

# Kongenitální myastenické syndromy diagnostikované v dospělém věku

Michala Jakubíková

Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN v Praze  
Centrum pro diagnostiku a terapii myasthenia gravis

**Úvod:** Kongenitální myastenické syndromy (KMS) jsou skupinou vzácných hereditárních onemocnění nervosvalového přenosu. Manifestují se většinou hned po narození nebo do druhého roku života fluktuující svalovou slabostí.

**Cíl:** Cílem této práce je objasnit diagnostická kritéria pro KMS v dospělém věku, které nebyly diagnostikovány v dětství, a definovat terapeutický algoritmus u jednotlivých typů KMS. Současně jsme chtěli poukázat na velmi zdoluhavou cestu k diagnóze u našich dvou pacientek, u kterých se myastenická symptomatika manifestovala v raném dětském věku a přesto byla diagnóza KMS stanovená až v dospělosti.

**Metodika:** Cílená masivní paralelní sekvenace exonů a přilehlých intronových oblastí genů spojených s KMS (ARGN, COLQ, DOK7, CHAT, CHRNA1, CHRN1, CHRND, CHRNE, CHRNG, LAMB2, MUSK, RAPSN, SCN4A).

**Výsledky:** U dvou dospělých žen neromského etnika byly molekulárně genetickým vyšetřením prokázány dvě různé podjednotky KMS a to synaptického a postsynaptického typu. Jedná se o automozomálně recesivní formy KMS. U první pacientky jsme prokázali homozygotní mutaci c.1082delC v COLQ genu, která vede k deficienci acetylcholinesterázy. U druhé pacientky se prokázala DOK-7 limb-girdle myasthenia na základě nálezu složené heterozygocie v genu DOK-7 (mutace c.1124\_1127 a c.532). U těchto dvou vzácných forem KMS se nyní považuje salbutamol za lék 1. volby vzhledem k minimalizaci jeho nežádoucích účinků v porovnání s dřívější léčbou efedrinem.

**Závěr:** Molekulárně genetická analýza vedla k stanovení diagnózy na základě které byla cílena specifická symptomatická terapie, co následně vedlo k výraznému zlepšení zdravotního stavu pacientek včetně zlepšení kvality jejich života. Tato terapie se u jednotlivých podjednotek KMS může i výrazně lišit, proto je přesné stanovení diagnózy konkrétního typu KMS velice důležité. Čím více chápeme genové funkce, které jsou základem KMS, tím větší jsou šance na identifikaci nových způsobů léčby této vzácné poruchy.

**Klíčová slova :** kongenitální myastenický syndrom, DOK-7 mutace, COLQ mutace, CHRNE mutace, nervosvalová ploténka, inhibitory acetylcholinesterázy, salbutamol

## Congenital myasthenic syndromes diagnosed in adulthood

**Introduction:** Congenital myasthenic syndromes (CMS) are a group of rare hereditary diseases of neuromuscular transmission. They usually manifest with fluctuating muscle weakness after birth or until the second year of life

**Objective:** The aim of this work is to clarify the diagnostic criteria for CMS in adulthood (which were unknown in childhood) and to define the therapeutic algorithm for individual types of CMS. At the same time, we wanted to point out a very long way to right diagnosis in our two patients, in whom CMS was diagnosed in their quite late adulthood, although myasthenic symptoms were manifested in early childhood.

**Methods:** Targeted massive parallel sequencing of exons and adjacent intronic regions of CMS-associated genes (ARGN, COLQ, DOK7, CHAT, CHRNA1, CHRN1, CHRND, CHRNE, CHRNG, LAMB2, MUSK, RAPSN, SCN4A).

**Results:** In two adult women of non-gipsy ethnicity were detected two different types of CMS - synaptic and postsynaptic - by molecular genetic examination, both autosomal recessive forms of CMS. In the first patient, we demonstrated a homozygous mutation c.1082delC in the COLQ gene, which leads to acetylcholinesterase deficiency. In the second patient, DOK-7 limb-girdle myasthenia was detected based on the finding of compound heterozygosity in the DOK-7 gene (mutations c.1124\_1127 and c.532). For these two rare forms of CMS, salbutamol is now considered as the first choice treatment due to the minimization of its side effects compared to previous treatment with ephedrine.

**Conclusion:** Molecular genetic analysis led to the right diagnosis and after that specific symptomatic therapy was targeted, which led to a significant improvement in the condition of patients, including an improvement in their quality of life. This therapy can differ significantly for individual CMS subunits, so accurate diagnosis of a particular type of CMS is very important. The more we understand the gene functions underlying CMS, the greater are the chances of identifying novel treatments for this rare disorder

**Keywords :** congenital myasthenic syndrome, DOK-7 mutation, COLQ mutation, CHRNE mutation, neuromuscular junction, acetylcholinesterase inhibitors, salbutamol

Neurologia 2021; 16 (1): 13-19

## Úvod

Kongenitální myastenické syndromy (KMS) jsou skupinou vzácných hereditárních onemocnění nervosvalového přenosu. Ve většině případů se jedná o dědičnost autozomálně recesivní. Po identifikaci mutací genů kódujících subjednotky nikotinového acetylcholinového receptoru (AChR) byly následně identifikovány další kandidátní geny, které kódují membránové

proteiny nebo enzymy lokalizované presynapticky, synapticky nebo postsynapticky<sup>(1,2,3,4,5)</sup>.

Dosud je známo 11 různých typů KMS a v budoucnosti lze předpokládat objasnění genetické podstaty i u dalších typů KMS<sup>(5)</sup>. Konkrétní genetické mutace jsou zatím identifikovatelné pouze u 60% pacientů s KMS<sup>(6)</sup>.

