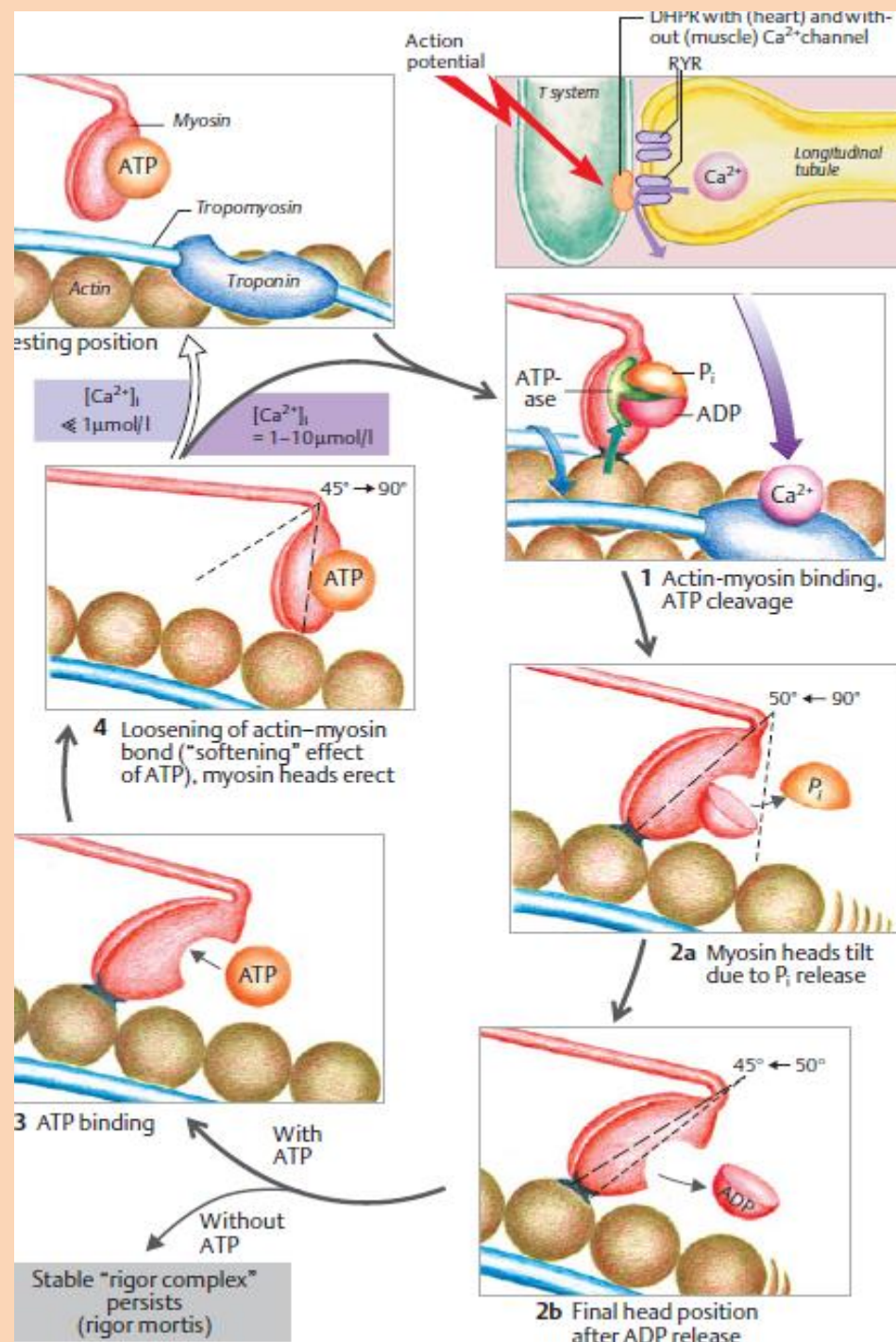
- **Tropomyosin** – vláknitý protein
- **Troponin** – 3 podjednotky
  - vazba  $\text{Ca}^{2+}$
  - vazba troponinu a tropomyosinu
  - zabraňuje interakci myosinu s aktinem v klidu



