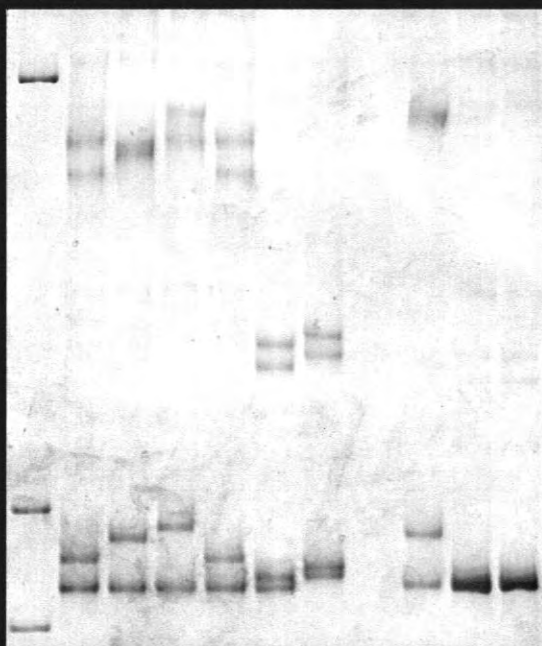


DRUŠTVO ZA KLINIČKU GENETIKU HRVATSKE

**NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI:
MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP
DIJAGNOSTICI, TERAPIJI I PREVENCIJI
OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE
DISTROFIJE (OPMD)**

Poslijediplomski tečaj stjecanja znanja s provjerom



**Gost- predavač: Prof. dr. Michel FARDEAU
Institut de Myologie-INSERM U.582
Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, FRANCE**

Voditelj tečaja: Prof.dr.Nina CANKI-KLAIN

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI:

**MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP
DIJAGNOSTICI, TERAPIJI I
PREVENCIJI
OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE
DISTROFIJE (OPMD)**

Urednica: Nina Canki-Klain

DRUŠTVO ZA KLINIČKU GENETIKU HRVATSKE
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Hrvatski institut za istraživanje mozga
Šalata 12, 10 000 Zagreb

KOLDING d.o.o.

Izdavač
DRUŠTVO ZA KLINIČKU GENETIKU
HRVATSKE

Glavna urednica
Nina Canki-Klain

Grafička oprema naslovne stranice
Nina Canki-Klain
Računalni unos teksta: Astrid Milić

Tisak: **KOLDING d.o.o.,**
Berislavićeva 8, Zagreb

Tekstovi nisu lektorirani ni recenzirani
Priručnik je fotokopiran uz financijsku potporu
sponzora KOLDING d.o.o.

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI:

MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP DIJAGNOSTICI, TERAPIJI I PREVENCIJI OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE (OPMD)

Priručno štivo

Poslijediplomski tečaj stjecanja znanja s provjerom

Organizator

DRUŠTVO ZA KLINIČKU GENETIKU HRVATSKE

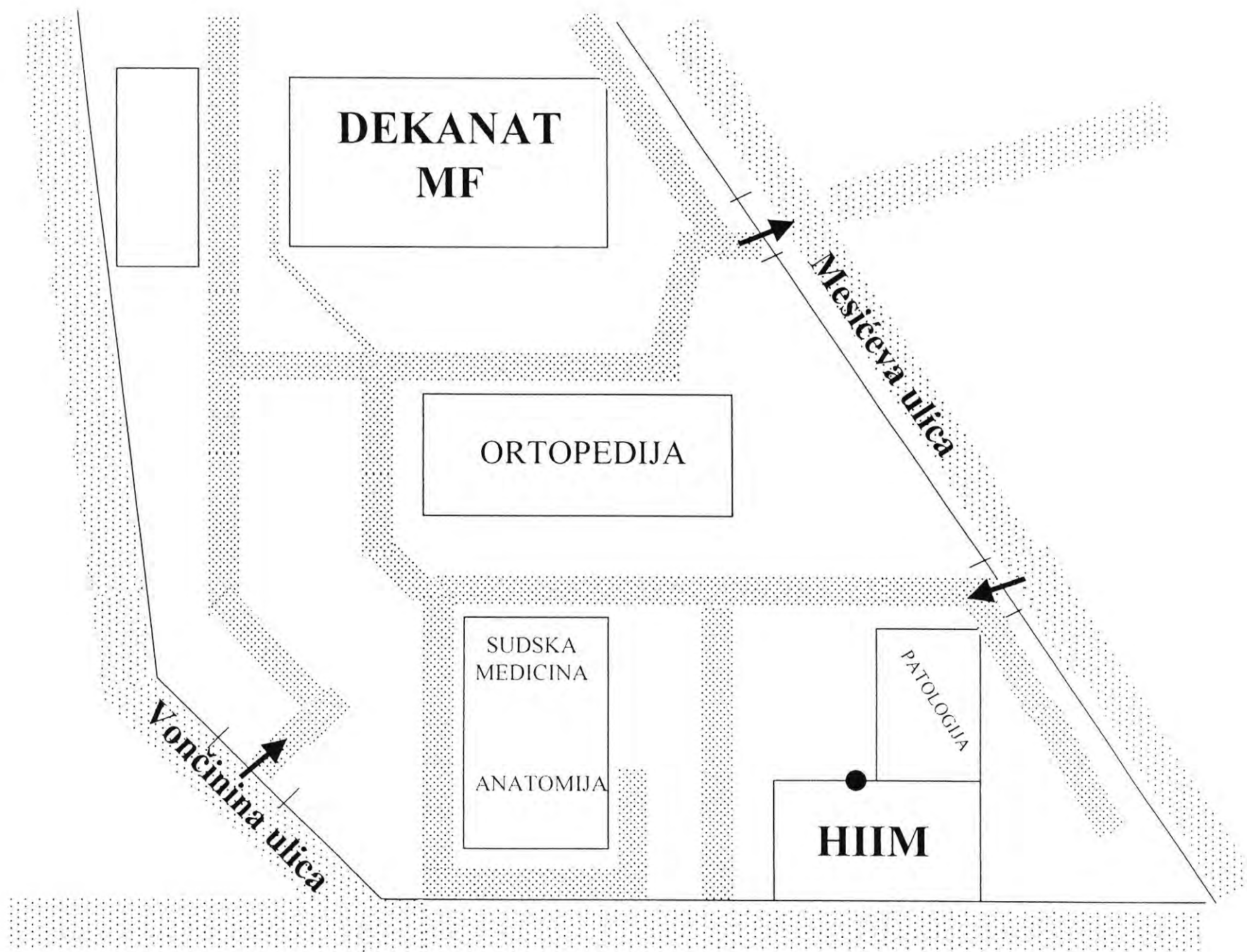
**Gost-predavač: Prof.dr. Michel FARDEAU, Directeur
Institut de Myologie-INSERM U.582, Hôpital Pitié-Salpêtrière
Paris, FRANCE**

Voditelj tečaja

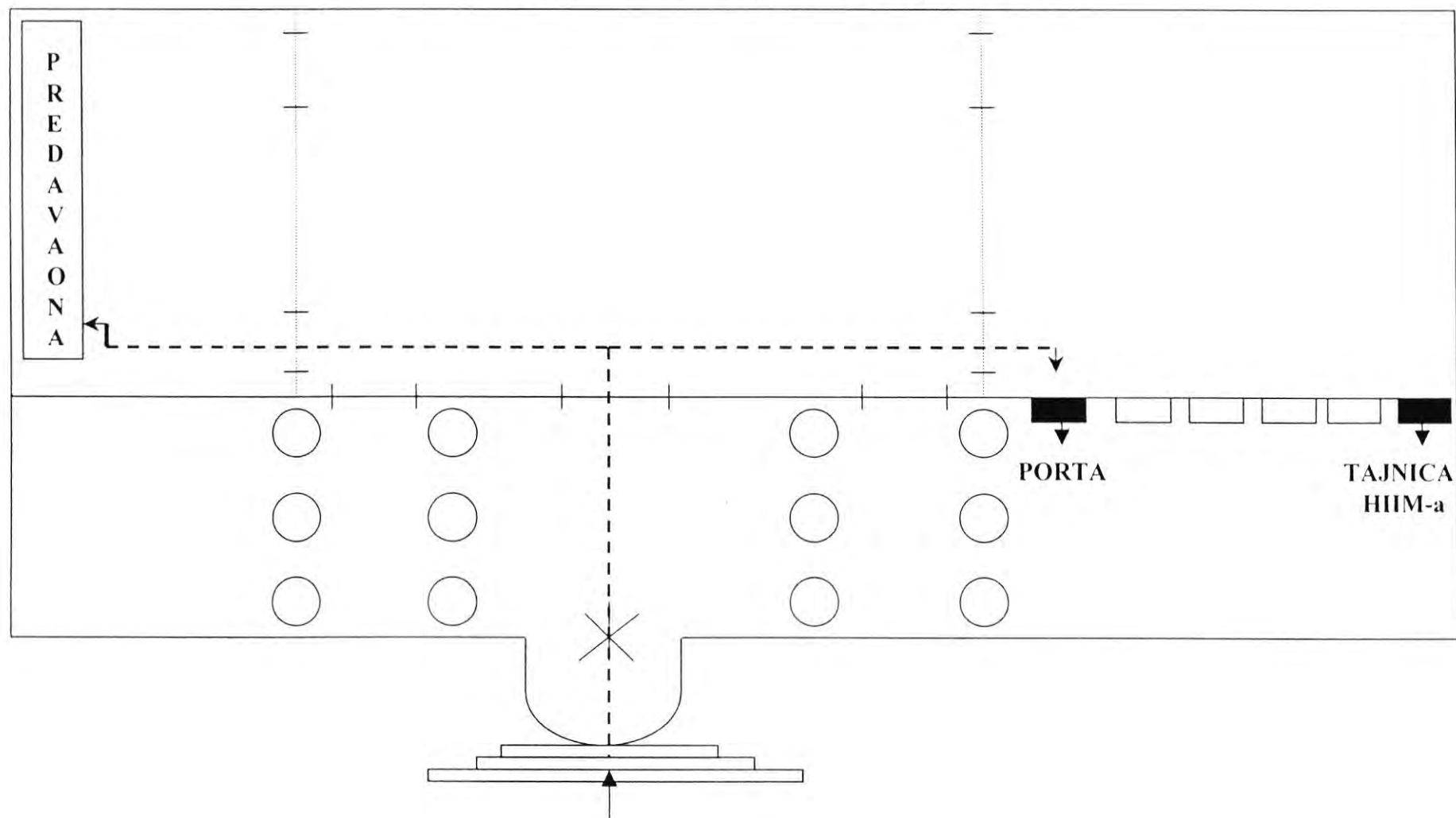
Prof.dr.sc. Nina Canki-Klain, dr.med.

**Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Hrvatski institut za istraživanje mozga
Šalata 12, 10 000 Zagreb**

Zagreb, 14.-15.11.2003.



Hrvatski institut za istraživanje mozga (prizemlje)



SADRŽAJ

Program poslijediplomskog tečaja
Popis predavača
Popis polaznika tečaja

EPIDEMIOLOGIJA I GENETIKA Nina Canki-Klain

1

PATOMORFOLOŠKA I MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA OPMD

Morfologija patoloških promjena u OPMD Gordana Jurić, Danica Ljubanović	9
Molekularna genetika i dijagnostika OPMD Astrid Milić, Nina Canki-Klain	13

KLINIČKA SLIKA I DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA OPMD

Uloga neurologa u dijagnostici i diferencijalnoj dijagnozi OPMD Osman Sinanović	19
Mijastenija gravis i Steinertova miotonična distrofija Marija Žagar	28
Amiotrofična lateralna skleroza i pseudobulbarni sindrom Davorka Vranješ	33
Spinobulbarna mišićna atrofija (Kennedyjeva bolest) Nina Canki-Klain	36
Dijagnostika u diferencijalnoj dg. OPMD u okulistici Neda Stiglmayer	40
OPMD u gastroenterološkoj praksi Dragan Jurčić	48
OPMD u otorinolaringološkoj praksi Santa Večerina	53

ZBRINJAVANJE BOLESNIKA S OPMD

Liječenje ptoze Neda Stiglmayer	64
Pomoć gastroenterologa Dragan Jurčić	70
Rehabilitacija bolesnika s OPMD Ida Kovač	71
Pomoć psihoterapeuta bolesniku s OPMD i njegovoj obitelji Gorana Tocilj-Šimunković	76

PREVENCIJA BOLESTI

Genetsko savjetovanje, genetsko testiranje, prenatalna dijagnostika Nina Canki-Klain	79
VJEŽBE: Molekularna dijagnostika OPMD Astrid Milić	85
Ocular motricity disorders in hereditary muscle disorders Michel Fardeau	89
Seminar iz molekularne genetike Astrid Milić	90
Multidisciplinary approach to diagnosis, treatment and prevention of hereditary muscle disorders Michel Fardeau	99

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15.11.2003.

**NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI:
MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP DIJAGNOSTICI, TERAPIJI
I PREVENCIJI OKULO FARINGEALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE
(OPMD)**

PROGRAM

PETAK, 14.11.2003.

08.00-09.00 Registracija sudionika

09.00.-09.20 EPIDEMIOLOGIJA I GENETIKA OPMD
Nina Canki-Klain

Rasprava

**09.20.-10.10 PATOMORFOLOŠKA I MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA
OPMD**

Morfologija patoloških promjena u OPMD

Danica Ljubanović, Gordana Jurić, A. Bauer Šegvić

Molekularna genetika i dijagnostika OPMD

Astrid Milić, Nina Canki-Klain

Rasprava

10.10.-10.40 Odmor

10.40-13.00 KLINIČKA SLIKA I DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA OPMD

Uloga neurologa u dijagnostici i diferencijalnoj dijagnozi OPMD
Osman Sinanović

Mijastenija gravis i Steinertova miotonična distrofija
Marija Žagar

Amiotrofična lateralna skleroza i pseudobulbarni sindrom
Davorka Vranješ

Spinobulbarna mišićna atrofija (Kennedyjeva bolest)
Nina Canki-Klain

Dijagnostika i diferencijalna dg. OPMD u okulistici
Neda Stiglmayer

OPMD u gastroenterološkoj praksi
Dragan Jurčić

OPMD u otorinolaringološkoj praksi
Santa Večerina-Volić

Rasprava

13.00-14.30 Ručak u Klubu HIIM-a

14.30.-16.00 ZBRINJAVANJE BOLESNIKA S OPMD

Liječenje ptoze
Neda Stiglmayer, Miljenka Tojagić, Jelena Juri

Pomoć gastroenterologa
Dragan Jurčić

Rehabilitacija bolesnika s OPMD
Ida Kovač

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15.11.2003.

Pomoć psihoterapeuta bolesniku s OPMD i njegovoj obitelji

Gorana Tocilj-Šimunković

Rasprava

16.00-16.30

PREVENCIJA BOLESTI

Genetsko savjetovanje, genetsko testiranje i prenatalna dijagnostika

Nina Canki-Klain

16.30-17.00

Odmor

17.00-18.30

Vježbe: Molekularna dijagnostika OPMD

Astrid Milić

18.30-20.00

OCULAR MOTRICITY DISORDERS IN HEREDITARY MUSCLE PATHOLOGY

Michel Fardeau

Rasprava

20.00.-21.30

Domjenak u Klubu HIIM-a

SUBOTA, 15..11.2003.

09.00.-10.30

Seminar iz molekularne genetike

Astrid Milić

10.30.-11.00

Odmor

11.00-12.00

Case reports

Moderators: Michel Fardeau, Osman Sinanović

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15.11.2003.

**12.00.-13.00 MULTIDISCIPLINARY APPROACH TO DIAGNOSIS,
TREATMENT AND PREVENTION OF HEREDITARY
MUSCLE DISORDERS**

Michel Fardeau

Rasprava

13.00-13.45 Evaluacija tečaja i zaključne sjednica

13.45-14.30 Provjera znanja

POPIS PREDAVAČA

Nina CANKI-KLAIN

prof.dr.sc., spec. pedijatar
Profesor medicinske genetike
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
KBC Zagreb, Klinika za neurologiju*
i Hrvatski institut za istraživanje mozga

*Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB

Tel: 01/ 23 88 356

Fax: 01/ 24 21 846

e-mail: nina.canki-klain@zg.tel.hr

Michel FARDEAU

prof.dr.sc.
Scientific and medical director of the
Institute of Myology
Hôpital Pitié-Salpêtrière
Paris, France

Tel: + 33 1 42 16 58 66

Fax: +33 1 45 70 86 92

e-mail: veronique.ortega@psl.ap-hop-paris.fr

Dragan JURČIĆ

dr.sc., spec. gastroenterolog
OB «Sveti Duh»
Odjel za gastroenterologiju
Sveti duh 64, 10 000 ZAGREB

Tel: 01/ 37 12 203

Fax: 01/ 37 12 203

e-mail: dragoo@hi.hinet.hr

Gordana JURIĆ

dr.sc., spec. patolog
Zavod za neuropatologiju
Medicinskog fakulteta u Zagrebu i
Klinički zavod za patologiju KBC
Zagreb

Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB

Tel: 01/ 23 88 362

Fax: 01/24 21 906

e-mail: gordanajuric@hotmail.com

Ida KOVAČ

prim.mr.sc., spec.fizijatar
KBC Zagreb
Klinički zavod za rehabilitaciju i
ortopedsku pomagala
Odjel za fizikalnu medicinu i
rehabilitaciju

Božidarevićeva , 10 000 ZAGREB

Tel: 01/ 23 62 330

Fax: 01/ 23 35 650

e-mail: idakovac@hotmail.com

Danica LJUBANOVIĆ

dr.sc., spec.patolog
KB Dubrava
Klinika za patologiju
Avenija G.Šuška , 10 000 ZAGREB

Tel: 01/ 29 03 625

Fax: 01/ 28 63 695

e-mail: danica.ljubanovic@zg.htnet.hr

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15.11.2003.