I když společným rysem všech KMS je ponámahová slabost kosterního svalstva, klinický obraz je velmi různorodý. Toto onemocnění se manifestuje většinou po narození nebo v prvním roce života fluktuující svalovou slabostí zahrnující svalstvo končetinové, trupové, bulbární, respirační, faciální a extraokulární. Na rozdíl od autoimunitní myasthenie gravis (MG) nejsou prokazatelné žádné definované protilátky v krvi pacienta (anti AChR, anti MuSK, anti Lrp4).

Prognóza této skupiny chorob je velmi variabilní a závisí na konkrétním podtypu KMS na podkladě jeho patofyziologického mechanismu. Neurologická symptomatika u některých typů KMS progreduje velmi rychle a může vést k život ohrožujícím krizím s apnoe a hypoxií CNS.

Jedná se o onemocnění převážně dětského věku, ale jsou popsány případy, kdy došlo k objevení příznaků svalové slabosti v adolescentním věku<sup>(4)</sup>. Velmi mnoho nepoznaných KMS se skrývá pod diagnózami myopatií nejasného významu a různých jiných geneticky nepodložených dystrofinopatií a proto je velmi důležité na tuto diagnózu myslet i v dospělém věku v rámci širší diferenciální diagnostiky svalové slabosti, kdy ale mohou být matoucí sekundární myopatické změny, které se vyskytují po delším trvání neléčené nemoci.

Dnes jsou již konkrétně definovány různé defekty presynaptických, synaptických nebo postsynaptických proteinů nervosvalové ploténky<sup>(7)</sup>. Mezi presynaptické defekty patří snížení počtu synaptických vezikul nebo poruchy v resyntéze acetylcholinu (ACh). Synaptické poruchy zahrnují defekty enzymu synaptické štěrbiny- acetylcholinesterázy (AChE), která hydrolyzuje ACh na cholin a acetyl-koenzým A. Postsynaptické defekty jsou většinou na podkladě strukturálních nebo kinetických abnormalit AChR nebo méně často různých proteinů a enzymů, které jsou zahrnuty do kaskády normálního utváření synapse, napětově-řízených kanálů nebo při shlukování AChR.

Cílem této práce je objasnit diagnostická kritéria pro KMS dospělém věku, které v dětství nebyly diagnostikovány a následně definovat terapeutický algoritmus u jednotlivých subtypů KMS

## Kazuistiky

### Kazusitika č. 1

Žena, ročník 1981, byla odeslána do našeho Centra pro diagnostiku a léčbu myasthenia gravis na Neurologické klinice 1. LF UK a VFN v Praze k superkonziliárnímu vyšetření pro nervosvalové onemocnění nejasné etiologie. Jedná se o pacientku kavkazského etnika. V rodině se nervosvalové ani jiné dědičné onemocnění nevyskytlo.

Porod byl v termínu, bez komplikací, dýchala spontánně. Hned po porodu byla nápadná porucha sání, málo plakala, byla hypoaktivní dítě. Opakované stavy neprospívání při malém příjmu potravy vedly k nutnosti parenterální výživy v kojeneckém a batolecím věku. Od narození byla patrna ptóza oboustranně. Při febrilních v rámci častých infekcí horních dýchacích cest v kojeneckém a batolecím věku měla časté apnoické pauzy s periorální cyanózou.

Ve 3 letech měla protrahovanou respirační insuficienci s nutností několikátýdenní umělou plicní ventilaci, uzavíráno jako nejasná epizoda bezvědomí s přechodným edémem mozku při febrilních křečích v souvislosti s očkováním proti spalničkám. Přechodně asi 5let brala antiepileptika a diazepam (2x2mg/

denně) – v průběhu užívání rodina nepozorovala zhoršování ptózy nebo dušnosti.

Motorický vývoj byl celkově opožděn, seděla ve 14. měsících, chodila po dovršení 19. měsíce. Nadále byla sledována obvodním neurologem pro výraznou únavnost v závislosti na diurnálním rytmu. Bylo patrné výrazné zhoršení se začátkem školní docházky, vůbec nezvládala tělocvik, kde jednou prodělala epizodu dechové tísně. Pohybem se obtíže vždy zvýrazňovaly. Polykačí obtíže či poruchy řeči v průběhu dospívání rodina nejuje.

Pro suspekci na kongenitální myastenii nebo myopatii byla intenzivně vyšetřovaná od r. 1991 v různých nemocničních zařízeních. EMG vyšetření prokazovalo poruchu nervosvalového přenosu s dekrementem do 24%, dekrement nebyl ovlivněn aplikací Syntostigminu a v jehlové elektrodě byly rovněž známky myogenní léze.

Z provedené svalové biopsie byla vyslovena suspekce na neprogredující kongenitální myopatii, biopsie n. suralis byla s normálním nálezem. Lumbální punkce byla opakovaně v normě, stejně jako MRI mozku a krční míchy.

Dle zprávy pokus o genetické vyšetření, ale provedena jenom izolace DNA.

Uzavíráno jako kongenitální myopatie. Užívala přechodně Mestinon, bez efektu, proto vysazen.

Pacientka měla v době prvního vyšetření u nás 29 let. Subjektivně se dle pacientky stav v období puberty ustálil, hlavní potíže byly stavy slabosti DKK více kořenově a na HKK více akrálně. Občas problémy se zadýcháním při fyzické námaze, v klidu dušná nikdy nebyla. Při infektu se stav vždy zhoršoval ve smyslu progresu svalové slabosti a padání víček. V průběhu dne popisovala závislost svalové slabosti, večer se stav horšil.

Objektivně neurologicky byl přítomen lehký generalizovaný myastenický syndrom s bilaterální ptózou a oftalmoparézou. Kontrolní EMG vyšetření prokázalo myogenní lézi a dekrement 18-27%. Oční vyšetření bylo se závěrem, že jde o chronickou progresivní zevní oftalmoplegii bilaterálně. Laboratorní odběry, včetně svalových enzymů bez patologie. V průběhu hospitalizace byla provedena MRI mozku a krční páteře, kde intracerebrálně normální nález, konstitučně užší páteřní kanál v úseku C2/C3. Laktát a pyruvát v krvi byly s normálním nálezem. Protilátky proti acetylcholinovým receptorům byly s negativním nálezem. Syntostigminový test byl bez efektu, ale přesto nasazeny inhibitory AChE, po kterých došlo ke zhoršení stavu pacientky. Kardiologické vyšetření bylo bez nálezu poruchy rytmu nebo kardiomyopatie.