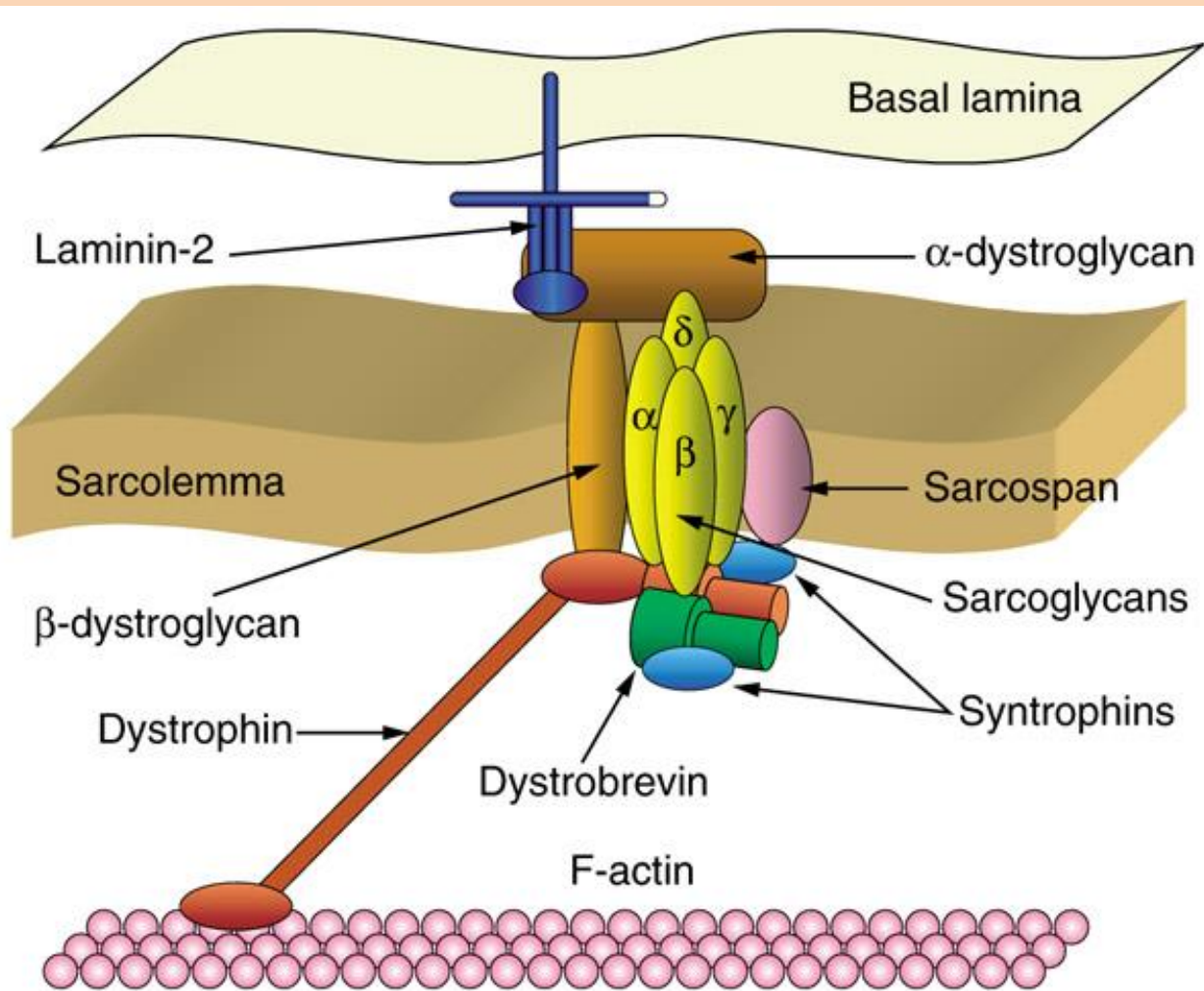
# Molekulární podstata kontrakce

- 1) Nervový signál vede ke zvýšení koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$
- 2)  $\text{Ca}^{2+}$  se váže na troponin → konformační změny – hlubší zasunutí tropomyosinu do šterbiny mezi vlákny aktinu
- 3) Zpřístupnění hlav myosinu na aktinová vazebná místa
- 4) Aktivace ATPasy – stěpení ATP ( $\text{Mg}^{2+}$ ) – konformační změna a ohnutí hlavy myosinu
- 5) Funkce páky a napětí krčku se přenese na aktin a myosin. Po uvolnění ADP – rigorový komplex

Pohyb a síla jsou důsledkem cyklické interakce myosinových hlav s aktinovými filamenty.