Astrid MILIĆ

mr.sc., dipl.ing.med.biokemije
Hrvatski institut za istraživanje mozga
Šalata 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 45 96 843
Fax: 01/ 45 96 942
e-mail: astridmilic@hotmail.com

Osman SINANOVIĆ

prof.dr.sc., spec. neurolog
Univerzitetski Klinički Centar Tuzla
Neurološka klinika
Trnovac bb, 75 000 TUZLA
BOSNA I HERCEGOVINA
Tel: + 387 35 261 148; 303 131
Fax: + 387 35 261 148; 250 474
e-mail: osman.s@ukctuzla.ba
sinhu@bih.net.ba

Neda STIGLMAYER

prof.dr.sc., spec. okulist
KBC Zagreb
Klinika za očne bolesti
Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 23 88 418
Fax: 01/ 23 88 337
e-mail: nedastig@mef.hr

Gorana TOCILJ-ŠIMUNKOVIĆ

mr.sc., spec.psihijatar-psihoterapeut
KBC Zagreb
Klinika za psihološku medicinu
Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 23 32 825

Santa VEČERINA

prof.dr.sc., spec.otorinolaringolog
KBC Zagreb
Zavod za fonijatriju
Šalata , 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 49 20 022
Fax: 01/ 49 20 632
e-mail: santa@mef.hr

Davorka VRANJEŠ

mr.sc., spec.neurolog
KBC Zagreb
Klinika za neurologiju
Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 23 88 378
Fax: 01/ 24 21 846
e-mail: davorka.vranjes@zg.hinet.hr

Marija ŽAGAR

doc.dr.sc., spec.neurolog
KBC Zagreb
Klinika za neurologiju
Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 23 88 379
Fax: 01/ 24 21 846
e-mail: mzagar2000@yahoo.com

POLAZNICI

Ranka **BARABA**
dr.med., spec.neurolog
OB «Sveti Duh»
Zavod za neurologiju
Sv.duh 64, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 37 12 256

Ervina **BILIĆ**
mr.sc., dr.med., spec. neurolog
KBC Zagreb
Klinika za neurologiju
Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 23 88 379
Fax: 01/ 24 21 846
e-mail: ervina@hi.hinet.hr

Dubravka **DOBEC-GORENAK**
dr.med., spec.neurolog
Opća bolnica Varaždin
Neurološki odjel
I.Meštrovića bb, 42 000 VARAŽDIN
Tel: 042/ 393 409; 393 329
Fax: 042/ 393 605

Ervin **JANČIĆ**
dr.med., specijalizant neurologije
Opća bolnica Karlovac
Odjel neurologije
Dr A.Štampara 3, 47 000
KARLOVAC
Tel: 047/ 412 808
e-mail: ervin.jancic@ka.hinet.hr

TEČAJA

Vladimir **BAUER**, mr.sc.,
spec.neuropsihijatar
Neurološka ordinacija s EMNG lab.
Pakračka 9, 42 000 VARAŽDIN
Tel: 042/ 331 477
Fax: 042/ 331 477
e-mail: vladimir.bauer@vz.tel.hr

Nermina **ČUSTOVIĆ**
dr.med., spec. neuropsihijatar
Univerzitetski Klinički Centar Tuzla
Neurološka klinika
Trnovac bb, 75 000 TUZLA
Tel: + 387 35 303 130

Mensuda **HASANHODŽIĆ**
dr.med, spec.pedijatar,
spec.med.genetike
Univerzitetski Klinički Centar Tuzla
Klinika za dječje bolesti
Trnovac 30, 75 000 TUZLA
Tel: +387 35 286 630
Fax: +387 35 251 469
e-mail: mensuda_h@yahoo.fr

Ruža **KOSTANJEVEC**
dr.med., spec.neurolog
Opća bolnica Varaždin
Neurološki odjel
I.Meštrovića bb, 42 000 VARAŽDIN
Tel: 042/ 393 329; 3939 409
Fax: 042/ 393 605

Nebojša **KNEŽEVIĆ**
dr.med., spec.hematolog
KB Split
Križine 1, 21 000 SPLIT
Tel: 021/ 557 298

Zoran **MITROVIĆ**
dr.med., spec.neurolog
KBC Zagreb
Neurološka klinika
Kišpatićeva 12, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 23 88 261
Fax: 01/ 24 21 846
e-mail: zmitrov2@mef.hr

Martina **STARČEVIĆ**
prof. logoped
Medicinski fakultet
Zavod za fonijatriju
Šalata 4, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 45 52 333
Fax: 01/ 49 20 632
e-mail: m_starcevic@yahoo.com

Ljiljana **ŠRAGALJ**
dr.med., spec. neurolog
OB «Sv. Duh»
Klinika za neurologiju
Sv. Duh 64, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 37 12 256

Svetlana **TOMIĆ**
dr.med, specijalizant neurologije
KB Osijek
Klinika za neurologiju
J.Huttlera 4, 31 000 OSIJEK
Tel: 031/ 524 44 85
e-mail: filipovic.svetlana@kbo.hr

Anuška **TRLAJA**
dr.med., spec. transf. medicine
Klinička bolnica Split
Zavod za transfuzijsku medicinu
Spinčićeva 1, 21 000 SPLIT
e-mail: anuska.trlaja@st.tel.hr

Emir **TUPKOVIĆ**
dr.med., spec. neuropsihijatar
Univerzitetski Klinički Centar Tuzla
Neurološka klinika
Trnovac bb, 75 000 TUZLA
Tel: + 387 35 303 130

Tamara **ŽIVKOVIĆ**
prof. logoped
KBC Zagreb
Zavod za fonijatriju
Šalata 4, 10 000 ZAGREB
Tel: 01/ 45 52 333
Fax: 01/ 49 20 632
e-mail: tamara@kbsm.hr

EPIDEMIOLOGIJA I GENETIKA OPMD

EPIDEMIOLOGIJA I GENETIKA OPMD

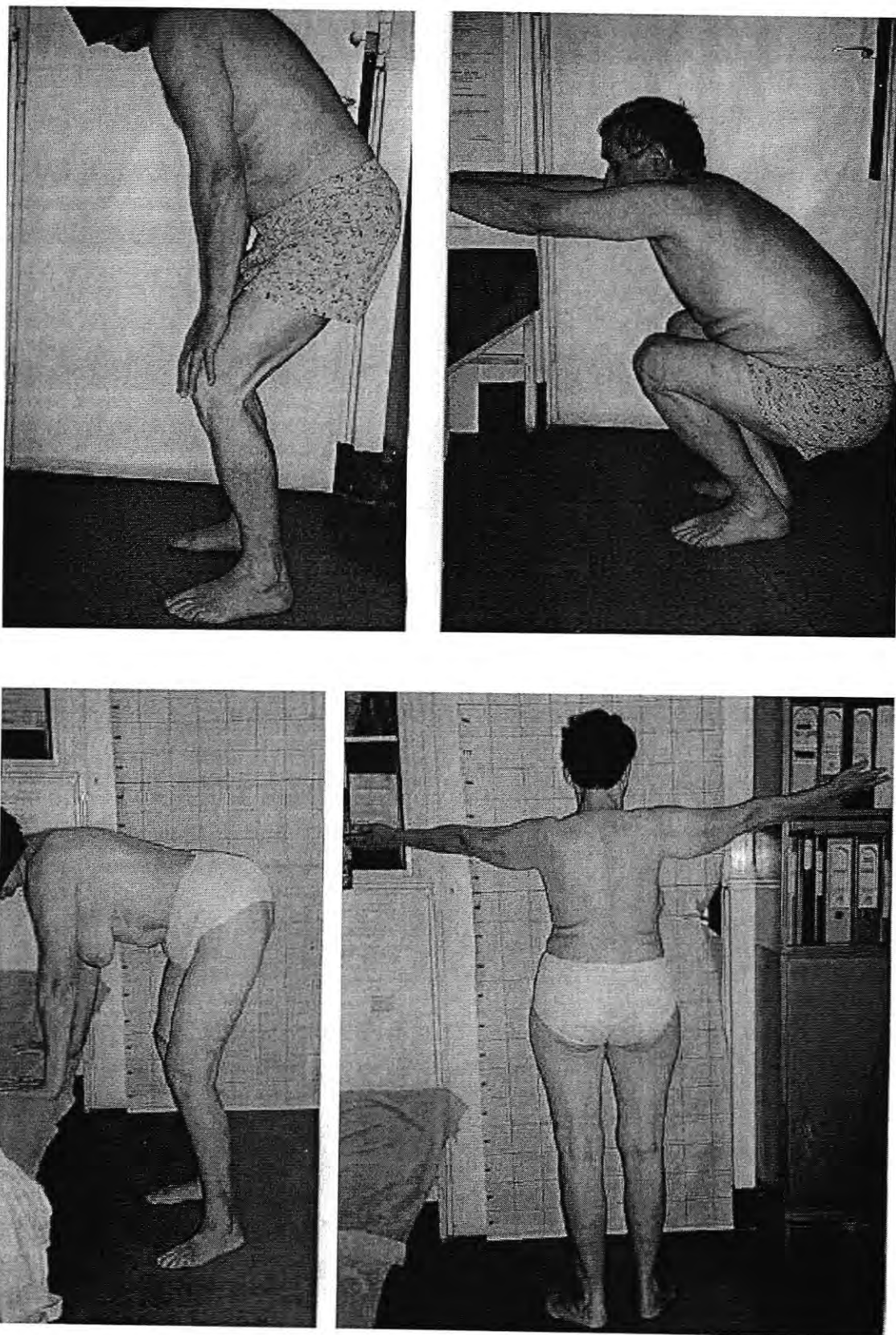
Nina CANKI-KLAIN

**Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Neurološka klinika i Hrvatski
institut za istraživanje mozga**

Okulofaringealna mišićna distrofija (OPMD) je relativno rijetka bolest, koju karakterizira postepena obostrana ptoza kapaka u kasnijoj životnoj dobi (Sl.1), disfagija, slabost mišića pojasnog obruča s naročitim zahvaćanjem zdjeličnog područja i donjih ekstremiteta (Sl.2) te u pravilu autosoman dominantan način nasljeđivanja (Sl.3).



Slika 1. Karakterističan izgled lica bolesnice s OPMD



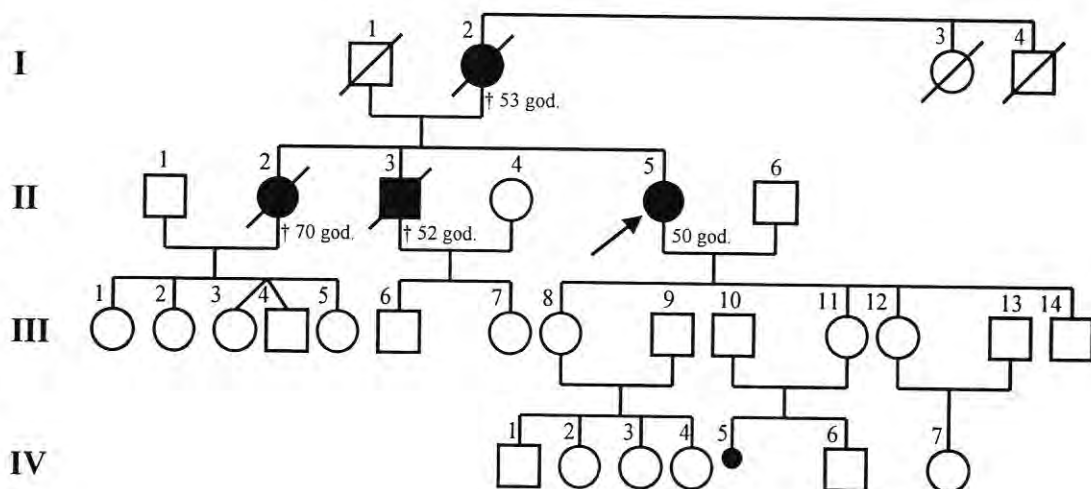
Slika 2. Slabost muskulature naročito zdjeličnog pojasa, dok su mišići ramenog pojasa manje zahvaćeni

OPMD-OKULOFRINGEALNA MIŠIĆNA DISTROFIJA

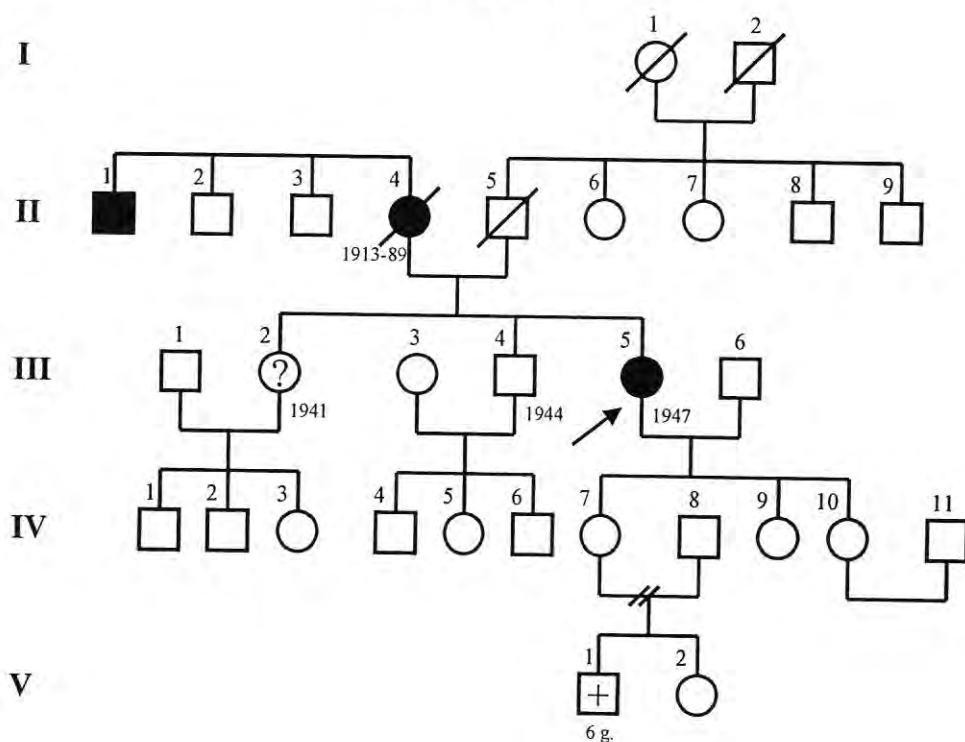
PABPN1 polyadenylate-binding protein, nuclear 1

(PABP2-poly(A)-binding protein-2)