Dle klinického obrazu a provedených vyšetření jsme se domnívali, že jde o kongenitální myastenický syndrom v kombinaci s myopatií, byla odeslána DNA ke genetickému vyšetření, kde byla vyloučena přítomnost nejčastější mutace způsobující KMS v české populaci (mutace 1267delG v CHRNE genu), vzorek DNA pacientky byl následně zaslán do Laboratoře molekulární myologie v Mnichově, kde byla identifikována homozygotní mutace c. 1082delC v 15.exonu COLQ genu. Tato mutace vede k deficitu nebo úplné absenci acetylcholinesterázy, patří mezi vzácné synaptické KMS a zcela vysvětluje fakt, proč po nasazení inhibitorů AChE došlo ke zhoršení stavu pacientky. Inhibitory AChE jsou kontraindikovány v případě deficiencie AChE na podkladě mutace v COLQ genu, protože mohou způsobit výraznou cholinergní symptomatiku, zhoršit svalovou slabost a respirační insuficienci.

U pacientky by byla indikována léčba efedrinem 2 mg/kg, následně však kvůli možným nežádoucím účinkům a lehké neurologické symptomatice preferovala zůstat bez léčby. Po pozitivních zkušenostech s léčbou salbutamolem na jiných zahraničních pracovištích jsme pacientce nasadili v roce 2019 tento lék v dávce 6 mg/denně s parciálně pozitivním efektem a subjektivním i objektivním zlepšením svalové síly a výdrže o 40-50%.

Stejná mutace c. 1082delC byla v heterozygotní formě prokázána i u obou rodičů a bratra pacientky, těhotná partnerka bratra probandky vzhledem k nízkému populačnímu riziku vyšetřována nebyla.

## Kazuistika č. 2

Žena, ročník 1978, s negativní rodinnou anamnézou ze stran neuromuskulárních nebo jiných neurologických onemocnění. Poprvé byla odeslána do našeho Centra pro diagnostiku a léčbu myasthenia gravis na Neurologické klinice 1. LF UK a VFN až v jejích 41 letech. Do té doby diagnosticky vedena jako kongenitální myopatie. V době jejího prvního vyšetření na naší klinice dominovala nebolestivá svalová slabost pletencových svalů horních i dolních končetin, s mírnou fluktuující ptózou bez diplopie, intermitentní stavy dysfagie a dysartrie, ušla maximálně 100 metrů, jinak upoutána na mechanický vozík. Pro tyto progredující neurologické obtíže od roku 2010 přiznán invalidní důchod 3. stupně. Její potíže ale začaly mnohem dříve a to ve 4 letech života slabostí paží. Pro slabost pletencových svalů dolních končetin se nemohla zvednout ze země, měla kolébaovou chůzi. Potíže byly spíše mírnějšího charakteru. Poměrně alarmující ale byla horšící se skolióza hrudní páteře, pro kterou musela podstoupit stabilizační operaci hrudní páteře ve svých 16 letech. V raném dětství nebyl opožděný vývoj hrubé motoriky, první respirační obtíže nastaly až ve věku 30 let včetně prvních bulbárních obtíží charakteru fluktuující dysartrie a dysfagie. V této době se i výrazně zhoršila chůze pacientky, začala používat mechanický vozík. V minulosti byla vyšetřovaná na mnoha neurologických pracovištích, kde byl sice při repetitivně stimulaci popisován dekrement až 38%, ale vzhledem k myopatickým změnám v jehlové elektrodě (které byly zcela určitě sekundární) byl tento nálezní opakovaně mylně interpretován jako myopatie nejasného významu pravděpodobně i pro opakovaně prokázanou seronegativitu prolátek proti AChR a MuSK receptorům. Molekulárně genetickým vyšetřením byla vyloučena pletencová svalová dystrofie, kalpainopatie a kongenitální myopatie. Různými laboratorními vyšetřeními v průběhu mnohých let se opakovaně neprokázala žádná z metabolických myopatií nebo Pompeho nemoc. V roce 2009 byla provedena svalová biopsie s normálním nálezem (bez známek dystrofie, metabolické nebo mitochondriální myopatie), nadále vedena jako kongenitální myopatie. V minulosti jednou pokus o syntostigminový test s popisovaným parciálním efektem, po nasazení inhibitorů AChE typu pyridostigminu opět přechodně parciální efekt. Efedrin nebyl v minulosti zkoušen nikdy. Vzhledem k objektivnímu nálezu generalizovaného myastenického syndromu s jasně pozitivním dekrementem na EMG-RS s double seronegativitou a se vznikem ve 4 letech života jsme od počátku zvažovali onemocnění z okruhu KMS. Správná klinická i molekulárně genetická diagnóza byla stanovena po 40 letech věku pacientky a zněla KMS na podkladě DOK-7 mutace. V genu DOK-7 byly detekovány dvě sekvenční patogenní varianty (c.1124\_1127dup a c.532+2dup), naše pacientka je tzv. složený heterozygot

v genu s automozomálně recesivní dědičností. Hned po stanovení diagnózy v roce 2019 jsme zahájili terapii salbutamolem 6 mg/denně s výrazně pozitivním efektem hlavně na slabost pletencového svalstva s možností již samostatné lokomoce bez nutnosti používání mechanického vozíku na kratší trasy. Zcela vymizely bulbární obtíže a výrazně se upravila ptóza pravého oka. Pacientka se díky správné diagnóze a symptomatické léčbě vrátila alespoň částečně do normálního života.