# Dystrofin a asociované svalové proteiny



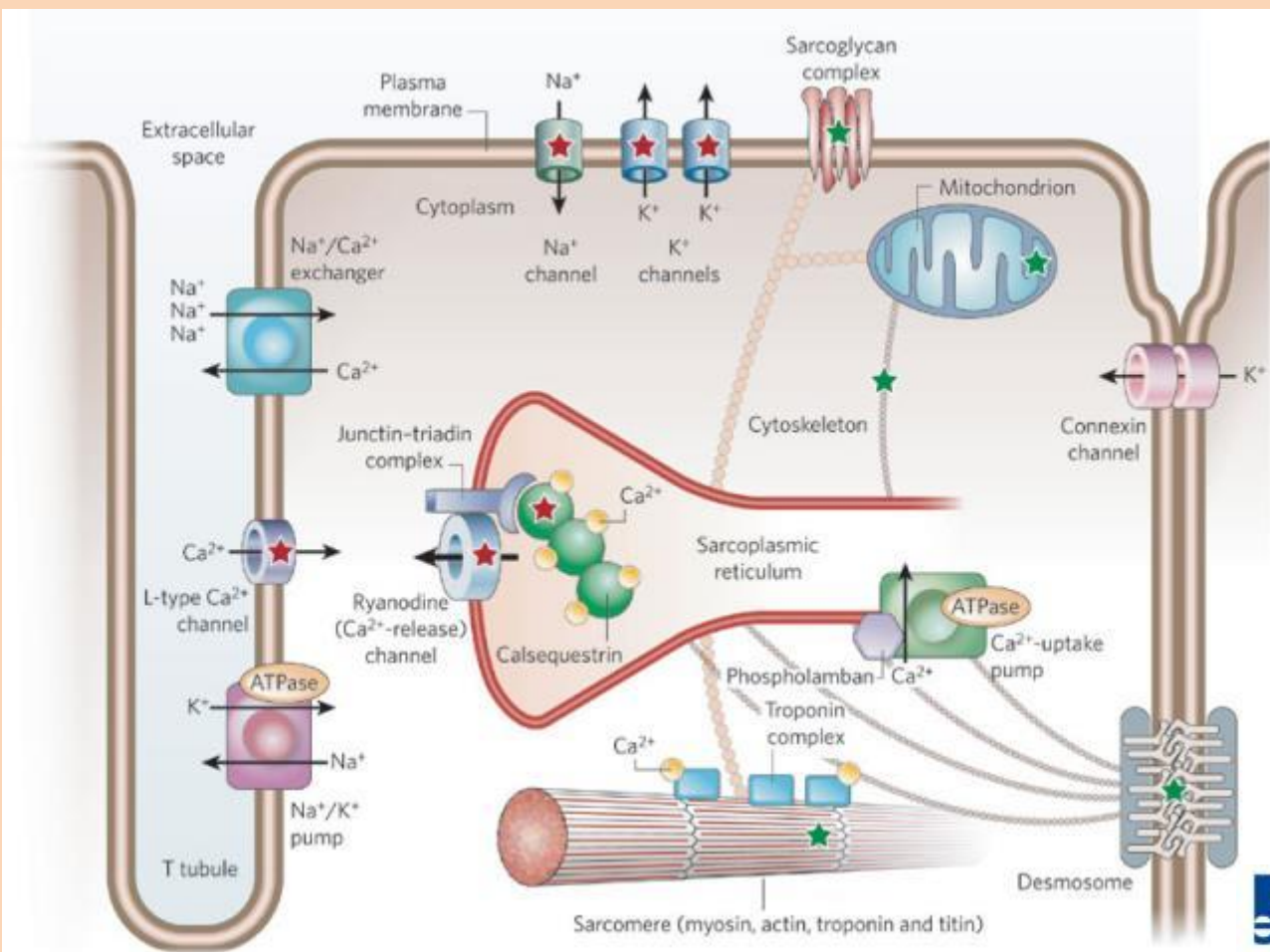
**Dystrofin**,  $\alpha$ -dystrobrevin

– most mezi vnitřním  
cytoskeletem a  
extracelulární matrix

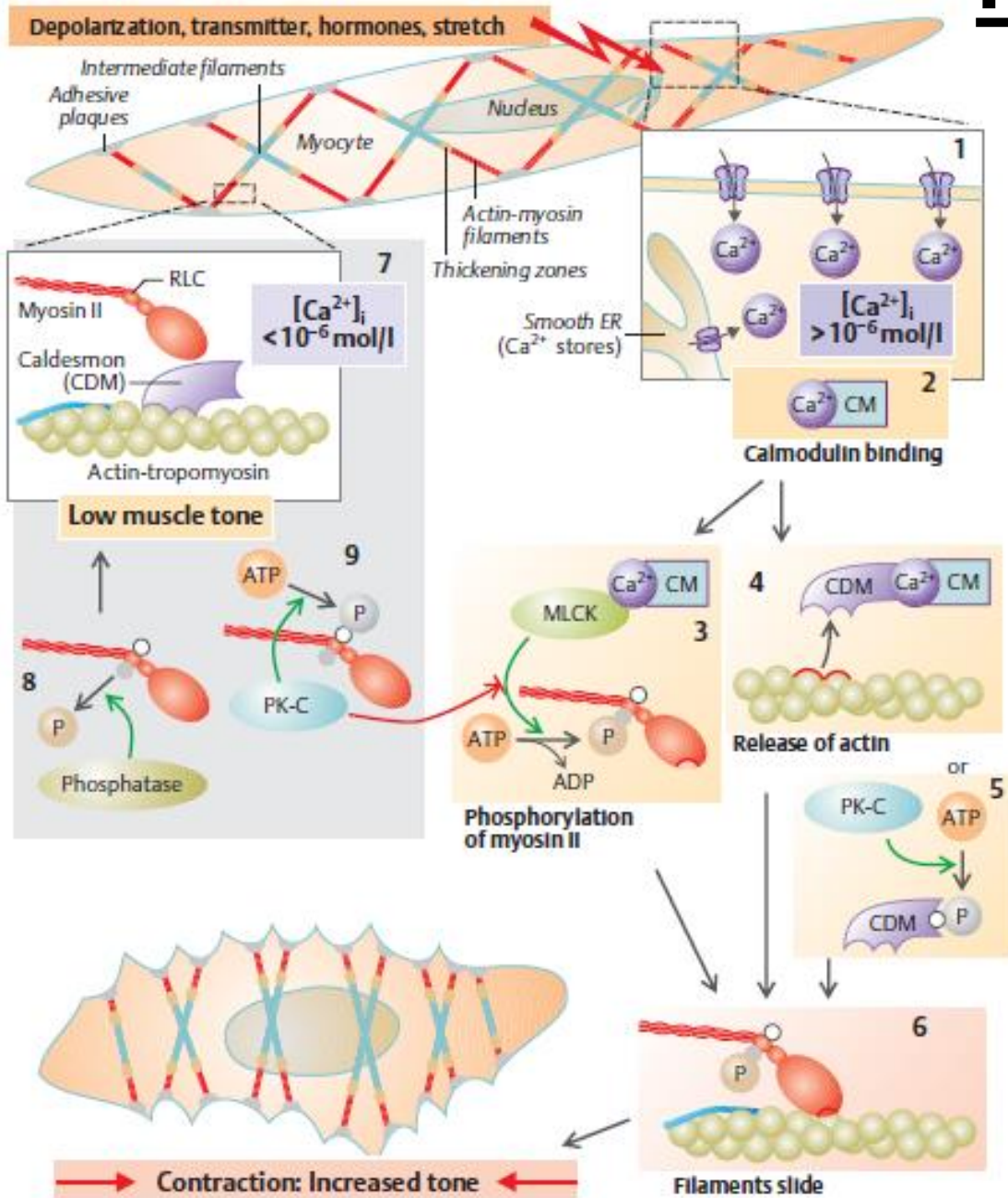
# Srdeční svalovina

**Kardiomyocyty** - v průměru 10 - 20  $\mu\text{m}$ , délka 50 – 100  $\mu\text{m}$

- jednoduché jádro
- myofibrily a proteiny svalové kontrakce - podobné jako v kosterních svalech
- mnoho proteinů kódováno specificky exprimovanými geny



# Hladká svalovina



**Dlouhé a vřetenovitě tvarované buňky**

- Obklopují krevní cévy, trávicí orgány, žaludek, měchýř, dělohu

- Myofilamenta nejsou organizována v paralelních polích

- Buňky **nemají** troponinový komplex.