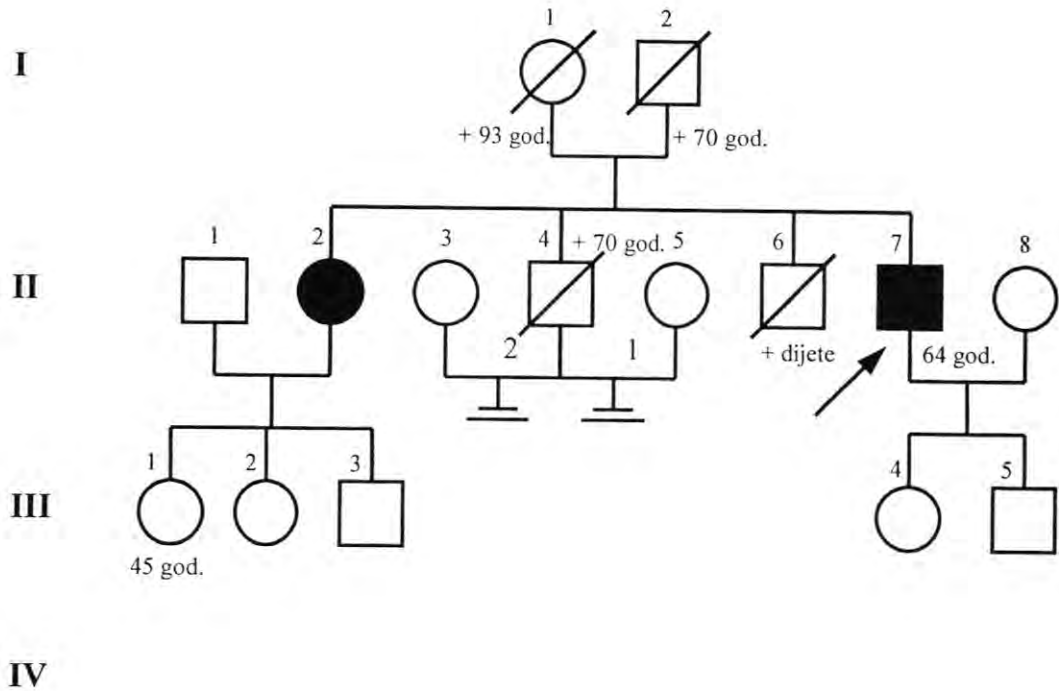
poveć anje GCG tripleta 6/ 9



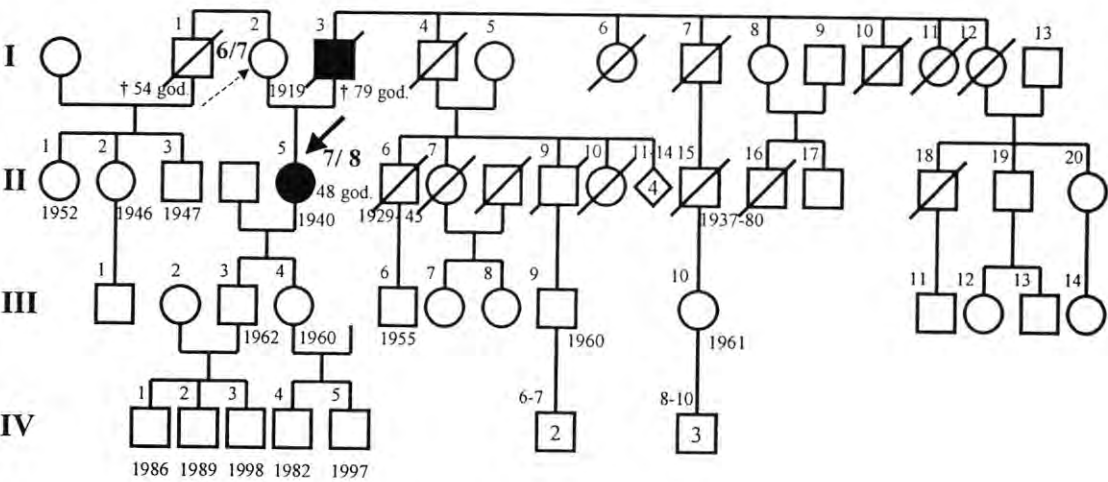
PABPN1 GCG 6/ 9

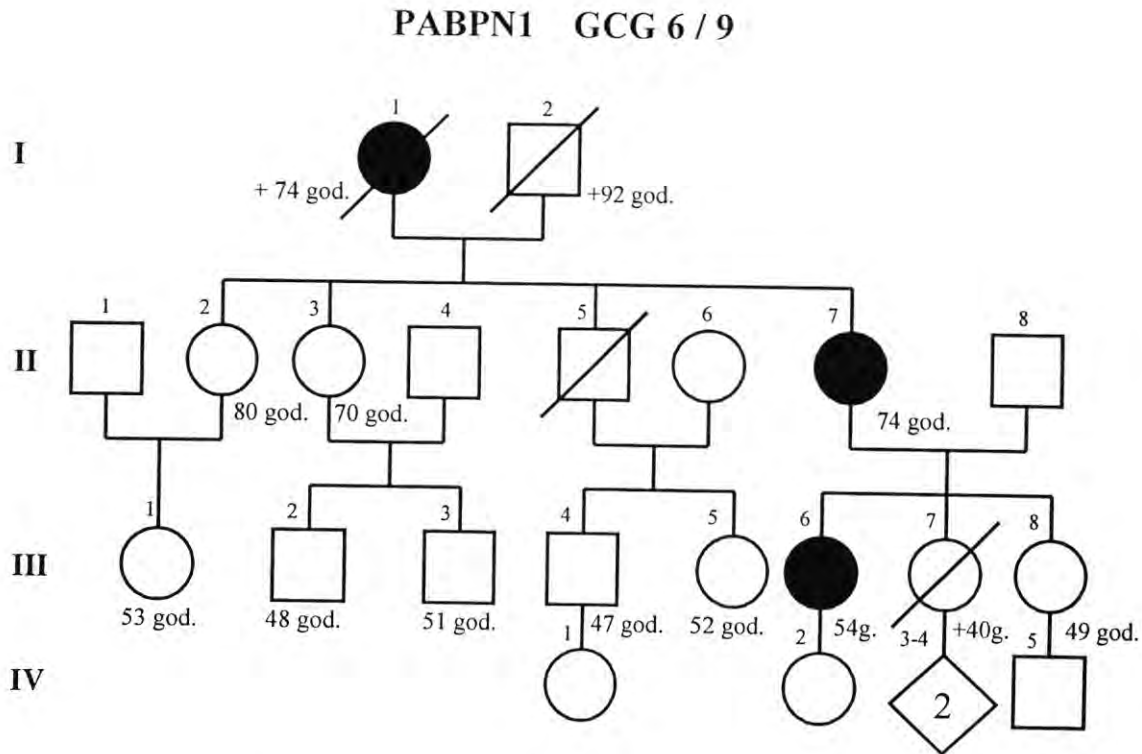
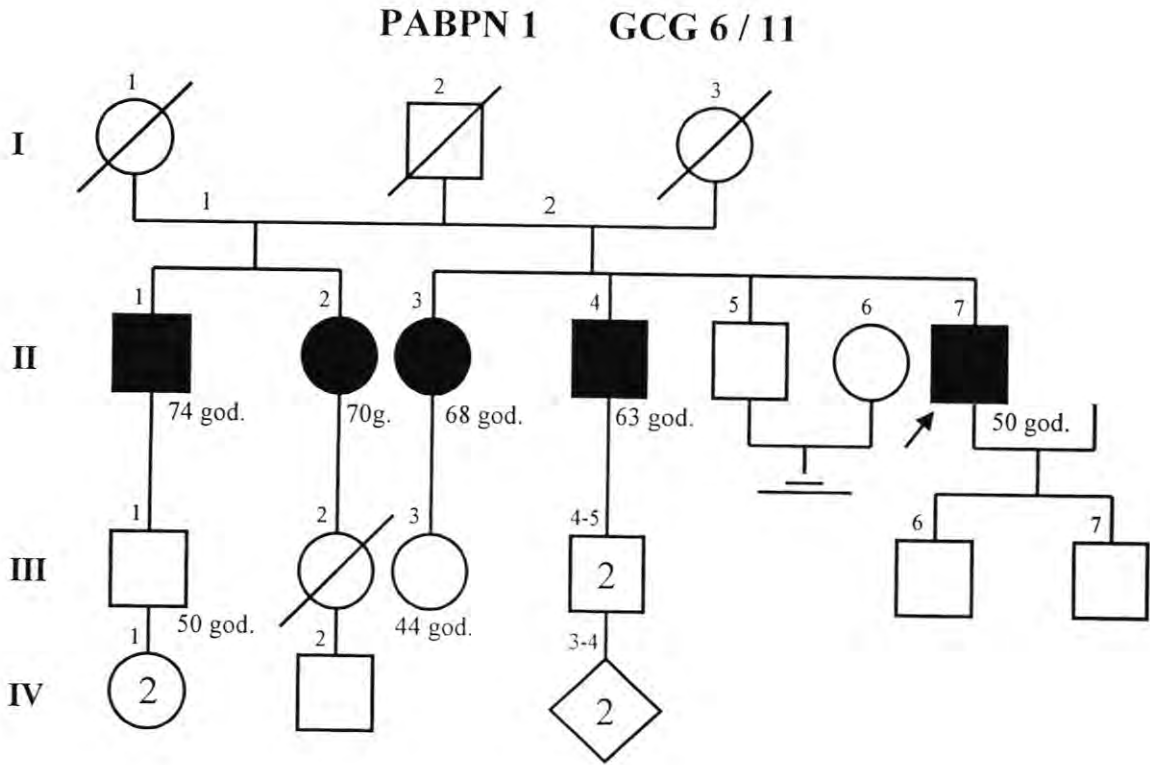


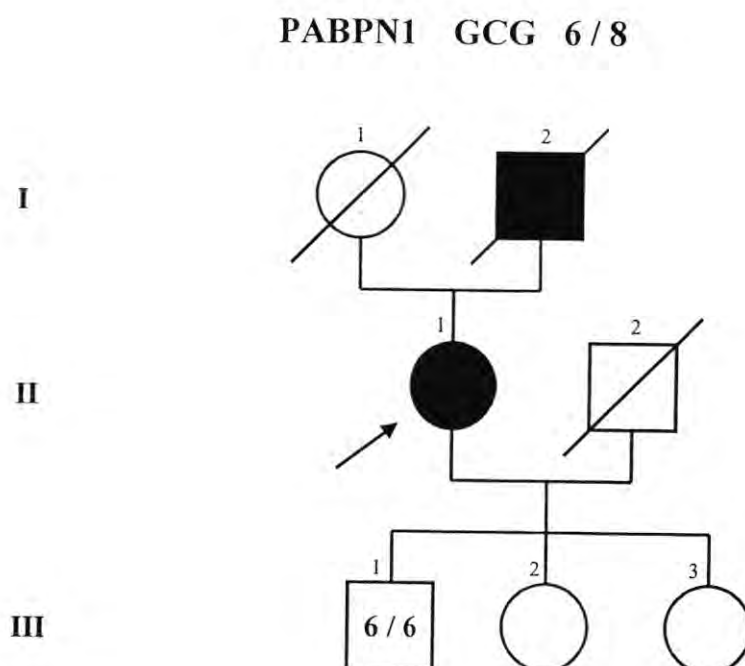
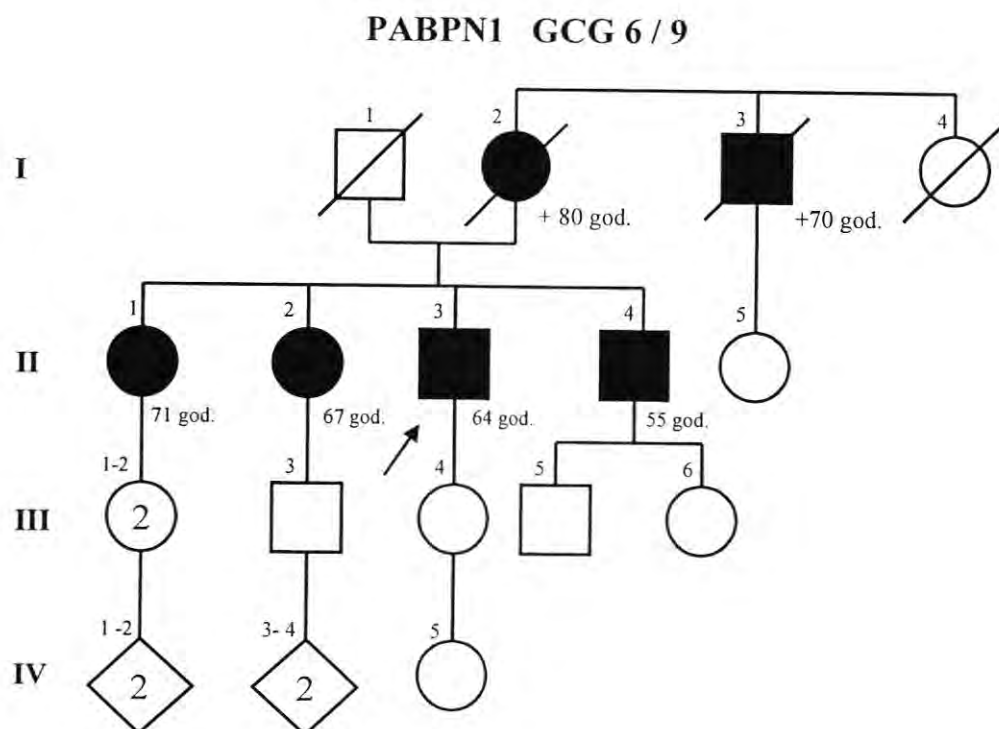
PABPN1 GCG 6/ 8



PABPN1 GCG 6/ 7
7/ 8







Slika 3. Rodoslovlja bolesnika, koje smo ispitivali i kod kojih je molekularna analiza potvrdila kliničku dijagnozu. Većina obitelji pokazuje vertikalni način nasljeđivanja t.j. prijenos bolesti iz generacije u generaciju bez obzira na spol što je karakteristika autosomno dominantnog načina nasljeđivanja.

OPMD je polako progresivna mišićna distrofija odrasle dobi, koja je raširena diljem svijeta. Dostupni podaci pokazuju, da je dosada opisana u 33 zemlje na četiri kontinenta s izuzetkom Afrike (1)

S epidemiološkog gledišta, ova bolest je zanimljiva, budući da je dosada u različitim dijelovima svijeta opisano više njezinih nakupina. Najveći broj bolesnika je otkriven u kanadskoj pokrajini Quebec gdje prevalencija iznosi 1:1000 stanovnika. 1997. Blumen i sur. (2) navode da su svi bolesnici koje su otkrili u Izraelu porijeklom iz Uzbekistana iz područja oko gradova Bukhara i Samarkand. Kako su otkrili 117 bolesnika iz populacija koja iznosi oko 70 000 ljudi, minimalna prevalencija iznosi 1: 600, što je dosada najviša prevalencija u svijetu. Vrlo opsežna genealoška istraživanja dugujemo poznatom kanadskom neurologu André Barbeau (1931-1986) (3) po kojem se bolest naziva i Barbeauovom ("Barbeau's disease).

Populacija kanadske pokrajine Quebec vrlo je instruktivna za proučavanje i razumijevanje humane genetike, što je izvršno i opisao Scriver (4). Kako je na toj populaciji otkriven gen, ukratko ću se osvrnuti na prje spomenuti članak.

Populacija pokrajine Quebec iznosi 7,3 milijuna stanovnika od kojih približno 6 milijuna otpada na francuske Kanadane. Oni su potomci približno 8500 francuskih doseljenika, koji su kolonizirali Novu Francusku između 1608. i 1759.god. Postojanje izvrsne dokumentacije o njihovoj doseljenosti, unutrašnjim migracijama kao i visoka rodnost kroz četiri stoljeća u relativnoj geografskoj, jezičnoj i drugoj izoliranosti, predstavljaju značajan dokaz za društveni prijenos demografskog ponašanja. Posljedice takvog ponašanja, uz veličinu obitelji i strukturu populacije, očituju se u neobično visokoj prevalenciji najmanje 22 monogenske bolesti.

Imigracija osoba ne francuskog podrijetla, do koje je došlo tijekom zadnjih 250 god. pridonijela je daljnjoj ne homogenosti, koja se očituje u alelskoj raznolikosti različitih gena.

Povijest pojedinih subpopulacija Quebeca u velikoj je mjeri povijest njihovih alela. Rijetki patološki aleli s visokom penetracijom zajedno s pridruženim haplotipovima odnose se na 10 monogenskih bolesti(među koje pripada i **PABPN 1 gen- uzročnik OPMD**) te otkrivaju inter i intrapopulacijsku raznolikost Quebeca. **Srodstvo** ne objašnjava grupiranje i prevalenciju tih genetskih bolesti. Rekonstrukcija rodoslovlja i njihova potvrda molekularnom analizom ukazuju u mnogim slučajevima na značenje učinka pridošlica "**founder effect**" i genetskog gomilanja "**genetic drift**".

Učestalost OPMD u našoj populaciji je nepoznata, ali se na osnovi broja obitelji i različitih alela, koje smo dosada u relativno kratkom razdoblju otkrili: 7, 8, 9, 11 (5-7) može se pretpostaviti, da bi bolest mogla biti češća nego što se obično smatra za Europu (1: 100 000) i da ne postoji "founder effect". Zajednički prospektivni i po mogućnosti retrospektivni rad neurologa, okulista, fonijatara, gastroenterologa, patologa i kliničkih genetičara na otkrivanju OPMD, trebao bi dati definitivan odgovor o incidenciji bolesti. Analiza haplotipa potvrdit će ili ukazati na moguće porijeklo određenih alela.

Literatura

1. Urtizberea J.A.; Oculopharyngeal muscular dystrophy. Orphanet encyclopedia, June 2001: <http://orphanet.infobiogen.fr/data/patho/GB/uk-OPMD.html>)
2. Blumen SC, Nisipeanu P, Sadeh M, Asherov A, Blumen N, Y Wirguin, Khilkevich O, Carasso RL, Korczyn AD. (1997) Epidemiology and inheritance of oculopharyngeal muscular dystrophy in Israel. Neuromuscular Disorders 7 Suppl 1: S38-S40.
3. Bouchard J-P (1997) André Barbeau and the oculopharyngeal muscular dystrophy in French Canada and North America Neuromuscular Disorders 7 Suppl 1: S5-S11
4. Scriver CR (2001) Human Genetics: lessons from Quebec populations. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2: 69-101
5. Canki-Klain N, Šoštarko M, Vranješ D, Urtizberea JA, Richard P, Zurak N (2000). Oculopharyngeal muscular dystrophy in a Croatian family with a short GCG expansion (GCG)₉ in PABP2 gene: a case report. Acta Myologica ; XIX/September:149-150.
6. Canki-Klain N, Richard P, Mitrovic Z, Milic A, Urtizberea JA, Zurak N. Severe form of oculopharyngeal muscular dystrophy in a Croatian family with compound heterozygote for the (GCG)₈ mutation and (GCG)₇ allele in PABP2 gene. Neuromuscular Disorders; 11/6-7: 654, F.P. 3.4.
7. Milić A, Zurak N, Brinar V, Canki-Klain N (2003) Oculopharyngeal muscular dystrophy-genotype studies in a Croatian population. Eur J Hum Genet, 11 Suppl 1:203, P0653

Zahvala

Autorica zahvaljuje svim kolegama koji su uputili bolesnike na genetsku analizu: mr.sc. Biserki Kovač, mr.sc. Zoranu Mitroviću, prof.dr. Nedi Stiglmayer, mr.sc. Davorki Vranješ i doc.dr.sc. Mariji Žagar. Isto tako zahvaljuje bolesnicima i njihovim obiteljima za suradnju.