## Diskuse

Nervosvalová ploténka je komplexní struktura, která slouží k přenosu nervového vzruchu z motorického neuronu na kosterní sval a následně indukuje svalovou kontrakci<sup>(6)</sup>. Organizace nervosvalové ploténky má důležitý dopad na funkci nervosvalového přenosu.

Správně pochopit patofyziologii, diagnostiku a léčbu poruch nervosvalového přenosu vyžaduje porozumět principům normální neuromuskulární transmise.

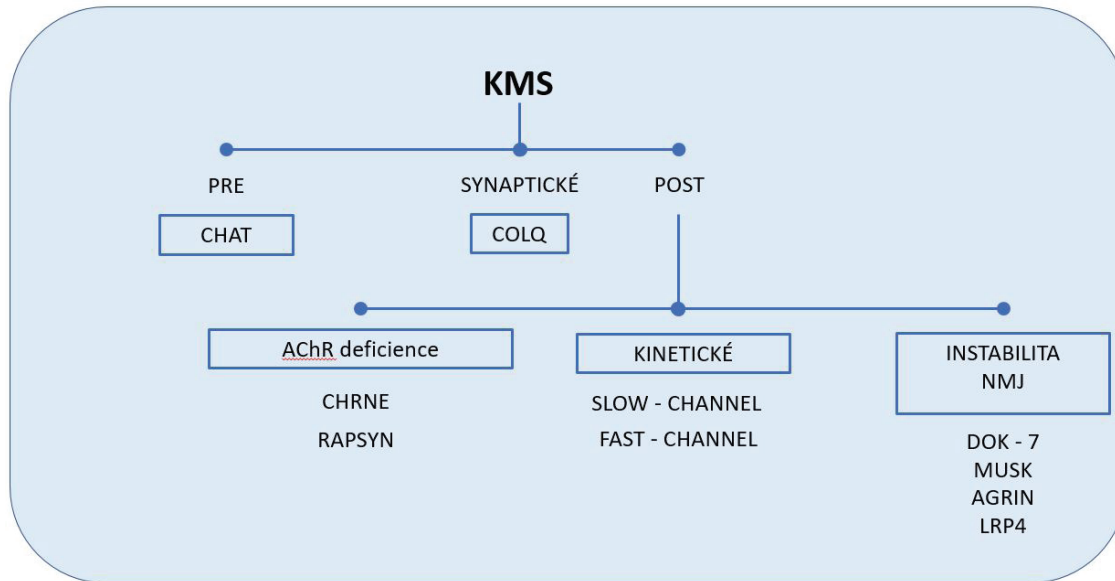
Nervosvalové spojení je realizováno jednoduchou synapsí, která je tvořena terminálním zakončením motorického axonu, které nasedá na povrch svalového vlákna tvořícího postsynaptickou membránu. V presynaptické části je velké množství mitochondrií a **synaptických vezikul**, které obsahují neurotransmitter ACh, který uvolňují v tzv. kvantech<sup>(9)</sup>. Uvolněný neurotransmitter se naváže na acetylcholinový receptor na postsynaptické membráně, čímž způsobí transientní zvýšení permeability pro sodíkové a kaliové ionty a tím vzniká tzv. lokální depolarizace nebo miniaturní ploténkový potenciál<sup>(10)</sup>. Jeho význam velmi pravděpodobně spočívá v udržování klidového svalového napětí.

Vlivem akčního potenciálu, který vzniká otevřením **napětově řízených sodíkových kanálů** v důsledku exocytózy ACh ze synaptických vezikul a následné depolarizaci vysokonapětových kalciových kanálů, dochází ke svalové kontrakci. Amplituda depolarizace závisí na množství molekul ACh, které vstoupí do interakce s AChR<sup>(4)</sup>. ACh pak z části difunduje zpět do synaptické štěrbiny, kde je rozložen enzymem acetylcholinesterázou (AChE) na acetyl a cholin<sup>(10)</sup>. Cholin se pak různými mechanismy dostává zpět do nervového zakončení, kde je opětovně využitý k resyntéze acetylcholinu cytoplazmatickým enzymem **cholinovou acetyltransferázou (CHAT)**<sup>(11)</sup>.

Synaptická štěrbina obsahuje bazální laminu s vysokou koncentrací enzymu AChE. Postsynaptická membrána je tvořena junkčními záhyby, na kterých jsou **nikotinové acetylcholinové receptory**. Jsou to membránové glykoproteiny složené z 5 podjednotek: **2 heterodiméry alfa, 1 beta, 1 delta** a dále buď **epsilon podjednotka** (u adultního typu) nebo **gamma podjednotka** (u fetálního typu receptoru). Další důležité struktury postsynaptické membrány, které jsou nezbytné pro její správnou funkci jsou agrin, který je uvolňován z terminálního nervového zakončení a jeho hlavní role spočívá v aktivaci **MuSK** (svalově specifická tyrosin kináza), která spolu s **rapsynem** vede k **agregaci** a tzv. **clusteringu** neboli shlukování AChR. V posledních letech byl nově identifikován protein **DOK-7 (down-stream of kinase)**, který je označován jako esenciální aktivátor MuSK. Interakce mezi MuSK a DOK-7 je základní podmínkou synaptogeneze na nervosvalové ploténce<sup>(12)</sup>.

Tato komplexní kaskáda, která je indukována nervovým impulzem, je závislá na normální aktivitě všech presynaptických a postsynaptických kroků<sup>(4)</sup>.

Obrázek 1. Rozdělení KMS



KMS představují geneticky a klinicky heterogenní skupinu vzácných geneticky podmíněných onemocnění, kde je porušen nervosvalový přenos. Dnes jsou již konkrétně definovány různé defekty presynaptických, synaptických nebo postsynaptických proteinů nervosvalové ploténky<sup>(7)</sup>. Mezi presynaptické defekty patří snížení počtu synaptických vezikul nebo poruchy v resyntéze acetylcholinu (ACh). Synaptické poruchy zahrnují defekty enzymu synaptické štěrbiny- acetylcholinesterázy (AChE), která hydrolyzuje ACh na cholin a acetyl-koenzym A. Postsynaptické defekty jsou většinou na podkladě strukturálních nebo kinetických abnormalit AChR nebo méně často různých proteinů a enzymů, které jsou zahrnuty do kaskády normálního utváření synapse, napětově-řízených kanálů nebo při shlukování AChR. Rozdělení KMS je znázorněno na **obrázku 1**.