- Vzájemná spojení hladkých buněk (gap junctions) umožňuje přenos depolarizace z jedné na druhou

# Dědičné svalové poruchy

- Microarray analýzy detekovaly kolem 3 500 exprimovaných genů
- Většina klinicky důležitých dědičných nemocí zahrnuje mutaci genu kódující:
  - enzym účastnící se rozkladu glykogenu/tuku
  - protein zajišťující integritu a mechanické vlastnosti svalové buňky
  - protein, který reguluje či se účastní procesu kontrakce

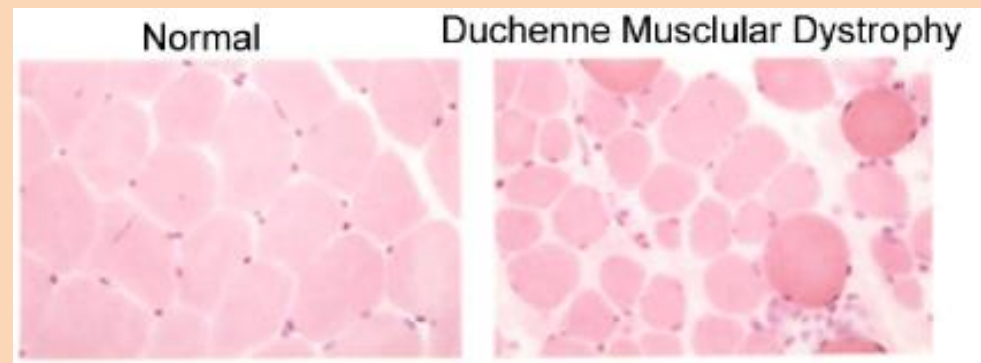
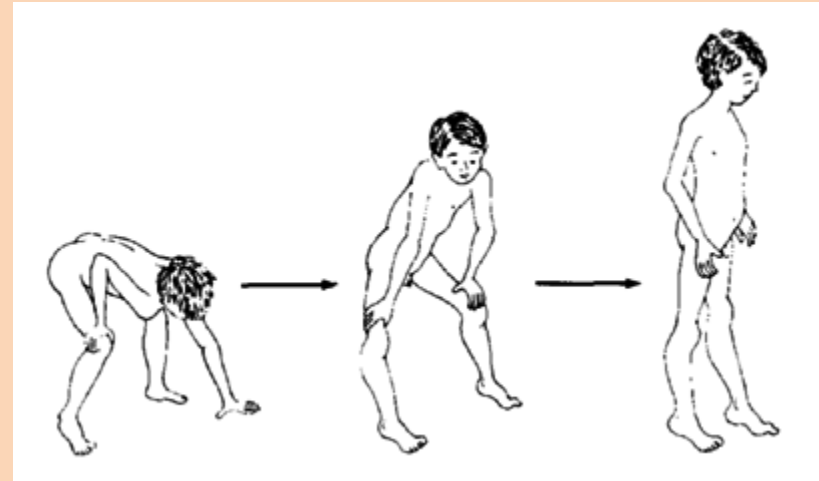
Disorder	Gene	Site	Protein activity	Onset (yr)	Symptoms
Phosphorylase deficiency; McArdle disease	<i>PYGM</i>	11q13.1	Glycogen phosphorylase; catalyzes and regulates conversion of glycogen to glucose-1-phosphate	-5-16	Exercise-induced myopathy; cramps; muscle stiffness
Acid maltase deficiency; Pompe disease	<i>GAA</i>	17q25.3	$\alpha$ -Glucosidase; breakdown of glycogen to glucose-1-phosphate	-2-20	Weakness of upper leg and arm, trunk, and respiratory muscles; enlarged liver, heart, and tongue
Phosphofructokinase deficiency; Tarui disease	<i>PFKM</i>	12q13.3	Phosphofructokinase; converts fructose-6-phosphate to fructose 1,6-bisphosphate	-5	Muscle fatigue; severe cramps; nausea, vomiting; myopathy
Debrancher enzyme deficiency; Cori or Forbes disease	<i>AGL</i>	1p21.2	Amylo-1,6-glucosidase; 4- $\alpha$ -glucanotransferase; glycogen debranching enzyme	-5	Myopathy; muscle weakness; hypoglycemia; enlarged liver
Phosphoglycerate kinase deficiency	<i>PGK1</i> <i>PGK2</i>	Xq13 6p12.3	1,3-Bisphosphoglycerate + ADP to 3-phosphoglycerate + ATP	-5-18	Muscle pain and weakness; exercise-induced myopathy
Phosphoglycerate mutase deficiency	<i>PGAM2</i>	7p13	3-Phosphoglycerate to 2-phosphoglycerate	-5-20	Muscle pain and weakness; exercise-induced myopathy
Lactate dehydrogenase deficiency	<i>LDHA</i>	11p15.1	Lactate + NAD to pyruvate + NADH	-5-20	Exercise-induced myopathy