**PATOMORFOLOŠKA I
MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA
OPMD**

MORFOLOŠKE PROMJENE MIŠIĆNIH VLAKANA KOD OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE

Danica LJUBANOVIĆ¹, Gordana JURIC², Anamarija BAUER ŠEGVIĆ¹

¹ Odjel za patologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb

² Zavod za patologiju, Klinički bolnički centar Zagreb

U ovom radu prikazan je slučaj 50-godišnje žene oboljele od okulofaringealne mišićne distrofije. Okulofaringealna mišićna distrofija je autosomno dominantno oboljenje koje karakterizira prisutnost specifičnih inkluzija u jezgri mišićnih stanica.

Materijal

Bioptički uzorci poprečno prugastog mišićnog tkiva nadlaktice ispitani su svjetlosnim i elektronskim mikroskopom.

Metode

Uzorci tkiva za svjetlosno mikroskopsku analizu fiksirani su u formalinu, uklopljeni u parafin, te rezovi bojani hemalaun eosinom.

Uzorci za elektronsko mikroskopsku analizu fiksirani su glutaraldehidom, postfiksirani osmij tetroksidom, kontrastirani uranil acetatom, te uklopljeni u Epon.

Rezultati

Svjetlosno mikroskopskim pregledom vide se poprečna i uzdužna mišićna vlakna različite debljine. Raspored mišićnih vlakana unutar snopa je uobičajen, ali sa jače razmaknutim snopovima i širim praznim prostorima između njih (Sl. 1 i 2).

Na polutankim prerezima uočena su svjetlija područja u jezgri u odnosu na okolni sadržaj (Sl. 3, strelice).

Uzorci pregledani elektronskim mikroskopom pokazuju urednu veličinu i raspored mišićnih stanica, jasno vidljivih staničnih membrana. U mišićnim stanicama vlakna

su mjestimice nejednakih debljina, ponegdje iskidana i rascijepana. Mitohondriji su urednog izgleda. Unutar jezgri vide se područja svjetlija od okolnog sadržaja (Sl. 4). Te inkluzije se sastoje od tubularnih filamenata nepravilnog rasporeda (Sl. 5). Različitih su veličina, negdje vrlo male a negdje zauzimaju znatan dio jezgre. Nalaze se samo u jezgrama mišićnih stanica, nema ih u citoplazmi niti u ostalim stanicama ispitivanog tkiva.

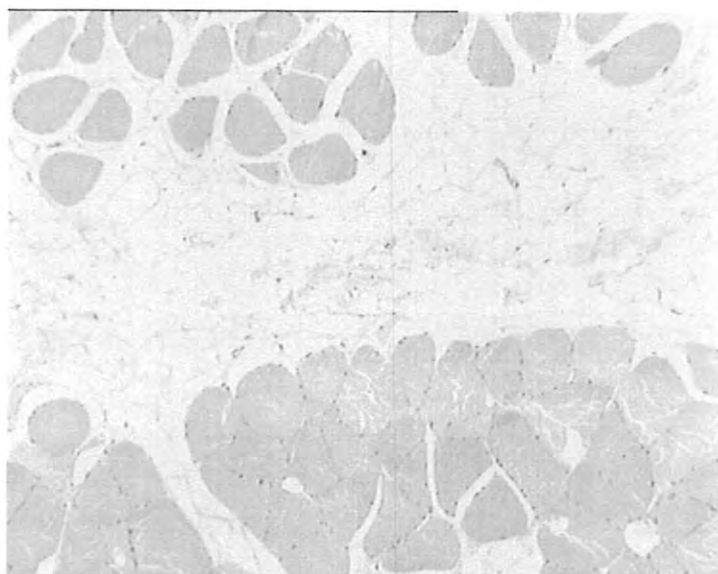
Intranuklearne inkluzije karakteristične su za okulofaringealnu mišićnu distrofiju.

Literatura

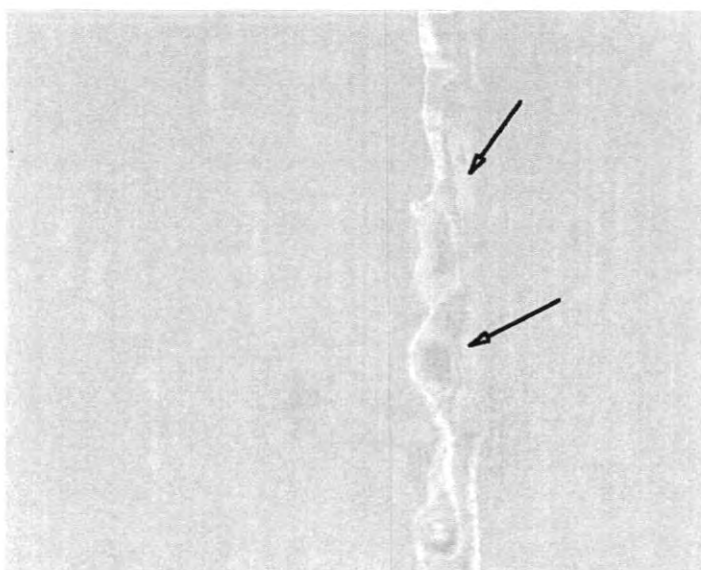
1. Fardeau M, Tome FM (1997) Oculopharyngeal muscular dystrophy in France. *Neuromusc Disord*, 7(Suppl 1): S30-33
2. Tome FM, Chateau D, Helbling-Leclerc A, Fardeau M (1997) Morphological changes in muscle fibers in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neuromusc Disord*, 7 (Suppl 1): S63-69



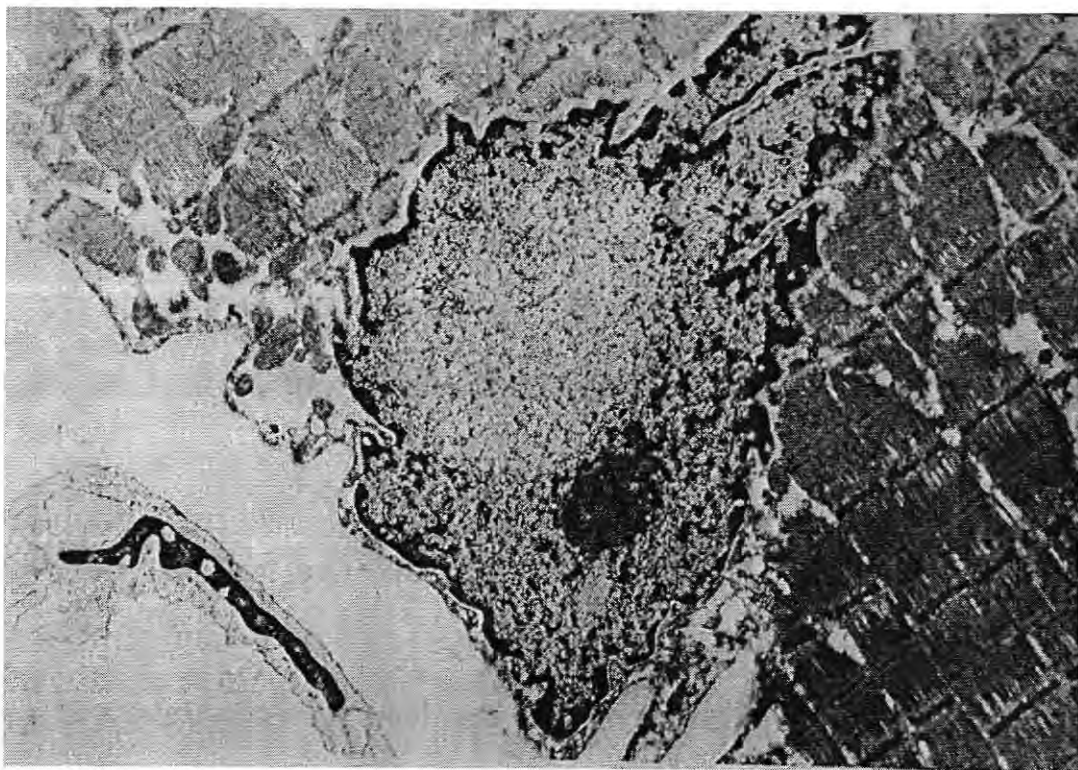
Slika 1. Uzdužni presjek poprečno prugastog mišića. Vide se mišićna vlakna različite debljine. H&E (X 160)



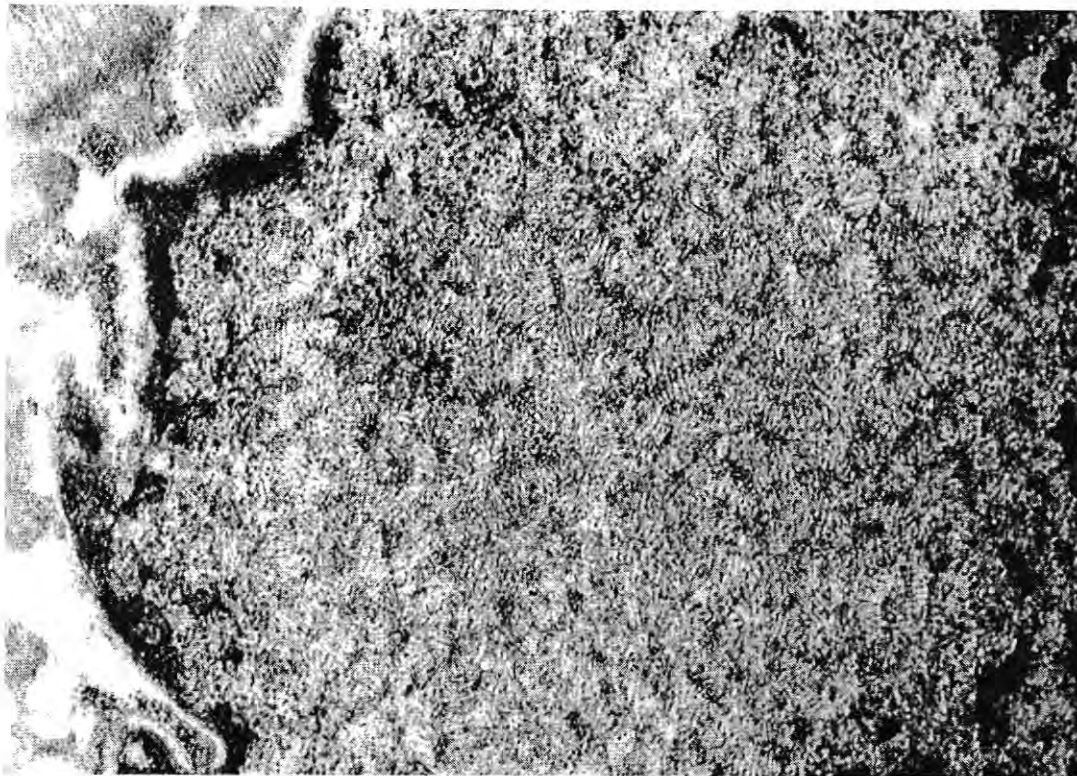
Slika 2. Poprečni presjek mišićnog vlakna. Normalan raspored mišićnih vlakana, ali sa jace razmaknutim snopovima i širim praznim prostorima između. H&E (X 160)



Slika 3. Polutanki prerez. Strelice pokazuju svjetlija područja unutar jezgri mišićnih stanica. Toluidin blue. (X 1 000)



Slika 4. Dio mišićne stanice sa jezgrom u kojoj se vidi inkluzija ispunjena filamentima nepravilnog rasporeda. (X 9200)



Slika 5. Dio inkluzije, ultrastrukturni izgled filamenata. (X 26 000)

MOLEKULARNA GENETIKA I DIJAGNOSTIKA OPMD

Astrid MILIĆ¹ i Nina CANKI-KLAIN^{1,2}

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

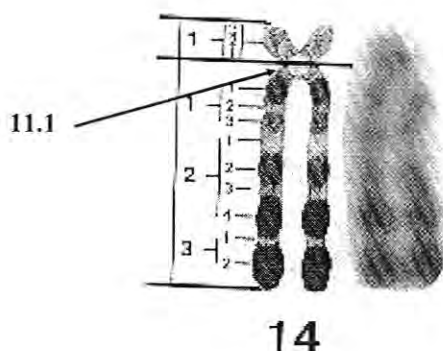
¹Hrvatski institut za istraživanje mozga, Šalata 12, i KBC Zagreb, ²Neurološka klinika, Kišpatićeva 12

Okulofaringealna mišićna distrofija (OPMD; OMIM 164300)(1) je autosomno dominantno neuromuskularno oboljenje koje karakterizira disfagija, progresivna ptoza očnih kapaka, te slabost proksimalnih mišića. OPMD nastaje kao posljedica mutacija u PABPN1 genu koji kodira istoimeni **PABPN1** protein (engl. *polyadenylate-binding protein, nuclear 1*; OMIM 602279). Alternativni i još uvijek više korišten naziv za PABPN1 gen, odnosno protein je **PABP2** (engl. *poly (A)-binding protein-2*) (2).

Molekuarna genetika

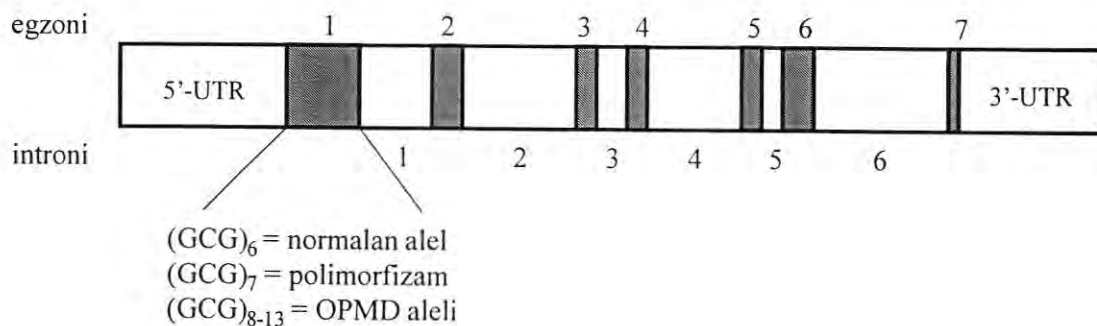
1995. Brais i suradnici (2) su korištenjem analize genetske povezanosti (engl. *genetic linkage analysis*) na 3 velike kanadske obitelji francuskog porijekla, u kojima je postojala klinička slika OPMD, pokazali da se gen odgovoran za nastanak ove distrofije nalazi na kromosomu 14, u području dugog kraka kromosoma 14 (q11.2-q13) (slika.1). Potvrdu smještaja OPMD gena na spomenutom dijelu kromosoma 14 poduprle su nadalje analize 5 američkih (3), jedne njemačke (4), te australske (5) i japanske obitelji (6), a kasnije i širom svijeta.

Pretraživanjem 217 kb velikog područja na kromosomu 14q11 posumnjalo se, da je **PABP2** gen potencijalni gen kandidat za OPMD, tj. da su njegove mutacije odgovorne za nastanak okulofaringealne mišićne distrofije. **PABP2** gen je bio dobar kandidat za OPMD jer se nalazio u području 14q11, koje je prethodno analizom genetske povezanosti ustanovljeno u bolesnika s OPMD. Nadalje, njegova glasnička RNA (mRNA) se najviše očitovala u skeletnom mišiću a njegov proteinski produkt (**PABPN1** protein) je lokaliziran u jezgri stanice (7).



Slika 1. Kromosom 14

PABPN1 gena ima 6 000 parova baza (bp =base pair), a podijeljen je na 7 kodirajućih jedinica (egzona) i 6 nekodirajućih jedinica (introna) (slika.2.).



Slika 2. Organizacija PABPN1 gena.

Prva i ujedno najveća kodirajuća jedinica iznosi 400 bp i vrlo je bogata GC parovima (80%). Iako je određivanje slijeda nukleotida u prvoj kodirajućoj jedinici bilo složeno uslijed visoke zastupljenosti GC parova, ono je ujedno i riješilo zagonetku o ulozi PABPN1 gena u nastanku OPMD. Naime, kada su Brais i suradnici 1998.(7) uspješno umnožili egzon 1 lančanom reakcijom polimeraze (PCR), uočeno je da svi potencijalni OPMD bolesnici (ukupno iz 144 obitelji) imaju veći produkt PCR reakcije od kontrolnih uzoraka. DNA sekvencioniranje tih PCR produkata otkrilo je povećani broj GCG tripleta u egzonu 1. U normalnom slijedu postoji 6 GCG ponavljanja, dok je u OPMD bolesnika broj tripleta bio povećan od 8 do 13 ponavljanja. GCG ponavljanja od 7 tripleta predstavljaju polimorfizam koji djeluje kao modifikator težine bolesti, a može djelovati i kao recesivna mutacija. U

kanadskoj populaciji francuskog porijekla 2% normalnih kromosoma nosi (GCG)₇ polimorfizam (7).