### Klasifikace (% ze všech případů KMS)

#### Presynaptické KMS (8%) :

- 1) nedostatek synaptických vezikul a snížené kvantové uvolňování acetylcholinu
- 2) defekt v resyntéze acetylcholinu (CMS-EA) zapříčiněný mutací v genu pro cholinovou acetyltransferázu (CHAT)
- 3) Lambert – Eaton like syndrom

**Synaptické KMS (16%):** deficit nebo absence acetylcholinesterázy na podkladě mutace genu COLQ, konkrétně v *triple stranded collagenic tail*, který ukotvuje enzym do synaptické bazální laminy

#### Postsynaptické KMS (76%) :

Porucha funkce acetylcholinového receptoru s abnormální kinetikou

- slow AChR channel syndrom
  - fast AChR channel syndrom
- 2) Mutace na úrovni napětově řízeného Na<sup>+</sup> kanálu (SCN4)
  - 3) Redukce počtu receptorů : mutace genů pro podjednotky AChR (zodpovědné geny CHRNA1, CHRNB1, CHRND, CHRNE, CHRNG)

4) Porucha postsynaptického proteinu rapsynu : mutace genu RAPSYN

5) Porucha na úrovni receptoru pro tyrosinkinázu : mutace genu MUSK

6) Defekt pletinu : mutace zatím neznámého genu

7) DOK-7 myasthenia : mutace genu DOK-7

Slabost a únava se manifestuje většinou nejpozději do 2 let života<sup>(5)</sup>. Mezi první patologické příznaky u novorozenců patří hypotonie, respirační obtíže, problémy s polykáním a sáním, slabý novorozenecký pláč nebo svalové a kloubové kontraktury zjištěné zpravidla postnatálně, velmi vzácně i prenatálně<sup>(6)</sup>. Redukované pohyby plodu in utero, arthrogrypóza a polyhydramnion jsou potenciální prenatální symptomy KMS, ale i jiných nervosvalových onemocnění. V případě manifestace až v batolecím věku dominují příznaky okulárního charakteru uni- nebo bilaterální ptózy a oftalmoparézy nebo projevy faciobulbární slabosti. Existují i tzv. „late onset“ formy v adolescenci nebo rané dospělosti, které je nutné diferenciatně diagnosticky odlišit zejména od seronegativní autoimunitní MG<sup>(13)</sup>. Respirační potíže s apnoickými pauzami a cyanózou hned po narození jsou vzácné, dekompenzace stavu hrozí hlavně při horečkách a infekcích<sup>(11)</sup>. Rekurentní ataky apnoe jsou popisovány u presynaptického typu CMS-EA při deficienci CHAT a rovněž u postsynaptické formy KMS při deficienci rapsynu<sup>(7)</sup>. U presynaptického typu KMS při deficienci cholinové acetyltransferázy byla popsána i náhlá smrt dítěte<sup>(14)</sup>.

Mezi další příznaky patří nasolálie, dysartrie, dysfagie a potíže s odkašláním. Polykací obtíže mohou vést až k zavedení perkutánní endoskopické gastrostomie a respirační obtíže k zavedení tracheostomie<sup>(13)</sup>. Postižení mívají spinální deformity, svalové atrofie a častokrát i výrazné faciální rysy. Časný motorický vývoj těchto dětí může být normální, ale většinou je opožděn. Mentální funkce jsou intaktní. Průběh je obvykle zvolna progresivní, někdy se mohou vyskytnout i spontánní remise. Abnormální zornicové reakce můžeme vidět u AChE deficiencie. Některé typy KMS jsou asociované s myopatií, konkrétně slow channel syndrom, deficiencie AChE a plektínová deficiencie<sup>(15)</sup>.

Tabulka 1. Klinická charakteristika jednotlivých typů KMS

	Autozomálně dominantní dědičnost	Apnoické pauzy	Respirační insuficience a neonatální hypotonie	Deformity skeletu	Zpomalená zornicová fotoreakce	Progresivní dekrement při RS	Klinické zlepšení po podání inhibitorů AchE	Klinické zhoršení po podání inhibitorů AchE
<b>I. Presynaptické KMS</b>	-	+	+	-	-	+	-	-
Deficience cholin acetyltransferázy								
LEMS-like forma	-	-	+	-	-	-	-	-
<b>II. Synaptické KMS</b>	-	-	+/-	+	+	-	-	+
Deficience acetylcholinesterázy								
<b>III. Postsynaptické KMS</b>	-	-	+/-	+	-	+	+/-	-
Redukce počtu AchR								
KINETICKÉ Slow-channel	+	-	-	-	-	-	-	+
Fast-channel syndrom	-	-	-	+	-	-	+	-
INSTABILITA NMJ DOK-7	-	-	-	+/-	-	+	-	-

V minulosti byla diagnostika založena pouze na klinickém fenotypu a elektrofyziologickém vyšetření repetitivní stimulací. Od roku 1993, kdy byly objeveny geny pro jednotlivé podjednotky AChR, byla umožněna molekulárně genetická analýza. Do základního diagnostického schématu KMS se řadí rodinná anamnéza včetně rodokmenu, osobní anamnéza, neurologické vyšetření, elektromyografie (EMG), vyšetření séra na přítomnost dostupně vyšetřitelných protilátek proti proteinům nervosvalové ploténky (AChR, MUSK, Lrp4), někdy se z diferencielně diagnostických rozpaků může doplnit zobrazovací vyšetření nebo svalová biopsie. K základní diagnostice neodmyslitelně patří reparační farmakologický test se syntostigminem (krátkodobý blokátor AChE).