# Duchennova muskulární dystrofie (DMD)

- **X-vázané**, recesivní, svaly vyčerpávající nemoc, ovlivňující asi 1 z 3 300 živě narozených chlapců
- Nástup je mezi 4 - 5 rokem života
- Svalová slabost v bocích, neschopnost běhat, extrémní **nárůst objemu lýtek** v důsledku akumulace kolagenu a tuku
- Svaly ramen a pánve ochabují dříve než paže a stehna
- Pacienti uvěznění na invalidní křeslo; smrt v důsledku selhání svalů plic a srdce



# Poruchy kosterních svalů





# Poruchy kosterních svalů

Charakteristický biochemický marker DMD

- zvýšená hladina **kreatin fosfokinasy (CPK)** v séru = svalová degenerace

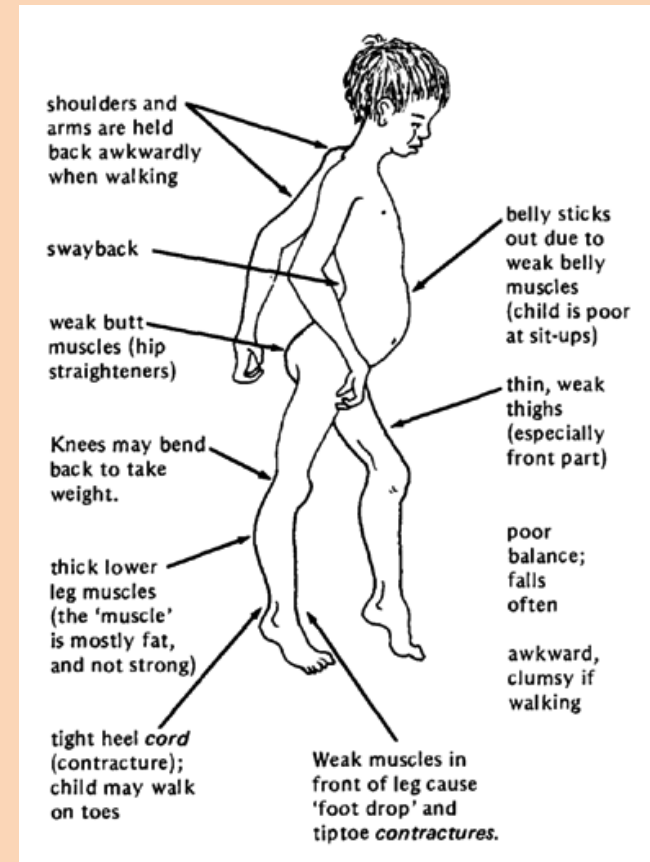
Ženy nosičky/heterozygotky

- většinou nevykazují svalovou ochablost i přes slabě zvýšenou hladinu CPK



## Beckerova muskulární dystrofie (BMD)

- mírná forma DMD, 1 : 30 000 živě narozených mužů, X-vázaná
- myopatie v pozdější etapě života, průběh nemoci variabilní
- délka života větší než pro DMD



# Poruchy kosterních svalů

DMD gen – Xp21.2 – 79 exonů, 2400 kb

- protein – **dystrofin**

- 4 funkční domény - 1. doména (N-konec) váže F-aktin
  - 2. doména tvoří většinu molekuly (9-63 exonů)
  - 3. doména váže  $\beta$ -dystroglykan
  - 4. doména váže syntrofin,  $\alpha$ -dystrobrevin, aj.

**BMD = méně vážná alelická forma DMD**

- Změny v DMD**
- mutace bazí (C3304Y) – brání vazbě dystrofinu na  $\beta$ -dystroglykan
  - duplikace exonů
  - **cca 65 % DMD - delece částí genu**
    - porušený čtecí rámec = DMD
    - **neporušený čtecí rámec = BMD** - částečně funkční protein

# Poruchy kosterních svalů

- DMD pacienti**
- deficiencie dystrofin
  - snížené i ostatní proteiny asociované s dystrofinem
  - není most mezi vnitřním kontraktilní systémem a extracelulární matrix

**Tkáňově specifické formy dystrofinu** - v mozku, srdci, Purkyňových buňkách - **pocházející z rozdílných promotorů**, každý s jedinečným prvním exonem

**Pro isoformy menší než kompletní dystrofin** - transkripty syntetizovány z 4 promotorů uvnitř intronů třetí a čtvrté dystrofinové domény

- tyto „malé dystrofiny“ se nacházejí v očních, embryonálních a nervových buňkách

# Poruchy kosterních svalů

## Muskulární dystrofie

### končetin a pasu

(limb-girdl muscular dystrophy; LGMD)

- AD/AR
- značná fenotypická variabilita
- počáteční oslabení pánve a ramen následované ztrátou svalů horních paží a stehen
- LGMD – geneticky heterogenní soubor nemocí
- 2 kategorie – **LGMD1** vs. **LGMD2**, dominantní vs. recesivní; typu přiřazeno velké písmeno dle pořadí objevu