Osim povećanja broja GCG tripleta, u literaturi su opisani i slučajevi okulofaringealne mišićne distrofije koji nastaju kao posljedica kombinacija povećanja ili GCG ili GCA tripleta koji se nalaze u neposrednoj blizini GCG ponavljanja (8, 9, 10). Točnije, u normalnom slijedu gena šest GCG tripleta (čije je povećanje na 8-13 ponavljanja uzrokom OPMD) slijede tri GCA tripleta te ponovno jedan GCG triplet, tj. (GCG)₆(GCA)₃GCG. Među OPMD bolesnicima iz Meksika (Cajun populacija), Japana i Nizozemske, pronađeni su slijedeći slijedovi unutar egzona 1 koji također uzrokuju OPMD:

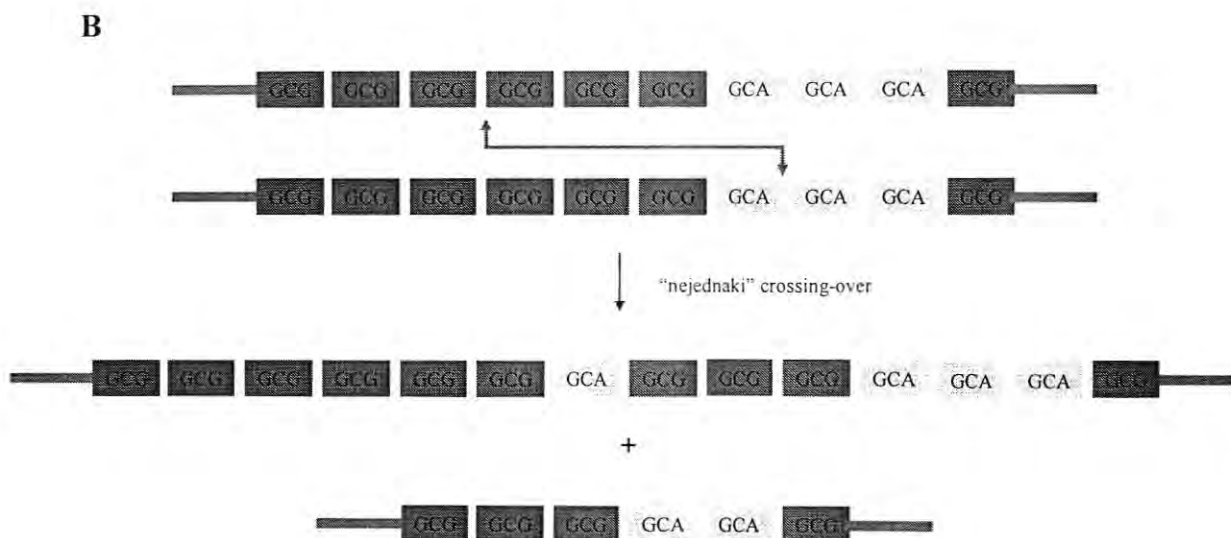
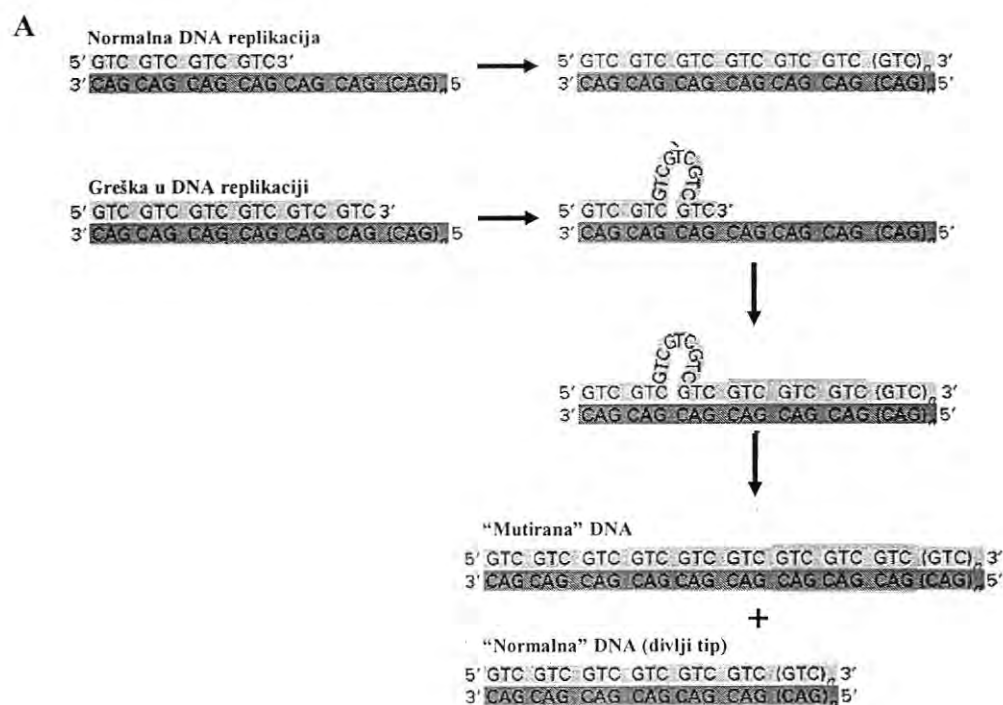
- (GCG)₆GCA(GCG)₃(GCA)₃GCG (Japan),
- (GCG)₆(GCA)₃(GCG)₂(GCA)₃GCG (Japan),
- (GCG)₆GCA(GCG)₂(GCA)₃GCG (Meksiko) i
- (GCG)₆(GCA)₂(GCG)₂(GCA)₃GCG (Nizozemska).

Kako GCA triplet kodira istu aminokiselinu kao i GCG triplet (alanin), posljedice za te bolesnike su na razini proteina iste kao i za one sa «klasičnim» povećanjem broja GCG tripleta. Postojanje nabrojenih promjena u PABPN1 genu važnije je za objašnjenje molekularnog mehanizma nastanka OPMD.

Točan mehanizam nastanka okulofaringealne mišićne distrofije još uvijek nije poznat (11). Nakon otkrića da povećanje broja GCG tripleta u PABPN1 genu uzrokuje OPMD pretpostavilo se, da bi odgovoran mehanizam bilo tzv. klizanje lanca (engl. *strand slippage, genetic slippage*) (slika 3A). Istim se mehanizmom objašnjava nastanak nekih drugih neurodegenerativnih (npr. Huntingtonova bolest) i neuromuskularnih (npr. miotonična distrofija) bolesti koje također nastaju uslijed povećanja broja tripleta. Međutim, OPMD od tih oboljenja dijele tri bitne razlike:

1. mejotička stabilnost, odnosno broj tripleta ostaje isti u slijedećim generacijama
2. mitotska stabilnost, tj. sve stanice u tijelu čovjeka imaju isti broj ponavljanja
3. broj ponavljanja je u slučaju OPMD mnogo manji nego u prije nabrojenih bolesti koje uzrokuju tzv. dinamičke mutacije.
4. u posljednje vrijeme se smatra da postoji još četvrta razlika, a vezana je uz mehanizam nastanka OPMD.

Smatra se da klizanje lanca nije prihvatljivo objašnjenje za nastanak OPMD. U prilog toj hipotezi govore i prije spomenute kombinacije broja i redoslijeda GCG i GCA tripleta koje uzrokuju OPMD. Isto tako postoji hipoteza, da mora postojati slijed od najmanje 25-35 istih trinukleotida, da bi područje gena postalo nestabilno i podložno povećanju broja tripleta mehanizmom klizanja lanca (12). Zbog navedenog se sve više prihvaća, da je tzv. nejednaki crossing-over (engl. *unequal crossing-over*) (slika.3B) molekularni mehanizam nastanka OPMD. Radi se o jednoj vrsti homologne rekombinacije koja može objasniti sve do sada opisane promjene u PABPN1 genu, koje su kao posljedicu imale kliničku sliku OPMD.



Slika 3.A. Povećanje broja tripleta (CTG) mehanizmom klizanja lanca **B.** Povećanje broja GCG i GCA tripleta mehanizmom «nejednakog» crossing-overa

PABPN1 protein

PABPN1 protein (engl. *polyadenylate-binding protein, nuclear 1*) je produkt istoimenog gena koji uzrokuje nastanak OPMD. Poznato je da se veže na poliadenilacijsko mjesto u preglasničkoj RNA (pre-mRNA), te da regulira proces poliadenilacije i početak translacije glasničke RNA. Povećanje broja alaninskih ostataka kodiranih tripletima GCG ili GCA, a koje je prisutno u OPMD bolesnika, onemogućava normalno odvijanje prije spomenutih staničnih procesa, a u konačnici dovodi do smrti stanice. Na staničnoj razini mutirane molekule PABPN1 proteina se nagomilavaju u jezgri, stvarajući pritom inkluzije vidljive pod elektronskim mikroskopom (vidi sl.4. i 5. u Ljubanović i sur.) Još uvijek nije poznato zašto su samo neke grupe mišića zahvaćene u OPMD bolesnika, ako znamo da se PABPN1 protein izražava u svim tkivima.

Molekularna dijagnostika OPMD

Molekularna dijagnostika okulofaringealne mišićne distrofije uključuje nekoliko metoda:

1. Izolacija DNA iz pune krvi
2. Lančana reakcija polimerazom (engl. *polymerase chain reaction, PCR*)
3. Poliakrilamidna gel elektroforeza (PAGE):
 - (a) na «klasičnoj» aparaturi ili
 - (b) u DNA sekvenatoru
4. (a) bojanje gela srebrom ili
(b) kompjutersko očitavanje rezultata

Principi svih navedenih metoda biti će objašnjeni u poglavlju «Vježbe: Molekularna dijagnostika OPMD»

LITERATURA:

1. OMIM: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
2. Brais B, Xie YG, Sanson M, Morgan K, Weissenbach J, Korczyn AD, Blumen SC, Fardeau M, Tome FM, Bouchard JP et al (1995) The oculopharyngeal dystrophy locus maps to the region of the cardiac alpha and beta myosin heavy chain genes on chromosomes 14q11.2-q13. *Hum Mol Genet*, 4: 429-434
3. Stajich JM, Gilchrist JM, Lennon F (1996) Confirmation of linkage of oculopharyngeal muscular dystrophy to chromosome 14q11.2-q13. *Ann Neurol*, 40: 801-804
4. Muller CR, Kress W, Porschke H (1996) Genetic heterogeneity of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neuromusc Disord*, 6: S30

5. Teh BT, Sullivan AA, Farnebo F (1997) Oculopharyngeal muscular dystrophy: report and genetic studies of an Australian kindred. *Clin Genet*, 51: 52-55
6. Uyama E, Nohira O, Tome FM, (1997) Oculopharyngeal muscular dystrophy in Japan. *Neuromusc Disord*, 7(Suppl 1): 41-49
7. Brais B, Bouchard JP, Xie YG, Rochefort DL, Chretien N, Tome FM, Lafreniere RG, Rommens JM, Uyama U, Nohira O, Blumen S, Korczyn AD, Mathieu J, Duranceau A, Codere F, Fardeau M, Rouleau GA (1998) Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nature Genetics*, 18: 164-167
8. Scacheri PC, Garcia G, Herbert R, Hoffman EP (1999). Unique PABP2 mutations in «Cajuns» suggest multiple founders of oculopharyngeal muscular dystrophy in populations with French ancestry. *Am J Med Genet*, 86: 477-481
9. Nakamoto M, Nakano S, Kawashima S, Ihara M, Nishimura Y, Shinde A, Kakizuka A (2002) Unequal crossing-over in unique PABP2 mutations in Japanese patients. *Arch Neurol*, 59: 474-477
10. Van der Sluijs BM, Van Engelen BGM, Hoefsloot LH (2003) Oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) due to a small duplication in the PABPN1 gene. *Hum Mutat*, 21(5): 553
11. Brais B (2003) Oculopharyngeal muscular dystrophy: a late-onset polyalanin disease. *Cytogenet Genome Res*, 100(1-4): 252-260
12. Kunst CB, Warren ST (1994) Cryptic and polar variation of the fragile X repeat could result in predisposing normal alleles. *Cell*, 77: 853-861

KLINIČKA SLIKA I DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA OPMD

ULOGA NEUROLOGA U DIJAGNOSTICI I DIFERENCIJALNOJ DIJAGNOZI OKULOFARINEGALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE

Osman SINANOVIĆ

**UKC Tuzla, Medicinski fakultet Univerziteta u Tuzli,
Neurološka klinika, Tuzla, Bosna i Hercegovina**

Uvod

Okulofaringealna mišićna distrofija (OFMD) je relativno rijetka autosomalna primarno dominantna generalizirana miopatija (postoji i recesivna forma) sa skoro kompletnom penetrantnošću, koja se karakteriše kasnim početkom (obično tokom šeste decenije života) progresivne ptoze očnih kapaka i disfagijom, koja je praćena zahvaćanjem i drugih facijalnih ili udnih mišića (Bouchard, Brais i Tome, 1999; Brais, Roulen, 2002).

Procijenjena stopa prevalencije za autozomalno dominantnu formu se kreće 0.5-1/100.000, a bolest je najučestalija u populaciji Kanađana Francuskog porijekla (1/1000) i Bukhara Jevreja (porijeklom iz bivšeg Sovjetskog saveza (Bukhara, Uzbekistan) koji žive u Izraelu (1/600). Učestalije grupisanje bolesti je zabilježeno u Kvebeku, Montevideu, Urugvaju, Njemačkoj, te u populaciji Amerikanaca Španskog porijekla (Kanarska ostrva) u Koloradu, Novom Meksiku i Arizoni. Procijenjena prevalenca recesivne forme iznosi 1/10.000 u Kvebeku, Francuskoj i Japanu (Blumen i sar., 1997; Medici i sar., 1997; Brais, Roulen, 2002).

Prvi jasan opis ove mišićne distrofije je dao Taylor (1915) ističući familijarnu udruženost ptoze i disfagije u porodici Kanadsko-Francuskog porijekla. Godinama je ovaj sindrom svrstavan u tzv. okularne miopatije. Tek 1962 godine OFMD je od strane Victora, Hayesa i Adamsa prepoznata kao posebna mišićna distrofija, od kada započinje moderna era istraživanja ovog oboljenja. Oni su utvrdili da se kod ove bolesti radi o primarnoj miopatiji što je presudilo u njihovom izboru imena bolesti. Nekoliko godina kasnije (1969) Raymond Adams, u koautorstvu sa Rebeizom i Caulfiedom, na bazi cjelokupne autopsije jednog italijanskog slučaja su potvrdili generaliziranu mišićnu zahvaćenost u OFMD.

Naredni veliki korak u historiji OFMD su dali Tome i Fardeau (1980) koji su opisali patognomonične morfološke elektronskomikroskopske markere za ovu bolest – prisustvo filamentoznih intranuklearnih inkluzija u skeletnim mišićima, što je nakon toga ekstenzivno korišteno za egzaktnu potvrdu dijagnoze ove bolesti (Tome i sar., 1997). Petnaest godina kasnije Brais i sar. (1995a) su locirali genski defekt za OFMD, kratku (GCG)8-13 ekspanziju na hromozomu 14q11.2-q13, a potom (1998) identificiran je genski produkt – poly A vezujući protein 2 (PABP2) lokaliziran u ćelijskom jedru i uključen u messenger RNK poliadenilaciju.

Klinička slika

Autozomalno dominantna forma OFMD može imati varijabilnu kliničku sliku. Bolest obično počinje u šestoj deceniji života ali je početak moguć i ranije (30-40 godina), sa slabošću očnih mišića i umjerenom ptozom. Stvarni početak bolesti je u biti vrlo teško odrediti (Bouchard, Brais i Tome, 1999; Brais, Roulen, 2002). Homozigotni slučajevi su vrlo rijetki, ali su neki potvrđeni molekularnim studijama u Kvebeku (Brais i sar., 1995b). Njihova simptomatologija je ista kao i kod heterozigota koji su dominantni, ali ovdje bolest počinje mnogo ranije, po nekim saopštenjima u prosjeku 18 godina prije nego u slučaju heterozigota (Blumen i sar., 1999).

Ptoza, u početku može biti prilično asimetrična, vremenom postaje sve izraženija, a pokretljivost očnih jabučica sve ograničenija do potpune nepokretnosti u svim pravcima. Uporedo sa razvojem okularnih slabosti ili brzo potom razvijaju se poteškoće gutanja koje mogu ići do potpune nemogućnosti. Slabost facijalnih mišića je prisutna u mnogim slučajevima, a slabost mišića ramenog i karličnog pojasa je raširena u kasnoj fazi bolesti. Smrt obično nastupa zbog izgladnjelosti i pneumonije koja je inicirana aspiracijom sekreta.

Predloženi klinički dijagnostički kriteriji za dominantnu OFMD uključuju: (1) pozitivnu porodičnu anamnezu, (2) ptozu sa bar jednom palpebralnom fisurom u miru užom od 8 mm i (3) disfagiju sa vremenom gutanja dužim od 7 sec, kada se od bolesnika traži da popije 80 ml ledeno hladne vode (Brais, Roulean, 2002).

Recesivna forma OFMD fenotipski je slična dominantnoj formi, mada je moguća veoma blaga klinička slika u slučajevima kasnijeg početka bolesti.