V posledních pěti letech došlo k výraznému pokroku ve výzkumu **molekulárně genetické podstaty** dosud nezařazených KMS. Byly objevené nové kauzální geny, jejichž mutace způsobují KMS. Dnes k nim patří geny kódující proteiny jednotlivých podjednotek AChR, COLQ část acetylcholinesterázy, cholinovou acetyltransferázu, Nav 1.4 (napěťově řízený Na<sup>+</sup> kanál), MuSK, DOK-7, rapsyn, agrin a plectin<sup>(15)</sup>.

Mezi největší úspěchy posledních let jednoznačně patří objevení nové klinické jednotky DOK-7 myasthenie projevující se proximální svalovou slabostí, která je asociovaná s recesivní mutací genu DOK-7 (downstream-of-kinase), která kóduje stejnojmenný protein postsynaptické membrány<sup>(16)</sup>. Tato klinická jednotka byla dříve nazývána „limb girdle myasthenia“<sup>(4)</sup>.

V naší populaci se nejčastěji vyskytují postsynaptické formy KMS (76%) s poruchou funkce acetylcholinového receptoru, ve smyslu redukce jeho počtu. Etiologicky se jedná o mutace v genech, které kódují jednotlivé podjednotky AChR, v evropské romské populaci je nejčastější mutace  $\epsilon$ 1267delG v AChR  $\epsilon$  genu (CHRNE gen) v exonu 12<sup>(17,18)</sup>. V České republice je již možné vyšetření cílenou masivní paralelní sekvenací exonů a přilehlých intronových oblastí genů spojených s KMS (ARGN,

COLQ, DOK7, CHAT, CHRNA1, CHRNB1, CHRND, CHRNE, CHRNG, LAMB2, MUSK, RAPSN, SCN4A).

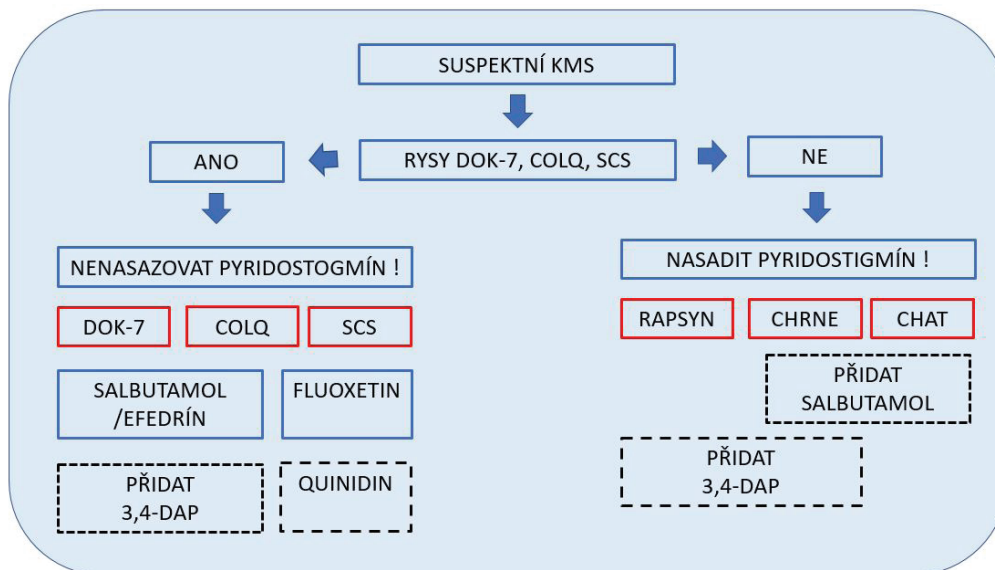
Rovněž u těhotných žen se zvýšeným rizikem možného výskytu KMS na základě již známých mutací u jejich rodičů ve výše zmíněných genech můžeme u plodu vyšetřit plodovou vodu získanou amniocentézou v 15. - 18. gestačním týdnu. Prenatální diagnostika je však možná jedině v případě, kdy je v rodině identifikována příslušná mutace alely, která je zodpovědná za vznik KMS.

V případě manifestace svalové slabosti v dětství a postnatálně je nutné myslet na tyto diagnózy: transientní neonatální myasthenia gravis, spinální svalová atrofie (SMA), kongenitální svalové dystrofie (CMD), myotonické dystrofie (MD), mitochondriální myopatie, vrozené vady mozku kmene, Moebius syndrom, infantilní botulismus, chronický únavový syndrom, morbus Pompe a autoimunitní myasthenii gravis, u které ale zatím nebyl popsán případ výskytu před 1. rokem života.

U starších pacientů se musí vyloučit onemocnění motoneuronu, periferní neuropatie, pletencová forma facioskapulohumerální dystrofie, mitochondriální myopatie, chronický únavový syndrom a AChR- nebo MuSK-seropozitivní a seronegativní autoimunitní myasthenia gravis.

V terapii KMS používáme **inhibitory acetylcholinesterázy** (AChE), ke kterým patří pyridostigmin (Mestinon), ambenonium (Mytelase), krátkodobě působící neostigmin (Syntostigmin) nebo dlouhodobě působící distigmin (Ubretid). Vedou k prodloužení aktivity ACh v synaptické štěrbině mechanismem inhibice jeho hydrolýzy. Používají se u KMS s defektem resyntézy ACh a u strukturálních defektů AChR podjednotky, kinetických abnormalit AChR (fast channel syndrom) a u rapsynové deficience. U DOK-7 myasthenie a u slow channel syndromu je popisován jenom přechodný efekt inhibitorů AChE, někdy mohou paradoxně způsobit zhoršení myastenických příznaků<sup>(13)</sup>. Kontraindikace jejich podávání je v případě deficience AChE, kdy mohou

Obrázek 2 Terapeutický algoritmus u jednotlivých typů KMS



způsobit výraznou cholinergní symptomatiku, zhoršit svalovou slabost a respirační insuficienci.