Type	Gene	Site	Protein	Function
LGMD1A	<i>TTID</i>	5q31	Titin immunoglobulin domain protein; myotilin	Thin filament-associated Z-disk protein; binds to $\alpha$ -actinin, filamin c, and F-actin; stabilizes and anchors thin filaments
LGMD1B	<i>LMNA</i>	1q21.2	Lamins A/C	Intermediate filament of inner nuclear membrane
LGMD1C	<i>CAV3</i>	3p25	Caveolin-3	Sarcolemma component; intracellular routing; protein assembly; mediates signal transduction pathways
LGMD2A	<i>CAPN3</i>	15q15.1	Calpain-3	Intracellular protease; binds to myofibrils
LGMD2B	<i>DYSF</i>	2p13.2	Dysferlin	Sarcolemma fusion and repair
LGMD2C	<i>SGCG</i>	13q12	$\gamma$ -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2D	<i>SGCA</i>	17q21	$\alpha$ -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2E	<i>SGCB</i>	4q12	$\beta$ -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2F	<i>SGCD</i>	5q33.3	$\delta$ -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2G	<i>TCAP</i>	17q12	Titin cap protein; telethionin	Thin filament-associated Z-disk protein; substrate for titin kinase
LGMD2H	<i>TRIM32</i>	9q33.2	Member of tripartite motif family	Possibly, enzymatic addition of ubiquitin to proteins (E3-ubiquitin ligase)
LGMD2I	<i>FKRP</i>	19q13.3	Fukutin-related protein	Glycosylation of $\alpha$ -dystroglycan; possibly phospholigand transferase
LGMD2J	<i>TTN</i>	2q31.2	Titin	Very large skeletal muscle protein (3700 kDa) with binding sites for many muscle proteins; component of thick filaments

# Poruchy kosterních svalů

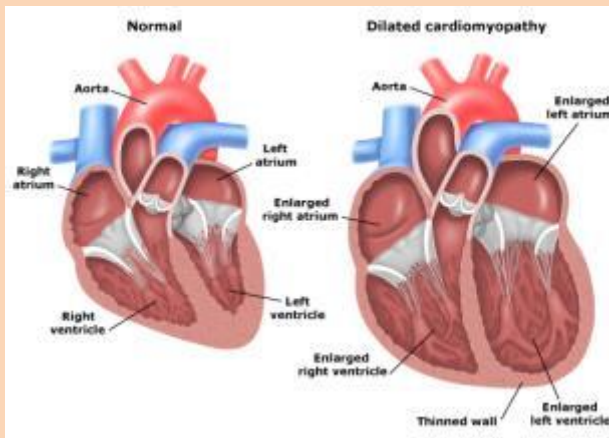
## LGMD

- **mutace rozličných genů produkují stejný fenotyp** – jakýkoliv člen souboru tkáňově specifických interagujících produktů genů je defektní
- **mutace jednoho genu je v některých případech zodpovědná za odlišné poruchy**

např. LGMD1B – mutace v LMNA genu - dilatační kardiomyopatie (CMD1A) či syndromu Hutchinson-Gilfordova předčasného stárnutí



3D rekonstrukce z CT skanu zdravé osoby (vlevo) a osoby postižené LGMD (vpravo)



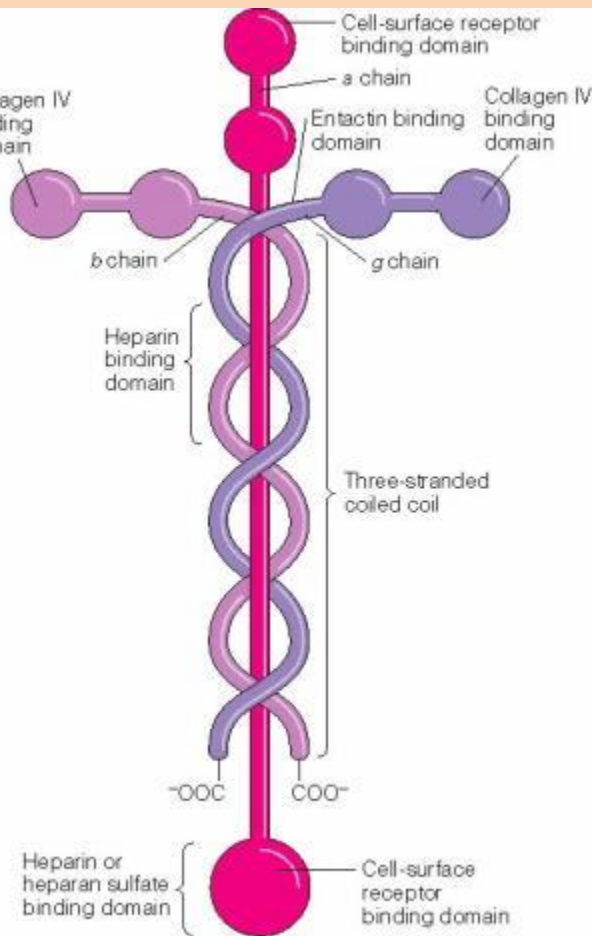
# Poruchy kosterních svalů

## Vrozená muskulární dystrofie (CMD)

- klinicky a geneticky heterogenní, AR, ovlivňuje svaly novorozeňat, u některých dětí způsobuje poškození mozku a nervů
- **svaly permanentně napjaté a oslabené**, klouby deformované jako následek dlouhodobé kontrakce
- **variace ve velikosti svalových buněk a velká množství extracelulární tkáně**

Laminin-2 - heterotrimer = těžký řetězec ( $\alpha 2$ ) a dva lehké ( $\beta 1/\gamma 1$ )

- ve svalech se laminin  $\alpha 2$  váže na  $\alpha$ -dystroglykan a extracelulární matrix
- $\frac{1}{2}$  narozených s CMD má nedostatek  $\alpha 2$  podjednotky (*LAMA2* - 6q2) – většina mutací způsobuje zkrácení proteinu
- laminin  $\alpha 2$  – syntéza svaly, neurony
- mechanismus není znám



# Poruchy kosterních svalů

Proteiny genů asociovaných s rozličnou formou CMD:

- vazba sarkolemy a extracelulární matrix (LAMA2)
- tvoří součást matrix (COL6A1)
- množství glykosylovaných  $\alpha$ -dystroglykanů (FCMD), aj.