Klinička dijagnoza dominantne OFMD je bazirana na pomenutim kriterijumima. Kao što je već rečeno ptoza očnih kapaka je obično asimetrična i prvi je simptom i objektivni znak u preko 70% slučajeva, sa prosječnom pojavom oko 50-te godine života. Prisutna je u skoro svim slučajevima u dobi preko 60 godina. Oftalmopareza, kada je prisutna, obično je umjerena i najčešće se manifestuje kao limitiranost pogleda na gore (u oko

61% slučajeva), posebno u starijih bolesnika sa dugotrajnom ptozom. Rijetko uzrokuje diplopije.

Disfagija je ponekad, posebno u muškaraca, prvi simptom u OFMD. Sa njenim napredovanjem može se javljati nazalna regurgitacija, te inkarceracija hrane i trahealna aspiracija. Brzi gubitak na težini i rekurentne upale pluća obično se dešavaju u kasnijoj fazi bolesti i zahtijevaju brzu hiruršku evaluaciju.

Disfonija je prisutna u preko 65% slučajeva. U ovih pacijenata prisutna je slabost laringealnog tenzornog mišića što uzrokuje gubitak kontrole laringealnih protektivnih mehanizama i favorizovanje aspiracije.

Miopatski facies sa naboranim čelom (Hutchinsonov facies), zaravnjenom facialnom ekspresijom i u nekih slučajeva sa transversalnim osmijehom, se opisuje kao jedna od karakteristika OFMD (u oko 43% slučajeva), ali testiranje mišića u većini slučajeva pokazuje tek neznatnu slabost mm. orbiculares oculi et oris.

Slabost jezika je česta u Kanadasko-Francuskim slučajevima (oko 82%) i jasno se povećava sa progresijom bolesti, mada jezik rijetko pokazuje značajnu atrofiju i zadržava svoju funkciju.

Aksijalna slabost se ponekad viđa na trupu i vratu. Fleksori vrata bivaju u tim slučajevima češće zahvaćeni nego ekstenzori. U uznapredovalom stadijumu bolesti mogu biti prisutne značajne atrofije mišića poda ustiju i prednjeg zida vrata, posebno hioidne mišićne grupe, producirajući vidljiv žlijeb iznad hioidne kosti na prednjoj strani varata.

Uz pažljiv pregled, *proksimalna udna slabost*, posebno pelvičkog pojasa, može biti prvi znak bolesti. U kasnijoj fazi bolesti prisutna je u preko 70% slučajeva. Kada su prisutne, distalne slabosti su uvijek udružene sa ranijim i naglašenijim proksimalnim slabostima. Mišićne atrofije nisu dominirajuće u ekstremitetima. Ne zapažaju se fascikulacije, a krampovi nisu prisutni. Duboki tetivni refleksi su često reducirani u zahvaćenim ekstremitetima.

Druge bolesti nisu udružene sa OFMD u najvećem broju do sada objavljenih slučajeva. Klinička dijagnoza recesivne OFMD je složenija. Kasno nastala ptoza i disfagija bez jasne porodične anamneze treba da pobudi sumnju na ovu formu bolesti.

Dijagnoza i diferencijalna dijagnoza

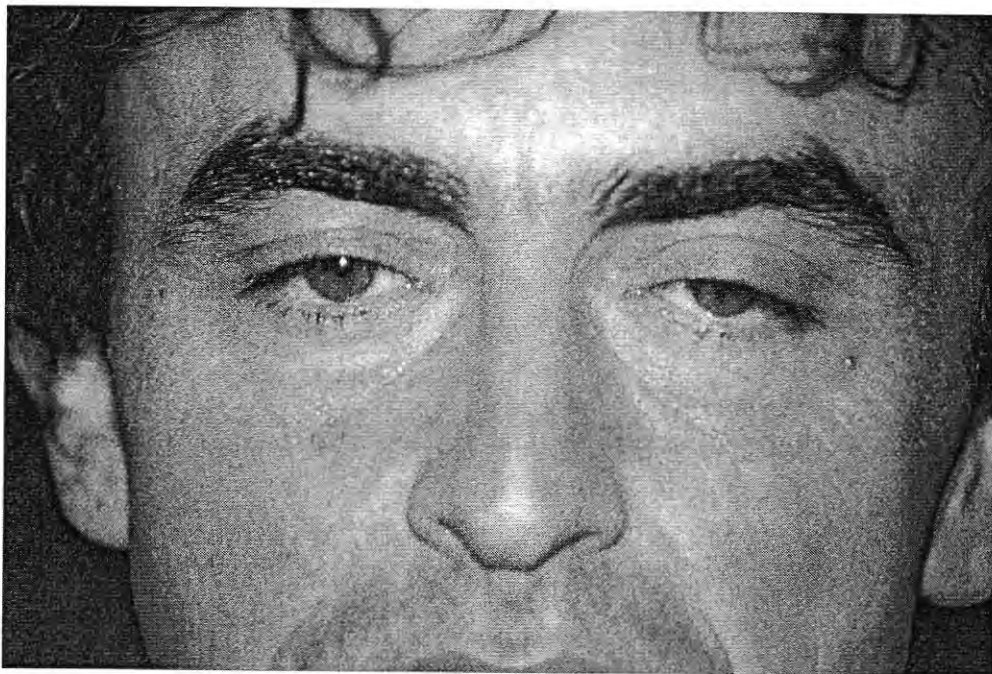
Pažljivo uzeta anamneza bolesti sa kasnim početkom i porodična anamneza sa tipičnim autozomalnim tipom nasljeđivanja, uključujući neurološki pregled koji pokazuje uobičajenu distribuciju mišićnih slabosti će obično

dovesti do dijagnoze OFMD. Međutim, u očigledno sporadičnim slučajevima ili kada simptomi bolesti nisu potpuno razvijeni, diferencijalno dijagnostički se moraju razmotriti i druge mogućnosti.

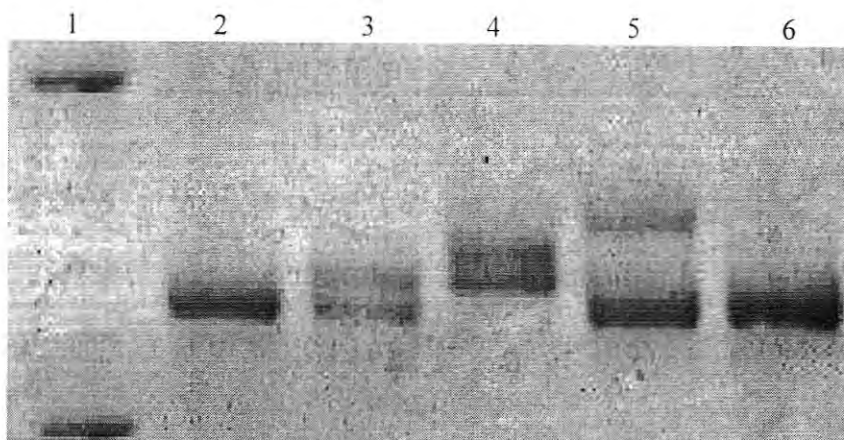
Diferencijalna dijagnoza uključuje: 1. miotoničku mišićnu distrofiju; 2. autozomalno-dominantnu distalnu miopatiju; 3. mijasteniju gravis; 4. mitohondrijalnu miopatiju sa ili bez progresivne eksterne oftalmoplegije, uključujući mitohondrijalni neurogastrointestinalni encefalopatski sindrom i Kearns-Sayreov sindrom.

Odsustvo porodične anamneze i prisustvo fluktuirajućih simptoma u **miastenije gravis** (MG) obično nas ne usmjerava ka OFMD. Međutim, u pojedinim slučajevima umjerena generalizirana MG sa okularnim i bulbarnim simptomima može pokazivati kliničku sliku sa ptozom, naboranim čelom, disfagijom, promjenom glasa, slabostima jezika i proksimalnim mišićnim slabostima, bez značajne vremenske fluktuacije kao i tokom napora (Sl.1a,b). Edrophonium (Tenzilon) test je tipično pozitivan kod MG, ali ponekad u ovakvim slučajevima nismo sigurni u njegov pozitivitet. EMG testiranje neuromišićne spojnice, može naravno pomoći u otklanjanju dijagnostičke dileme, kao i određivanje neuromišićnog džitera, te titra cirkulišućih antitijela na nikotinske acetilholinske receptore što, nažalost nije dostupno u svim kliničkim centrima pa i zemljama. U ovakvim slučajevima genetska dijagnoza otklanja sve dileme, kao u ovog bolesnika prikazanog na slici kod koga su utvrđena dva normalna alela 6/6. (Sl..2)





Slika 1a i b. Pacijent sa umjereno generaliziranom mijastenijom gravis, sa dominirajućom ptozom u kliničkoj slici, bez značajne fluktuacije simptoma tokom vremena i napora



Slika 2. Rezultat genetske analize pacijenta prikazanog na slici 1a i b. Stupac 1: biljeg mol.mase; stupac 2: kontrolni uzorak 6/6; stupac 3: kontrolni uzorak 6/7; stupac 4: kontrolni uzorak 7/8; stupac 5: kontrolni uzorak 6/9; stupac 6: pacijent (slika 1): normalan nalaz 6/6 (Hrvatski institut za istraživanje mozga, Astrid Milić, Nina Canki-Klain)

U **Kearns-Sayreovom** sindromu ptoza i oftalmopareza dominira u kliničkoj slici, dok je disfagija kasna manifestacija, ako se uopšte i pojavi. U diferenciranju prema OFMDu ovom slučaju kao i u slučaju drugih mitohondrijalnih bolesti neophodna je mišićna biopsija i genetska analiza.

Kasna pojava, obično u šezdesetim, izolovane **familijarne ptoze** bez disfagije dolazi takođe u širi diferencijalno dijagnostički popis. Klinički se razlikuje od OFMD, između ostalog po tome što disfagija nije prisutna, ali je konačna odluka u diferentnim testovima (EMG testiranje neuromišićne spojnice, Tensilon test, eventualno određivanje serumskih acetilholinskih receptora – diferenciranje prema MG ili eventualno elektronsko mikroskopsko verifikiranje intranuklearnih inkluzija u skeletnim mišićima i genetski testovi – diferenciranje prema OFMD)

Polymyositis i progresivna bulbarana paraliza se diferenciraju klinički naspram OFMD prije svega na osnovu odsustva ptoze kod ovih slučajeva, ali je za konačnu dijagnozu neophodno pažljivo elektromioneurografske ispitivanje i eventualno drugi pomenuti testovi.

Elektromioneurografska analiza uz ostale diferentne testove (mišićna biopsija, genetska analiza) je važna i u diferenciranju **miotoničke distrofije** naspram OFMD, osobito kod umjereno prisutne akcione miotnije, a naglašene ptoze i prisutne disfagije.

Amiotrofička lateralna skleroza, pseudobulbarni sindrom, te spinobulbarna mišićna atrofija (Kennedyeva bolest), kao još neka stanja se mogu uvrstiti u širi diferencijalno dijagnostički popis, mada su dijagnostičke dileme ovdje manje izražene nego kod drugih pomenutih stanja

Biohemijske analize krvi nisu od velike koristi u dijagnozi OFMD. Nivo CK u serumu može biti umjereno povišen, osobito u pacijenata sa značajnim slabostima udova (Bouchard i sar., 1989).

U nekim slučajevima OFMD zapaženo je povećanje nivoa IgA i IgG u serumu, što se pripisuje ponavljanim pulmonalnim aspiracijama uzrokovanim disfagijom (Bouchard, Brais, Tome, 1998).

Elektromiografija (EMG) zahvaćenih kranijalnih ili udnih mišića u OFMD pokazuje ili diskretne znake miopatskog ili miješanog miopatskog i neuropatskog procesa. Brzine nervnog provođenja je obično normalna. Neuropatske promjene u analiziranim mišićima bolesnika sa OFMD u biti su samo rijetko referisane (Hardiman i sar., 1993).

U analizi Francusko-Kanadskih slučajeva (Bouchard i sar., 1997), kvantitativni EMG izveden na 20 motornih jedinica u m. vastus medialis i m. deltoideus u osam pacijenata (57-80 godina) koji su imali umjerene do naglašene mišićne slabosti, posebno u donjim ekstremitetima, je pokazao prisustvo nekoliko polifazičkih potencijala i/ili produženje amplitude (6-8

mV), ponekad sa produženjem trajanja. Mada fibrilacije nisu verificirane u relaksiranom mišiću, opšti izgled EMG «mustre» je upućivao više na denervacioni nego na miopatski proces. U onih bez značajne udne mišićne slabosti, kvantitativni EMG je pokazao normalne akcijske potencijale motornih jedinica, uz samo rijetke polifazičke potencijale kratkog trajanja i niske amplitude kompatibilne sa diskretnim miopatskim procesom. U ovoj studiji, za razliku od jedne ranije studije (Ukachoke i sar., 1994), registrovan je normalan neuromišićni džiter u zahvaćenim facijalnim mišićima i mišićima jezika.

Općenito posmatrano, elektrofiziološke studije su neophodne da se prije svega eliminišu druge neuromišićne bolesti, prije nego da se potvrdi dijagnoza OFMD (Bouchard, Brais i Tome, 1999).

Definitivna dijagnoza oba tipa OFMD se do identifikacije genskih abnormalnosti postavljala elektronskomikroskopskom demonstracijom intranuklearnih inkluzija u skeletnim mišićima. Danas je ova dijagnostička metoda zamijenjena DNK testiranjem, sa 99% senzitivnošću i specifičnošću.

Kao i za većinu mišićnih distrofija ne postoji efikasan medikamentozni tretman i moguće su samo izvjesne suportivne metode u amislu olakšanja ishrane u početnim fazama bolesti. Pacijentima je na raspolaganju i relativno uspješna hirurška korekcija ptoze i različito hirurške intervencije u smislu evaluacije simptomatske disfagije (Kang i sar., 2002; Gervais i Dorion, 2003; Munitiz i sar., 2003). Što se tiče ptoze preporučeno je da se na hirurški zahvat čeka sve dok ptoza ne napreduje do tog stepena da postane smetnja gledanju, zbog činjenice da se radi o nezaustavljivoj progresiji distrofičkog procesa i tendenciji vraćanja (Rodrigue i Molgat, 1997). Disfagija je naravno mnogo ozbiljniji problem od ptoze i može ugroziti život, ali ne postoji konsekus o vremenu kada je najbolje pristupiti miotomiji krikofaringealnog mišića i drugih mružnih mišićnih vlakana. Međutim, simptomi kao što je značajan gubitak na težini u zadnja tri mjeseca, skoro fatalno zagrcnjivanje i ponavljajuća aspiraciona pneumonija zahtijeva promptnu hiruršku evaluaciju. Nažalost simptomi se vraćaju u oko 50% slučajeva nakon šest godina (Fradet i sar., 1997).

Zaključak

Uloga neurologa u dijagnostici i diferencijalnoj dijagnozi OFMD je primarna. Danas je ovaj sindrom «kasne pojave ptoze sa disfagijom» sa ili bez slabosti udnih mišića, prvobitno opisan kao problem Kanadskih Francuza, postao univerzalno prepoznata neuromišićna bolest. Iako je veoma rijetka, izvan žarišnih područja na nju treba misliti u svim slučajevima ptoze i disfagije kasne životne dobi. Nakon isključenja drugih neuromišićnih oboljenja koja se nalaze na diferencijalnoj dijagnostičkoj listi kao što su miastenija gravis, miotonička distrofija, mitohondrijalne miopatije,

familijarne ptoze i druga stanja ili tokom njihova dijagnosticiranja, moguća dijagnoza OFMD mora takođe biti razmatrana. Zahvaljujući molekularnoj genetici i genetskim definisanjem ove bolesti, te mogućnošću relativno jednostavnog, a ne posebno skupog visoko senzitivnog i specifičnog DNK testiranja, sigurna dijagnoza OFMD nije više privilegija samo visokodifeentnih svejetskih neuromišićnih i/ili genetskih centara.

Literatura

Blumen SC, Nisipeanu, Sadeh M et al. (1997) Epidemiology and inheritance of oculopharyngeal muscular dystrophy in Israel. *Neuromusc Disord* 7 (Suppl 1): 38-40.

Blumen SC, Brais B, Korczyn AD, et al. (1999) Homozygotes for oculopharyngeal muscular dystrophy have severe form of the disease. *Ann Neurol* 46 (1): 115-118.

Bouchard J-P, Gagne F, Tome FMS, Brunet D (1989) Nuclear inclusions in oculopharyngeal muscular dystrophy in Quebec. *Can J Neurol Sci* 16: 446-450.

Bouchard J-P, Brais B, Brunet D i sar., (1997) Recent studies on oculopharyngeal muscular dystrophy in Quebec. *Neuromusc Disord* 7 (Suppl 1): 22-29.

Bouchard J-P, Brais B, Tome FMS (1998) Oculopharyngeal muscular dystrophy. In: Emery AEH (ed). *Neuromuscular Disorders: Clinical and Molecular Genetics*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 157-179.

Brais B, Xie YG, Sanson M et al. (1995a) The oculopharyngeal muscular dystrophy locus maps to the region of the cardiac alpha and beta myosin heavy chain genes on chromosome 14q11.2-q13. *Hum Mol Genet* 5: 429-434.

Brais B, Bouchard J-P, Xie YG et al. (1995b) A more severe form of oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) is documented in a genetically proven homozygous patient. *Neurology* 45 (Suppl 4): 243.

Brais B, Bouchard JP, Xie YG et al. (1998) Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet* 18 (2): 164-167.