Dávka IACHe je 4-5 mg/kg tělesné hmotnosti denně rozdělená do 4-6 dílčích dávek. Nežádoucí účinky jsou cholinergní symptomy jako nadměrná bronchiální sekrece, slinění, slzení, kašel a průjem. K potlačení nežádoucích účinků neostigminu je doporučováno v některých případech podávat současně v malých dávkách atropin 0,1 - 0,5 mg 3× denně, ale jedná se o literární údaj, který se v praxi prakticky nepoužívá. Dávka atropinu u dětí je 0,02 mg/kg.

**3,4-diaminopyridin (3,4 - DAP)** je blokátor kaliového kanálu. Zvyšuje uvolňování ACh a prodlužuje presynaptický akční potenciál. Používá se u dětí s fast-channel syndromem, u pacientů s redukcí počtu AChR a u rapsynové deficience. Denní dávka je 1 mg/kg rozdělena do čtyřech dávek. Většinou je dobře tolerován a nežádoucí účinky jsou mírné. Ve vyšších dávkách se mohou vyskytnout epileptické záchvaty, proto je tento lék kontraindikován u všech pacientů, kteří v minulosti prodělali epileptický záchvat. V ČR a na Slovensku není tento lék registrován. Podobný lék s názvem amifampridín (Firdapse) působí stejným mechanismem jako 3,4- DAP a kromě léčby výše popsaných typů KMS ho používáme i v léčbě Lambert Eatonova myastenického syndromu (LEMS).

**Quinidin** (ze skupiny antiarytmik I. třídy) a **fluoxetin** (ze skupiny antidepresiv typu blokátorů zpětného vychytávání serotoninu - SSRI) mohou zlepšit klinické a elektrofyziologické známky ale jen u malé části pacientů s KMS<sup>(19)</sup>. Mechanismus účinku spočívá v prodloužení aktivace AChR s **následným zlepšením svalové slabosti jak z krátkodobého tak i z dlouhodobého hlediska. Indikace této léčby je však výrazně limitovaná nežádoucími účinky typu život ohrožujících maligních arytmií charakteru „torsades de pointes“** a hypotenze u quinidinu. Fluoxetin je tolerován lépe. U dětí, u kterých je zvýšené riziko suicidálního chování nebo s depresivními sklony, by se tento preparát neměl používat.

**Ephedrin** je látka, která vykazuje pozitivní terapeutický efekt u deficience AChE a u DOK-7 myasthenie. U dětí je denní dávka 3 mg/kg rozdělená do třech jednotlivých dávek. S léčbou se začíná vždy pozvolna a to 1 mg/kg denně a pomalu se dávky

s opatrností navyšují. Nežádoucími účinky jsou hypertenze, nervozita, třes, insomnie a palpitace.

**Salbutamol** byl vyvinut k léčbě asthma bronchiale a chronické obstrukční bronchopulmonální nemoci jako sympatomimetikum, selektivní beta2-adrenergní preparát. Následně se na základě empirických zkušeností u spinální svalové atrofie a u některých kongenitálních myopatií zjistil jeho náhodný vedlejší efekt a to zlepšení svalové síly hlavně proximálních kosterních svalů. Mechanismus účinku jakým zlepšuje funkci kosterních svalů není přesně znám a zvažují se 2 možné mechanismy: 1) beta2 receptory účinkují skrz G-protein a ten jako druhý posel zvyšuje nabídku cyklického adenosin-fosfátu (c-AMP) a to vede k aktivaci proteinkinázy A nebo 2) přes fosfatidyl-inositol-3kinázu co vede k fosforylaci intracelulárních součástí.

Ve srovnání s efedrinem, který se dosud používal hlavně v léčbě COLQ a DOK-7 KMS, má salbutamol několik výhod. Jednak je to selektivní beta2 sympatomimetikum na rozdíl od efedrinu, který má jak alfa tak beta adrenergní efekt, s čím souvisí podstatně nižší počet nežádoucích účinků při používání salbutamolu (ojediněle se setkáváme s přechodnou tachykardií nebo třesem). Je několik prací, které popisují pozitivní efekt na léčbu DOK-7 mutace u dospělých pacientů<sup>(20)</sup> i dětských pacientů<sup>(21)</sup>. V poslední době se salbutamol používá s pozitivním efektem jako tzv. add on terapie u těžkých AChR deficientních syndromů<sup>(22)</sup>, v naší populaci právě CHRNE mutace, které často vyžadují obrovské dávky inhibitorů AChE a v této indikaci jsme ho začali s výborným efektem zkoušet i u našich romských pacientů. Maximální dávka je 32 mg/den, ale v případě léčby u COLQ nebo DOK-7 mutací včetně add-on terapie u CHRNE mutací si vystačíme s dávkou 6 mg/denně, u které prakticky nevidíme žádné nežádoucí vedlejší účinky. Před nasazením salbutamolu vyžadujeme podrobné kardiologické vyšetření včetně 24 hodinového monitorování Holter EKG a laboratorního vyšetření hlavně mineralogramu za účelem vyloučení závažným hypo/hyperkalemií, které by mohly indukovat arytmiie potencionálně léčbou salbutamolem.