Disorder	Gene	Site	Protein	Function
Laminin $\alpha$ 2 deficient-CMD (MDC1A)	<i>LAMA2</i>	6q22.33	$\alpha$ 2 Subunit of laminin-2	Links $\alpha$ -dystroglycan to extracellular matrix
Fukuyama CMD	<i>FCMD</i>	9q31.1	Fukutin; phosphoryl ligand transferase	Glycosylation of $\alpha$ -dystrophin and possibly other muscle cell proteins
Integrin $\alpha$ 7 deficiency	<i>ITGA7</i>	12q13.2	Integrin $\alpha$ 7	Subunit of integrin $\alpha$ 7 $\beta$ 1; sarcolemma protein binds to extracellular matrix
Muscle-eye-brain disease	<i>POMGnT1<sup>a</sup></i> ( <i>MGAT1.2</i> )	1p34-p33	O-mannose $\beta$ 1,2-N-acetylglucosaminyltransferase	O-mannosylation
Walker Warburg syndrome	<i>POMT1</i>	9q34.13	Protein O-mannosyl transferase	O-mannosylation
Rigid spine syndrome	<i>SEPN1</i>	1p36.13	Selenoprotein N	Possibly prevents oxidant damage
MDC1C	<i>FKRP</i>	19q13.3	Fukutin-related protein; phosphoryl ligand transferase	Glycosylation of $\alpha$ -dystrophin and possibly other muscle cell proteins
MDC1D	<i>LARGE</i>	22q12.3	Glycosyltransferase	Glycosylation of muscle protein(s)
Ullrich syndrome 1	<i>COL6A1</i>	21q22.3	$\alpha$ 1 collagen chain of collagen VI	Component of extracellular matrix
Ullrich syndrome 2	<i>COL6A2</i>	21q22.3	$\alpha$ 2 collagen chain of collagen VI	Component of extracellular matrix
Ullrich syndrome 3	<i>COL6A3</i>	2q37.3	$\alpha$ 3 collagen chain of collagen VI	Component of extracellular matrix

<sup>a</sup>Not an approved gene symbol.

# Poruchy kosterních svalů

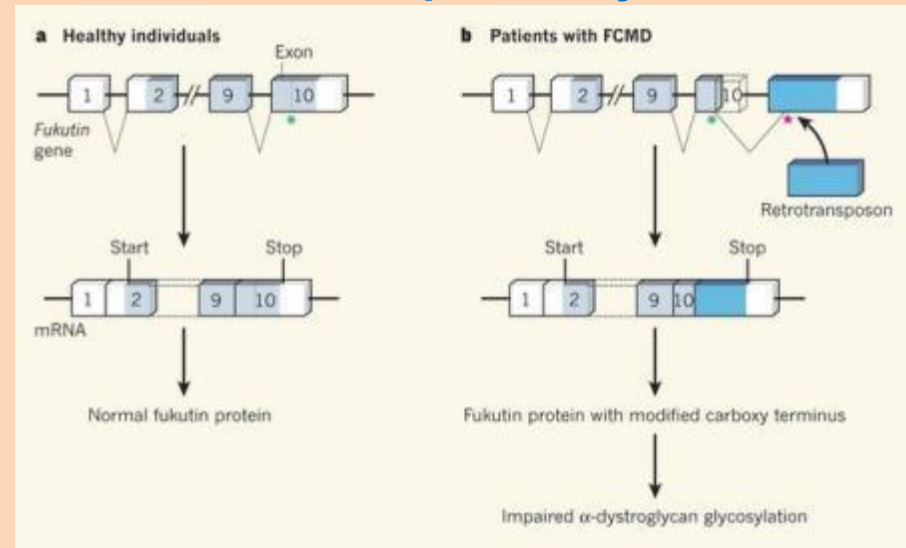
## Fukuyama-typ CMD (FCMD)

- 9q31.1 – vážná CMD s poruchami nervového systému (mentální retardace)
  - délka života zřídka delší než 20 let
  - 1 : 10 000 – na živě narozených Japonců
  - cca 80 % japonské populace nese mutaci v **FCMD** genu
  - retrotransposomální 3-kb **insert** uvnitř 3'-nepřekládané oblasti FCMD genu
    - znak 3-kb insertu FCMD genu = **hexanukleotid opakovaný 41x**

- protein FCMD genu = **fukutin** – exprimován v mozku, kosterním svalstvu, srdci, pankreatu

- u postižených jedinců nelze nalézt mRNA → **3-kb insert vytváří nové splicingové místo = špatný sestřih mRNA**

- fukutin (protein Golgiho aparátu) má **glykosylační** aktivitu a pravděpodobně modifikuje  $\alpha$ -dystroglykan



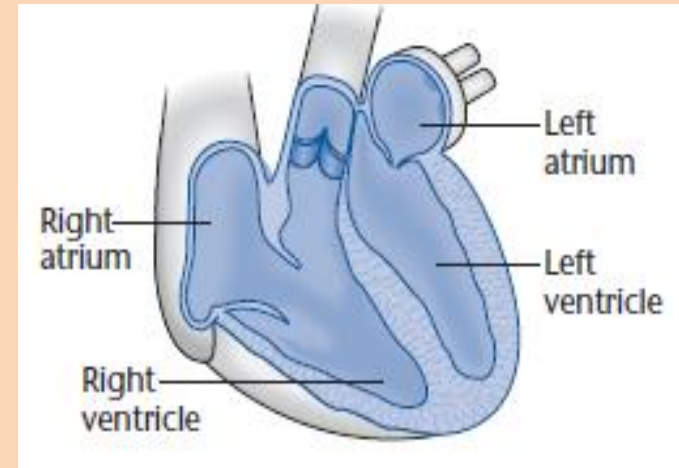


# Poruchy svalů srdce

Lidské srdce – síně a komory – komory jsou ze silné svaloviny, zejména levá komora

## Dilatační kardiomyopatie (DCM)

- nemoc srdečního svalu (myokardu)
- **zvětšení komor, zúžení stěn**, ztráta kontraktility srdečního svalu; oslabující, často fatální s okamžitým následkem smrti; hlavní příčina vedoucí k transplantaci srdce



DCM je konečný výsledek mnoha rozdílných stavů.