Brais B, Roulean A (2002) Oculopharyngeal muscular dystrophy. In: Katirji B, Kaminski HJ, Preston DC, Ruff RL, Shapiro BE (eds). *Neuromuscular Disorders in Clinical Practice*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1101-1105.

Fradet G, Pouliot D, Robichaud R et al. (1997) Upper esophageal sphincter myotomy in OPMD: long term results. *Neuromuscul Disord* 7(Suppl 1): 90 – 95.

Gervais M, Dorion D (2003) Quality of life following surgical treatment of oculopharyngeal syndrome. *J Otolaryngol* 32 (1): 1-5.

Hardiman O, Halperin JJ, Farrell MA et al. (1997) Neuropathic findings in oculopharyngeal muscular dystrophy. A report of seven cases and review of the literature. *Arch Neurol* 50: 481-488.

Kang DH, Koo SH, Ahn DS, Park SH, Yoon ES (2002) Correction of blepharoptosis in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Ann Plast Surg* 49 (4): 419- 423.

Medici M, Pizzarossa C, Skuk D et al. (1997) Oculopharyngeal muscular dystrophy in Uruguay. *Neuromusc Disord* 7 (Suppl 1): 53-56.

Munitz V, Ortiz A, Martinez de Haro LF et al. (2003) Diagnosis and treatment of oculopharyngeal dystrophy: a report of three cases from the ame family. *Dis Esophagus* 16 (2): 160 -164.

Rebeiz JJ, Caulfield JB, Adams RD (1969) Oculopharyngeal dystrophy – a presenescent myopathy. A clinico-pathologic study. In: Brunette JR, Barbeau A (eds). *Progress in Neurophthalmology*. Amsterdam: Excerpta Medica, ICS 176: 21-31.

Rodrigue D, Molgat YM (1997) Surgical correction of blepharoptosis in OPMD. *Neuromusc Disord* / (Suppl 1): 82 -84.

Taylor EW (1915) Progressive vagus-glosopharyngeal paralysis with ptosis: a contribution to the group of family diseases. *J nerv Ment Dis* 42: 129-139.

Tome FMS, Fardeau M (1980) Nuclear inclusions in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Acta Neuropath* 49: 85-87.

Tome FM, Chateau D, helbling-Leclerc A, Fardeau M (1997) Morphological changes in muscle fibers in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 7 (Suppl 1): 63-69.

Victor M, Hayes R, Adams RD (1962) Oculopharyngeal muscular dystrophy: a familial disease of late life characterized by dysphagia and progressive ptosis of the eyelids. *N Engl J Med* 267:1267-1272.

Ukachoke C, Ashby P, Basinski A, Sharpe JA (1994) Usefulness of single muscle fibre EMG for distinguidhing neuromuscular from other causes of ocular muscle weaknes. *Can J neurol Sci* 21: 125-128.

DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA MIASTENIJE GRAVIS I OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE

Marija ŽAGAR

**Klinika za neurologiju, KBC Zagreb i Edukacijsko-rehabilitacijski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu**

U ambulantu za neuromuskularne bolesti često dolaze bolesnici koji imaju ptozu ili ptozu s nekim drugim simptomima. U ovoj grupi ima bolesnika koji imaju miasteniju gravis, miopatiju, blefarospazam, poremećaj rada štitnjače itd.

Okulofaringealna mišićna distrofija (OPMD) je nasljedna mišićna bolest, koja u prvom redu zahvaća mišiće oka i faringisa, obično se javlja u srednjoj i starijoj životnoj dobi. Klinički se manifestira ptozom, koja ponekad može biti i blaže asimetrična, i postupno je progresivna. Kasnije se javljaju i smetnje gutanja. Kod nekih bolesnika je prisutna i slabost mišića ruku, nogu, trupa.

Miastenija gravis (MG) je autoimuna bolest. Poremećaj se odvija na nivou neuromuskularne sinapse; prisutna su antitijela na acetilkolinске receptore, koja dovode do otežanog prijenosa impulsa sa živca na mišić. Bolest se javlja u svim životnim dobima, ali je učestalost najveća kod mladih i u kasnijoj životnoj dobi. Mlađi bolesnici s MG često imaju hiperplaziju timusa, u srednjoj i starijoj dobi je češći timom.

Postoji više oblika (podjela po Ossermanu 1971.):

- okularni oblik sa ptozom i dvoslikama
- okularni i blaži generalizirani oblik, s dodatnom slabošću nogu, trupa, ruku
- generalizirani oblik s blažim bulbnim smetnjama (otežani govor, gutanje)
- teški oblik: bulbarne smetnje i moguće smetnje disanja
- kasni atrofični oblik

Ptoza se javlja kod MG i OPMD. Kod MG ptoza oscilira, obično je ujutro manje izražena, a pred večer ili nakon napora izrazitija. Postoje oscilacije tijekom dana, ali i iz dana u dan. Ponekad je ptoza unilateralna, ili se javi na jednom oku, a nešto kasnije na drugom. Česte su dvoslike, promjenjivog karaktera. Oko 15% bolesnika s čistom okularnom formom razvija unutar dvije godine simptome generalizirane miastenije.

Kod bulbarnog oblika MG javljaju se smetnje gutanja. Uz smetnje gutanja prisutne su i smetnje govora u smislu nazalnog i dizartričnog govora. Bolesnici navode i osjećaj kao da im je jezik ukočen, veći, teže pokretljiv. I tu je važna oscilacija u intenzitetu.

Bolesnici s MG često navode da se zagrcavaju, da im se kod gutanja tekućina vraća kroz nos, da teže progutaju zalogaj. Smetnje gutanja su uvijek teški simptom MG i u pravilu su praćene sa smetnjama govora, a mogu se javiti i smetnje disanja, pa govorimo o miasteničkoj krizi. Neki autori uvode termin orofaringealni tip miastenije gravis ili češće orofaringealna manifestacija MG. Kod OPMD su prisutne smetnje gutanja, ali nema jasnih oscilacija niti su toliko izražene smetnje govora.

Okulobulbarni simptomi se mogu javiti i kod Lambert-Eaton-ovog miasteničkog sindroma. To je također autoimuni poremećaj, s antitijelima na presinaptičkom dijelu neuromuskularne sinapse, javlja se kao paraneoplastički sindrom.

Kod nekih bolesnika s OPMD mogu biti zahvaćeni i proksimalni mišići s kliničkim znacima slabosti u tim mišićima, ali bez oscilacija u intenzitetu.

Bolesnici s miastenijom gravis će reći kako im je ujutro bolje, a kasnije tijekom dana sve lošije. Nakon odmora simptomi su ponovno manji. Ako bolesnika zamolimo da broji, on će na početku brojiti jasno i razgovijetno, a dalje postupno sve teže, govor će postajati sve više nazalan i teže razumljiv, dizartričan. Kod smetnji gutanja bolesnici na početku obroka lakše gutaju, kasnije je gutanje sve teže, moraju se odmarati između zalogaja.

Važno je napomenuti i utjecaj terapije inhibitorima kolinesteraze (Mestinon), kad bolesnici brzo nakon uzimanja lijeka osjećaju poboljšanje, ali mogu osjetiti i pogoršanje kad prestaje djelovanje medikamenta.

Dijagnoza MG se postavlja na temelju anamneze i kliničke slike, posebno je u anamnezi važna promjenjivost u intenzitetu simptoma, oscilacije. Prvo je važno pomisliti na miasteniju gravis, zatim ciljano pitati bolesnika da li je imao smetnji vida u smislu dvoslika i ptoze, smetnji govora, gutanja, žvakanja, pojačane zamorljivosti u mišićima. Nakon toga se provodi farmakološko testiranje; parenteralno se daje inhibitor kolinesteraze (Tensilon, Prostigmin) nakon čega odmah ili vrlo brzo dolazi do smanjenja simptoma. Ponekad kod čiste okularne forme MG može biti slabiji efekt. Danas se određuje titar antitijela na acetilkolinске receptore; oko 80% bolesnika je seropozitivnih.

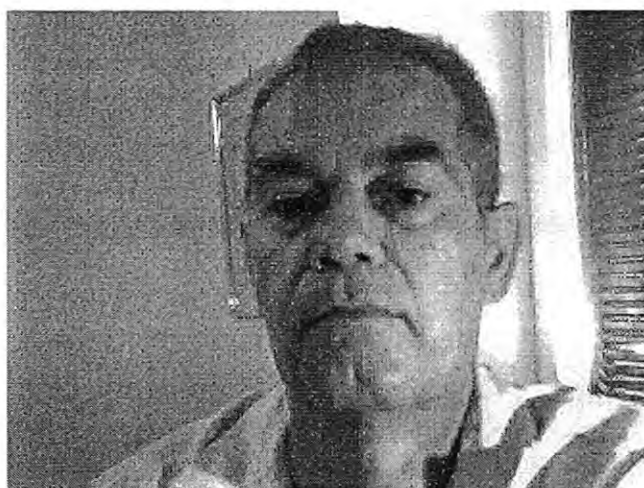
EMG testiranje neuromuskularne sinapse je također važno, posebno ako se sumnja na presinaptički poremećaj, npr. Lambert-Eaton sindrom ili botulizam.

Miastenija gravis se može uspješno liječiti. Na prvom mjestu su inhibitori kolinesteraze –Mestinon koji djeluje simptomatski. Kod bolesnika sa smetnjama govora i gutanja potrebno je uvesti i dodatnu imunosupresivnu terapiju koja se uzima kroz dulje vrijeme (kortikosteroidi, Imuran itd). Kod težih oblika ili naglijeg pogoršanja miastenija se uspješno liječi plazmaferezom (terapijska izmjena plazme) na aparatu za hemodijalizu, ali s drugačijim filterom, gdje se odstranjuje plazma s

antitijelima, a vraćaju se albumini i elektroliti. Kod težih bolesnika primjenjuju se i imunoglobulini. Većina bolesnika s MG, uz dobro vođenu terapiju, može živjeti gotovo normalnim životom.

Tablica br 1. Razlika miastenije gravis i okulofaringealne mišićne distrofije

MG	OPMD
Životna dob	
Bilo koja životna dob Najčešće mladi i stariji	Srednja i starija životna dob
Spol	
Oba	Oba
CK	
Uredan nalaz	Normalan ili povišen
Antitijela na Ach receptore	
Pozitivna u više od 80% bolesnika	Negativna
Klinička slika	
Moguća ptoza, dvoslike, generalizirana slabost ruku, nogu, trupa, smetnje govora žvakanja, gutanja, u miasteničkoj krizi i slabost smetnje disanja!! SIMPTOMI OSCILIRAJU!!!	Ptoza, rijetko asimetrična., bez oscilacija, smetnje gutanja kod nekih bolesnika i dodatno proksimalnih mišića
Tijek bolesti	
Promjenjiv, s dobrim odgovorom na terapiju	Postupno progresivan
Liječenje	
inhibitori kolinesteraze (Mestinon) kortikosteroidi, Imuran timektomija, plazmafereza	nema specifične terapije



Slika 1. Bolesnik s miastenijom gravis i unilateralnom ptozom kapka. Nakon povišenja doze lijekova ptoza se povlači

DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA MIOTONIČNE DISTROFIJE I OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE

Iako su obje bolesti "distrofije" postoje velike razlike među njima. Miotonična distrofija je klinički karakterizirana miotonomnim fenomenima i progresivnom mišićnom slabošću. Nasljeđuje se autosomno dominantno. Miotoni fenomeni se manifestiraju kao usporena relaksacija nakon kontrakcije mišića (npr. nakon stiska ruke šaka se sporo otvara), perkusijska miotonija (lupkanje čekićem po mišiću vidi

se spora kontrakcija mišića). Elektromiografija pokazuje spontana miotona izbijanja.

DNA analiza pokazuje jedan alel s povećanim brojem CTG tripleta u DMPK genu koji se nalazi na dugom kraku kromosoma 19 u području q13.

Klasična klinička slika uključuje frontalnu ćelavost, hipotrofiju i slabost mišića lica, kataraktu i prolongiranu mišićnu relaksaciju. Uz to bolesnici često imaju poremećaje srčanog ritma, što može biti uzrok iznenadne smrti. Česti su endokrini poremećaji (gonadalni, pankreas, štitnjača).

Klinički nalaz kod miotonične distrofije je toliko tipičan, da jedva postoji mogućnost zamjene sa OPMD.

Literatura:

1. Swash M., Schwartz M.S. Neuromuscular Diseases. Springer Verlag, London, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1988.
2. Engel A.G. Myasthenia Gravis and Myasthenic Syndromes. Oxford University Press, Oxford, New York, 1999.
3. Alan EH Emery ed. Diagnostic Criteria for Neuromuscular Disorders, 2nd Edition, Royal Society of Medicine Press, London European Neuromuscular Centre, Baarn, The Netherlands 1997.
4. Muller T, Schroder R, Zierz S. GCG repeats and phenotype in oculopharyngeal muscular dystrophy. Muscle Nerve 2001 24(1):120-2
5. Pelak VS, Galetta SL. Ocular Myasthenia Gravis. Curr Treat Options Neurol 2001 3(4):367-376
6. Evoli A, Batocchi AP, Minisci C, Di Schino C, Tonali P. Therapeutic options in ocular Myasthenia Gravis. Neuromuscul Disord 2001, 11:208-16
7. Linke R, Witt TN, Tatsch K. Assessment of esophageal function in patients with Myasthenia Gravis. J Neurol 2003, 250(5):601-6
8. Burus TM, Russel JA, La Chance DH, Jones HR. Oculobulbar involvement is typical with Lambert-Eaton myasthenic syndrome. Ann Neurol 2003. 53(2):270-3

KLINIČKA I DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA OPMD

Davorka VRANJEŠ

KBC Zagreb, Klinika za neurologiju

BULBARNA I PSEUDOBULBARNA PARALIZA

Simptom koji diferencijalno dijagnostički povezuje OPMD sa bulbarnom i pseudobulbarnom paralizom te amiotrofičkom lateralnom sklerozom je poremećaj gutanja.

Poremećaj gutanja može biti uzrokovan centralnom ili perifernom kljenuti mišića ždrijela odnosno poremećajem koordinacije ili hiperkinezom.

Disfagija kod OPMD je posljedica afekcije mišića ždrijela distrofičkim procesom što dovodi do slabosti, mlohavosti zida ždrijela te nemogućnosti propulzije tekućine i hrane kroz ždrijelo.

- **Bulbarna paraliza** uzrokovana je oštećenjem jezgara motornih mozgovnih živaca (IX, X, XI, XII, te motorička vlakna V i VII mozgovnog živca) u produljenoj moždini. Kako se radi o oštećenju donjeg motoričkog neurona javljaju se karakteristični ispadi kao kljenuti, atrofije i fascikulacije mišića inerviranih oštećenim mozgovnim živcima uz gubitak mišićnih refleksa.

Bulbarna paraliza najčešće počinje sa oštećenjem jezgara XII mozgovnog živca te razvija obostrana slabost uz atrofiju i fascikulacije mišića jezika koji se u kasnijoj fazi ne uspeva isplaziti. Uz parezu mišića jezika javlja se disfagija prvo za tekuću, a kasnije i krutu hranu, a daljom progresijom poremećaja dolazi do afagije, koja je tako izražena da se slina ne guta već slijeva iz ustiju. Regurgitacija tekućine često uzrokuje aspiraciju sa razvojem aspiracijskih pneumonija. Slabost mekog nepca, dušnika i jezika uzrokuje i poremećaj artikulacije te je govor disartričan, u kasnijem stadiju bolesti anartričan. Atrofije i fascikulacije vidljive su i na mišićima ždrijela, nepca a ponekad i mastikacijskim i mimičnim mišićima. Gube se refleksi mekog nepca, ždrijela i mandibularni refleks. Ponekad su zahvaćeni i mišići sternokleidomastoideus i trapezius te autonomni živčani sustav sa pojavom tahikardije.

Progresivna bulbarna paraliza javlja se uz spinalnu mišićnu atrofiju (Aran-Duchenova bolest) kod koje oštećenje zahvaća motorne neurone prednjih rogova kralješničke moždine.

Najčešći uzroci bulbarne paralize su bazilarni meningitis, tumori, upalni bolesti kao poliomijelitis, difterija, tetanus (cefalički oblik), rabies, te polineuritisi.

- **Pseudobulbarna paraliza** uzrokovana je obostranim oštećenjem kortikonuklearnih putova za jezgre motoričkih mozgovnih živaca u produženoj moždini (supranuklearno oštećenje). U pseudobulbarnoj paralizi prvenstveno su poremećene funkcije disanja, kašljanja, kihanja, fonacije, žvakanja i mimičke ekspresije. Često dolazi do nekontroliranog oslobađanja emocionalnog izražavanja sa pojavom patološkog smijeha ili plača. Klinički nalaz karakterizira: disartičan govor ili anartrija, poluotvorena usta, sporo i nepotpuno žvakanje zbog čega hrana zaostaje u ustima, slaba pokretljivost jezika, disfagija sa čestim aspiracijama hrane, hipomimija, lice je bezizražajno (poput maske) osim kada nastaje otkočenje emocionalnih reakcija u smislu patološkog smijeha ili plača. Refleks masetera je živahan, ponekad kloničan, pojačan je glabelalni refleks (odgovor treptanja kapcima). Refleks ždrijela ostaje sačuvan i kada je voljno podizanje nepca nemoguće.