Na **Obrázku. 2** je znázorněn terapeutický algoritmus u jednotlivých typů KMS

Obrázek 3. Diagnostická kritéria KMS v dospělém věku

### Diagnostická kritéria KMS v dospělém věku

- ➡ začátek v raném dětství
- ➡ myastenický vzorec svalové slabosti
- ➡ double (triple) seronegativita (AChR, MuSK, Lrp4)
- ➡ pozitivní dekrement na EMG-RS, možné i sekundární myopatické změny v jehlové elektrodě
- ➡ neodpovídavost na imunomodulační léčbu kortikosteroidy event. léčbu imunosupresivny
- ➡ možné příčiny mutace v genech CHRNE, DOK-7, COLQ, RAPSN
- ➡ variant homozygot nebo variant složený heterozygot

### Závěr

V ambulancích dospělých neurologů se může vyskytnout pacient s myastenickým vzorcem svalové slabosti, který ale vzniknul v raném dětství a nemá autoimunitní charakter. Proto jsme se snažili definovat diagnostická kritéria KMS v dospělém věku. (obrázek 3). Ze stran diagnostiky je důležitý reprodukovatelný dekrement na EMG-RS, klinického neurologa by neměly zmást sekundární myopatické změny, které se po delším trvání KMS mohou vyvinout. To, že se jedná o vrozenou formu myastenického syndromu může rovněž podpořit fakt, že pacienti nereagují pozitivně na imunomodulační a/nebo imunosupresivní léčbu. Správnou diagnózu definitivně odhalí správně indikované molekulárně genetické vyšetření s průkazem mutace v genech asociovaných s KMS. Čím více chápeme genové funkce, které jsou základem KMS, tím větší jsou šance na identifikace nových způsobů léčby této vzácné poruchy.

### Poděkování:

Molekulárně genetické vyšetření zajišťuje Centrum molekulární biologie a genové terapie, IHOK, FN Brno. Moc děkujeme paní doc. RNDr. Lence Fajkusové, CSc. za výbornou spolupráci.

V první kazuistice bylo molekulárně genetické vyšetření realizováno v Labor für Molekulare Myologie in München, za zprostředkování děkujeme panu prof. MUDr. Pavlu Seemanovi, Ph.D

*Vyhlásenie o bezkonfliktnosti: Nemám potenciálny konflikt záujmov.*

### Adresa pro korespondenci:

MUDr. Michala Jakubiková, Ph.D.  
Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN  
v Praze,  
Centrum pro diagnostiku a terapii myasthenia gravis  
Kateřinská 30, 128 01 Praha 2, Česká republika  
e-mail: michala.jakubikova@vfn.cz

### Literatura

1. Engel AG, Ohno K, Sine SM. Sleuthing molecular targets for neurological diseases at the neuromuscular junction. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4:339-352.
2. Hantai D, Richard P, Koenig J, Eymard B. Congenital myasthenic syndromes. *Curr Opin Neurol* 2004; 17:539-551.
3. Ohno K, Engel AG. Congenital myasthenic syndromes: gene mutations. *Neuromuscul Disord* 2004; 14:117-122.
4. Beeson D, Hantai D, Lochmuller H, Engel AG. 126th International Workshop: congenital myasthenic syndromes, 24-26 September 2004, Naarde, the Netherlands. *Neuromuscul Disord* 2005; 15:498-512.
5. Engel AG, Sine SM. Current understanding of congenital myasthenic syndromes. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5:308-321.
6. Palace J, Beeson D. The congenital myasthenic syndromes. *Journal of Neuroimmunology* 2008; 201-202:2-5.
7. Ohno K, Engel AG, Shen XM, et al. Rapsyn mutations in humans cause endplate acetylcholine-receptor deficiency and myasthenic syndrome. *Am J Hum Genet* 2002; 70:875.
8. Hughes WB, Kusner LL, Kaminski JH. Molecular architecture of the neuromuscular junction. *Muscle and nerve* 2005; 33:445-461.
9. Drachman DB. Myasthenia gravis. Part I. *N Engl J Med* 1978; 298:136.
10. Liu JHK, Ericsson K. Cholinergic agents. In: Albert DM, Jakobiec FA, eds. *Principles and practise of ophthalmology: Basic sciences*. Philadelphia: WB Saunders 1994; 985.
11. Ohno K, Tsujino A, Brengman JM, et al. Choline acetyltransferase mutations cause myasthenic syndrome associated with episodic apnea in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 2017-2022.
12. Okada K, Inoue A, Okada M, et al. The muscle protein Dok-7 is essential for neuromuscular synaptogenesis. *Science* 2006; 312:1802-1805.
13. Engel AG. The therapy of congenital myasthenic syndromes. *Neurotherapeutics* 2007; 4:252-257.
14. Byring RF, Pihko H, Tsujino A, et al. Congenital myasthenic syndrome associated with episodic apnea and sudden infant death. *Neuromuscul Disord* 2002; 12: 548-553.
15. Nogajski HJ, Kiernan CM, Ouvrier AR, Andrews IP. Congenital myasthenic syndromes. *Journal of Clinical Neuroscience* 2009; 16:1-11.
16. Beeson D, Higuchi O, Palace J, et al. Dok-7 mutations underlie a neuromuscular junction synaptopathy. *Science* 2006; 313:1975-1978.
17. Abicht A, Stucka R, Karcagi V, et al. A common mutation (epsilon1267delG) in congenital myasthenic patients of Gypsy ethnic origin. *Neurology* 1999; 53: 1564-1569.
18. Karcagi V, Tourneval I, Schmidt C, et al. Congenital myasthenic syndrome in southeastern European Roma (Gypsies). *Acta Myologica* 2001; 20: 231-238.
19. Harper CM, Fukudome T, Engel AG. Treatment of slow-channel congenital myasthenic syndrome with fluoxetine. *Neurology* 2003; 60: 1710-1713.
20. Lorenzoni PJ, Scola RH, Kay CS, et al. Salbutamol therapy in congenital myasthenic syndrome due to DOK7 mutation. *J Neurol Sci*. 2013 Aug 15;331(1-2):155-7.
21. Burke G, Hiscock A, Klein A, et al. Salbutamol benefits children with congenital myasthenic syndrome due to DOK7 mutations. *Neuromuscul Disord*. 2013 Feb;23(2):170-5.
22. Rodríguez Cruz PM, Palace J, Ramjattan H, et al. Salbutamol and ephedrine in the treatment of severe AChR deficiency syndromes. *Neurology*. 2015 Sep 22;85(12):1043-7.