- cca 50 % případů – **obstrukce v koronálních arteriích**, virální infekce, nutriční deficience, myokardiální toxiny (alkohol)
- ostatní příčiny – idiopatické – u některých pacientů porucha elektrické vodivosti srdce

# Poruchy svalů srdce

Gene	Site	Protein	Function
ACADM	1p31.1	Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase	Oxidation of stored medium-chain fatty acids
CPT2	1p32.3	Carnitine palmitoyltransferase II	Transports long-chain fatty acids to mitochondria

## Dilatační kardiomyopatie (DCM)

- AR, AD, GR typ dědičnosti
- AR – řídké, kardiomyopatie jako minoritní symptom celkového fenotypu – mutace jaderných genů podílejících se na tvorbě energie z FA - úbytek ATP oslabí rozsah svalové aktivity (např. deficiencie **CPT2**) – výskyt kardiomyopatie spolu s ostatními komplikacemi jako nízká glukosa (hypoglykemie), zvracení, koma
- AD + GR – myopatie hlavní fenotypický projev

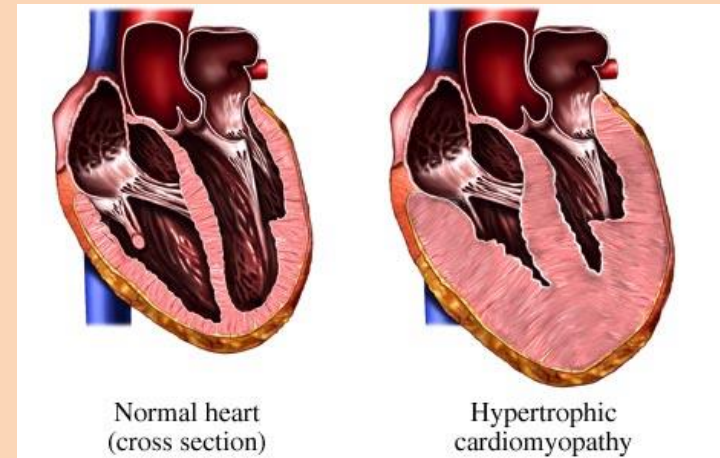
TTN (CMD1G)	2q31	Titin	Associated with myosin filaments and attached to Z disk
TAZ (G4.5, CMD3A)	Xq28	Tafazzin	Unknown
ACTC	15q14	Cardiac muscle $\alpha$ -actin	Thin filament
DMD	Xp21.2	Dystrophin	Dystrophin-glycoprotein complex
LMNA	1q22	Lamins A/C	Component of inner nuclear membrane
TNNT2 (CMD1D)	1q32	Cardiac troponin T	Thin filament
DES (CMD1D)	2q35	Desmin	Cytoskeleton
SGCD	5q33.3	$\delta$ -Sarcoglycan	Sarcolemma transmembrane glycoprotein
TPM1	15q22.2	$\alpha$ -Tropomyosin	Thin filament
MYBPC3	11p11	Cardiac myosin binding protein C	Thick filament
MYH7	14q12	$\beta$ -Myosin heavy chain	Thick filament

# Poruchy svalů srdce

## Hypertrofická kardiomyopatie (HCM)

- smrtelné AD onemocnění srdce s výskytem 1 : 5 000 - znakem nemoci je nezvykle **zvětšená stěna levé komory** → snížení objemu komory
- svalové buňky jsou zvětšené a dizorganizované
- HCM je zodpovědná za náhlou smrt cca 35 % atletů
- cca 60 % HCM – rodinná podstata – fenotyp variabilní s rozdílnými výstupy uvnitř jedné rodiny
- vysoká genetická heterogenita – ovlivněny proteiny specifické pro srdce

Gene	Site	Protein	Function
MYH7	14q11.2	Cardiac $\beta$ -myosin heavy chain	Thick filament
MYBPC3	11p11.2	Cardiac myosin-binding protein C	Thick filament
MYH6	14q11.2	Cardiac $\alpha$ -myosin heavy chain	Thick filament
MYL3	3p21.31	Essential myosin light chain, ventricular isoform	Thick filament
MYL2	12q24.11	Cardiac regulatory myosin light chain	Thick filament
TTN	2q31.2	Titin	Thick filament
ACTC	15q14	Cardiac actin	Thin filament
TNNT2	1q32.1	Cardiac troponin T	Thin filament
TPM1	15q22.2	$\alpha$ -Tropomyosin	Thin filament
TNNI3	19q13.42	Cardiac troponin I	Thin filament
CSRP3	11p15.1	Cardiac LIM protein	Cytoskeleton; sarcomere stabilization



Většinou jako AD → defektní protein brání správnému seskupení filament

→ buňky dizorganizované

→ hypertrofie

# Závěr

**Zdravé →  
a  
srdce nejen  
dlani.**



**svaly  
na**