Najčešći uzrok su ponavljane vaskularne lezije u obje hemisfere te uz pseudobulbarnu paralizu prisutni su i znaci bilateralne spastičke hemipareze. Višestruka oštećenja kod multiple skleroze, encefalitisa i metastatskih tumora također mogu uzrokovati razvoj ove kliničke slike.

AMIOTROFIČNA LATERALNA SKLEROZA ALS/MND

Amiotrofička lateralna skleroza je progresivna neurodegenerativna bolest motoričkih neurona još uvijek nepoznatog uroka, koja se javlja s prevalencijom 1 do 2 na 100.000 stanovnika godišnje. Patomorfološki radi o degeneraciji i nestajanju motoričkih neurona prednjeg roga kralježničke moždine, motoričkog koreksa te motoneurona mozgovnih živaca u produljenoj moždini. Klinički se prezentira sa razvojem mišićne slabosti sa simptomima i znacima oštećenja periferog motoričkog neurona (mišićna slabost, gubitak mišićne mase odnosno nastanak atrofija i fascikulacije), te spasticitetom, pojačanim vlastitim refleksima i pojavom patoloških refleksa kao znakom oštećenja centralnih (kortikalnih) motoričkih neurona. Zahvaćanje motoričkih neurona mozgovnih živaca u produženoj moždini prezentira se bulbarnim i pseudobulbarnim simptomima i znacima. Osjetni sustav, autonomni živčani sustav te okulomotori su uvijek sačuvani, kao i svijest te više kognitivne funkcije.

Klinička slika posebno u razvijenom stadiju bolesti za neurologa ne bi trebala biti problem. U odnosu na OPMD diferencijalna dijagnoza je jasno definirana.

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15. 11. 2003.

	OPMD	ALS
	Nasljedna, autosomno dominantna	stečena
DOB	40-60 godina	40- 70 godina
RAZVOJ	spor, postupan	brz
OKULARNI simptomi	ptoza	uređan nalaz
BULBARNI simptomi i znaci	disfagija	disfagija, afagija, disartrija, anartrija
MANDIBULARNI REFLEKS	odsutan	pojačan
JEZIK	blaža slabost	atrofija, fascikulacije
MOTORIKA	Blaža proksimalna mišićna slabost	kljenuti, atrofije, fascikulacije
PIRAMIDNI ZNACI	nema	spasticitet, pojačani refleksi, Babinskijev znak +
CK	normalna ili blago povišena	normalna ili blago povišena
EMG	miopatski uzorak	neurogeni uzorak

SPINOBULBARNNA MIŠIĆNA ATROFIJA (SBMA) ili KENNEDYJEVA BOLEST

Nina CANKI-KLAIN

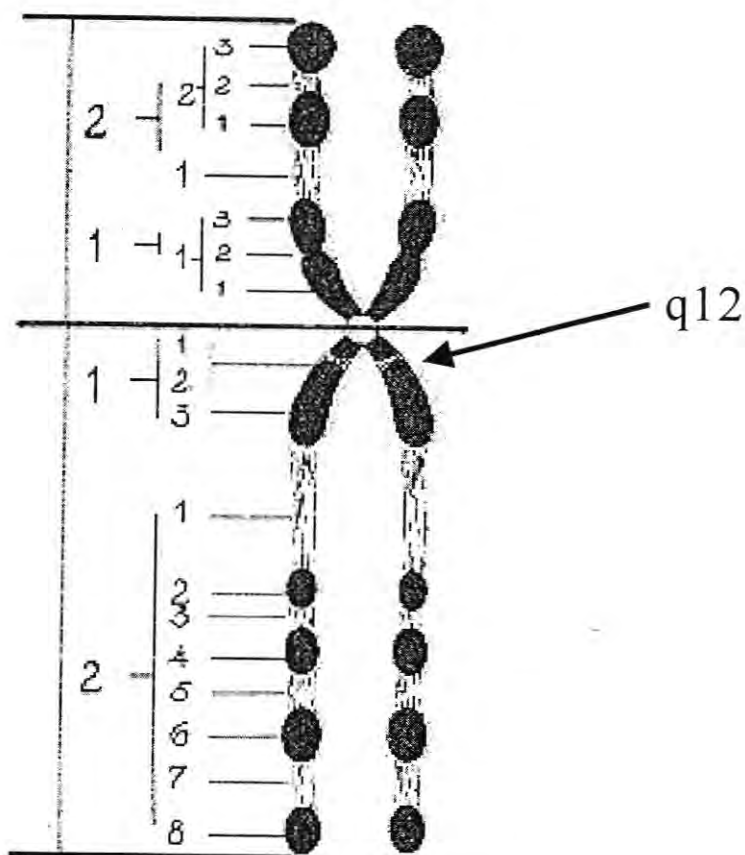
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Hrvatski institut za Istraživanje mozga i Neurološka klinika, KBC Zagreb

Uvod

Prvi opis bolesti dugujemo Kennedyju i sur.(1) nakon kojeg slijedi niz opisa sličnih bolesnika (2, 3, 4, 5, 6, 7).

X-vezani način nasljeđivanja, koji uvjetuje nepravilnost rada **androgen receptor gena (AR)** i njegovu povezanost sa spinalnim i bulbarnim motornim neuronima prvi su zamijetili Arbizu i sur. 1983 (8). Sedam godina kasnije La Spada i sur. (9) otkrivaju molekularnu osnovu bolesti. Radilo se o trećoj bolesti čiji je uzročnik bio povećanje određenog slijeda trinukleotida.

Spinobulbarna mišićna atrofiya (SPMA) ili Kennedyjeva bolest je rijetka, sporo progresivna recesivna X-vezana motorna neuropatija, koja se javlja u odraslo doba, a nastaje uslijed povećanja CAG ponavljajućeg slijeda u prvom egzonu **androgen receptor (AR) gena**, koji je smješten na dugom kraku kromosoma X u području q12 (S1.1). Bolest se očituje *slabošću, atrofijom* i fascikulacijama *proksimalnih i bulbarnih mišića, a pojavljuje se između tridesete i pedesete godine*. Neki od spomenutih simptoma postoje i u OPMD. Zbog toga SPMA dolazi u obzir u diferencijalnoj dijagnozi rijetkih slučajeva OPMD, koji se prividno nasljeđuju na recesivan X-vezani način. Važno je napomenuti, da nije opisano zahvaćanje ekstraokularnih mišića. Grčevi mišića predstavljaju rani simptom, dok gotovo svi bolesnici imaju arefleksija na donjim ekstremitetima. Bolesnici mogu imati posturalni tremor, koji naročito zahvaća ruke. Uobičajene su endokrinološke nepravilnosti poput ginekomastije i atrofije testisa.



Slika 1.

Kliničke karakteristike

- Recesivan X-vezani način nasljeđivanja
- Početak simptoma obično između 30. i 50. god. (premda opisani bolesnici s početkom u 12. i 84. god. (10))
- Grčevi mišića su gotovo uvijek prisutni i mogu se pojaviti 20. god. prije mišićne slabosti
- Zahvaćanje moždanog debla prate slabost i propadanje mišića jezika i čeljusnih mišića
- Trzanje mišića oko brade
- Dizartrija
- Lordotičan gegajući hod
- Uglavnom posturalni tremor
- Oslabljeni ili odsutni duboki refleksi bez simptoma zahvaćenosti gornjeg motornog neurona

- Ginekomastiju ima približno 50% bolesnika
- Atrofija testisa i povećani infertilitet su opisani, premda većina bolesnika ima djecu što navodi na mogućnost progresivnog propadanja Sertolijevih stanica u nekih bolesnika

Androgen receptor gen (AR)

AR gen je smješten na Xq12 (S1.1). Sastoji se od osam egzona, a uzrokuje dvije različite bolesti : spinobulbarnu mišićnu atrofiju (SBMA) ili Kennedyjevu bolest (OMIM 313 200) (11) i sindrom neosjetljivosti na androgene poznat pod starim nazivom "testikularna feminizacija" (OMIM 300068)(11). Vrsta bolesti ovisi o tipu mutacije t.j. radi se primjerima alelske genetske heterogenosti.

SBMA uzrokuje ponavljajući CAG triplet, koji se nalazi u prvom egzonu AR gena. U normalnoj populaciji taj broj varira od 10- 36, sa srednjom vrijednošću od 21 CAG ponavljanja. (12, 13) SBMA bolesnici imaju povećanja od 38-62.

Zaključak

SBMA je recesivna X-vezana bolest uzrokovana povećanje CAG tripleta u AR genu. Karakteristična klinička slika, pojavljivanje u odraslo i starije doba te polagano napredovanje simptoma razlikuju SBMA od ostalih bolesti motornog neurona, dok bi ju nedostatak ptoze, fascikulacije i arefleksija trebali diferencirati od OPMD. Najsigurnija i najbrža dijagnostika je molekularna, ali ona nalaže prethodno obavezno genetsko savjetovanje.

Literatura

1. Kennedy WR, Alter M, Sung JH (1968). Progressive proximal spinal and bulbar muscular dystrophy. *Neurology* 18:671-680).
2. Stefanis C, Papapetropoulos T, Scarpalezos S, Lygidakis G, Panayiotopoulos CP(1975). X-linked spinal and bulbar muscular atrophy of late onset: a separate type of motor neuron disease? *J Neurol Sci* 24: 493- 503.
3. Harding AE, Thomas PK, Baraitser M, Bradbury PG, Morgan-Hughes JA, Ponsford JR (1982). X-linked recessive bulbospinal neuropathy: report of ten cases. *J Neurol Neurosurg Psych* 45: 1012-1019.
4. Hausmanowa-Petrusewicz I, Borkowska J, Janczewski Z (1983). X-linked adult form of spinal muscular atrophy. *J Neurol* 229:175-188.
5. Guidetti D, Motti L, Marcello N, Vescovini E, Marbini A, Dotti C, Lucci B, Solime F (1986). Kennedy's disease in an Italian kindred. *Eur Neurol* 25:188-196.
6. Wilde J, Moss T, Thrush D(1987). X-linked bulbo-spinal neuropathy: a family study of three patients. *J Neurol Neurosurg Psych* 50: 279-284.

7. Pareyson D, Castellotti B, Botti S, Defanti CA, Gellera C, Taroni F, Sghirlanzoni A(1995). Kennedy's disease: clinical and molecular study of two Italian families. *Ital J Neurol Sci* 16:467-471).
8. Arbizu T, Santamaria J, Gomez JM, Quilez A, Serra JP (1983). A family with adult spinal and bulbar muscular atrophy, X-linked inheritance and associated testicular failure. *J Neurol Sci* 59:371-382.
9. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH (1991). Androgen receptor gene mutations in X- linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 352: 77-79.)
10. Zajac JD, Mac Lean HE (1998). Kennedy's Disease: Clinical Aspects. In *Genetic Instabilities and hereditary neurological diseases*. Wells RD & Warren ST, eds. Academic Press, San Diego, 87-100.
11. OMIM: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
12. Edwards et al.(1992). Genetic variation at vive trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 12: 241-253.
13. Macke JP et al. (1993) Sequence variation in the androgen receptor gene is not a comon determinant of male sexual orientation. *Am J Hum Genet* 53: 844-852.)

OKULOFARINGEALNA MIŠIĆNA DISTROFIJA (OPMD)OFTALMOLOŠKE KARAKTERISTIKE Dijagnostika i diferencijalna dijagnoza

Neda STIGLMAYER

**Zavod za bolesti orbite, rekonstruktivnu kirurgiju, neurooftalmologiju i
glaukom**

Klinika za očne bolesti KBC, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Disfunkcija motorike gornje vjeđe je najuočljiviji simptom različitih patoloških stanja vezanih za strukture vjeđa, orbite, neurološke ili metaboličke promjene. Miogene ptoze su grupa rjeđih uzroka progresivnog oblika ptoza za razliku od češćih vezanih za aponeurozu, zatim neurogeno/neuromuskularne, traumatske i mehaničke uzroke(1). Najuočljivija karakteristika OPMD-a je miogena ptoza uz koju se nalaze i promjene kao disfagija i slabost proksimalnih dijelova ekstremiteta u pravilu u 5. dekadi života.

Okulofaringealna mišićna distrofija je bolest vezana za anomaliju PABP2 gena koji se u zadnje vrijeme naziva PABPN 1(poyadenilate-binding protein nuclear1) gen. Povijesni tijek započinje seobom triju sestara iz Francuske u Kanadu, gdje osnivaju svoje obitelji u endemski zatvorenom krugu. Sve tri su imale okulofaringealnu mišićnu distrofiju. Kako se radi se o autosomno dominantnoj bolesti, u zatvorenim uvjetima novodošle zajednice vremenom je došlo do velike učestalosti bolesti. Zahvaljujući genealoškoj studiji André Barbeaua (2), moglo se dokazati, da su spomenute tri osobe stvaranjem obitelji u Quebecu oblikovale populaciju s najvećom incidencijom te bolesti u svijetu. Veliki broj bolesnika i dobro dokumentirane obitelji s OPMD omogućili su Braisu i suradnicima (3) identifikaciju genetske osnove bolesti 1998.

OPMD je raširen po cijelome svijetu, ali je u Kanadi u kratkom vremenskom razdoblju od 400 godina dobiven respektabilni broj koji se genealoški mogao pratiti. Naime svi podaci obitelji su se mogli analizirati u arhivima lokalne crkve. Od tri sestre, jedna je imala 8 djece, druge 10, a treća 3, te njihovi potomci predstavljaju i danas najveću skupinu bolesnika.

Za OPMD je tipičan kasni nastup kliničkih znakova, a od njih prvi znak koji dovodi bolesnika liječniku su obostrano spuštene vjeđe (Taylor4). Ptoze se razvijaju postupno, ali u 50-im godinama života postaju tako uočljive i izrazite da otežavaju

uobičajene funkcije radno sposobnih i aktivnih ljudi. Kod pažljivije uzimane povijesti bolesti i pregleda nalaze se i drugi znaci bolesti kao što su disfonija, disfagija, slabost jezika, miopatski izraz lica, te slabost gornjih ekstremiteta.

Međutim pod nazivom **miogena ptoza** uključeni su različiti uzroci, kao :

- | | |
|---|-------------|
| • Mitohondrijske miopatije: | |
| Kronična vanjska progresivna oftalmoplegija | CPEO |
| Kearns-Sayre sindrom | KSS |
| Mitohondrijska miopatija, encefalopatija, laktička acidoza, napadi nalik na intrakranijalno krvarenje | MELAS |
| Mitohondrijska encefalopatija sa crvenim nitima | MERRF |
| • Okulofaringealna mišićna distrofija | OPMD |
| • Okulofaringodistalna miopatija | ODM |
| • Miotonička distrofija | MD |

Značajno je razlučiti pojedine oblike, kako zbog vremena nastupa, tako i zbog prognoze i prevencije očekivanih promjena, načinom života, izbora zanimanja, a kod nastupanja pojedinih simptoma pravilnim odabirom liječenja osigurati funkciju i trajnost djelovanja, te sprječavanja mogućih neželjenih posljedica.

Kao što smo već naveli znaci bolesti se javljaju u kasnijoj životnoj dobi. Ipak vrijeme nastupa ovisi o genskim promjenama, pa su tako opisivani i raniji nastupi ptoza i disfagije u bolesnika koji su bili složeni heterozigoti. Oftalmoplegija je u pravilu kasni znak i u diskretnom obliku, za razliku od drugih bolesti gdje je dominantan znak, koji se javlja u mladosti ili već djetinjstvu. Nakon što su Tomé i Fardeau (5,6) opisali karakteristične inkluzije unutar jezgara, a koji se nalaze kod OPMD-a, genetsko testiranje je uvedeno kao dijagnostički kriterij.

Tako za sada imamo **4 osnovna dijagnostička kriterija za potvrdu OPMD-a**

- **Autosomno dominantno nasljeđivanje**
- **Ptoza**
- **Disfagija**
- **Genetska analiza**

Prema radu McLoona i Wirschaftera (7) koji su na miševima demonstrirali postojanje trajnog procesa mionuklearnog umnažanja kod odraslih ekstraokularnih mišića i time promijenili ustaljenu postavku da su miofibrile ekstraokularnih mišića postmitotičke. Na taj način bi se moglo protumačiti selektivna zahvaćenost ekstraokularnih mišića kod OPMA- i CPEO-a, kao posljedicom nagomilavanja oštećene DNA u mitohondrijima i jezgrama unutar ekstraokularnih mišića.

Kod bolesnika s **miogenim ptozama** mogu se naći i druge oftalmološke promjene, koje su karakteristične za pojedine genetske promjene, kao što su u svom radu našli Wong i al.(8) :

- Promjene bulbomotorike
- 93% (CPEO,KSS,OMD)

• Pigmentna retinopatija	25% (KSS,CPEO)
• Dvoslike	18% (CPEO)
• Slabost m.orbikularisa i lične muskulature	14% (OPMD,ODM)
• Katarakta	14% (MD)
• Neprohodnost suzonosnog kanala	4% (MD)
• Keratokonus	4% (KSS)

Prema istim autorima uzroci miogenih ptoza u postotcima izose:

• Kronična progresivna vanjska oftalmoplegija	CPEO	43%
• Okulofaringealna mišićna distrofija	OPMD	18%
• Miotonička distrofija	MD	18%
• Kearns-Sayre-ov sindrom	KSS	14%
• Mitohondrijalna miopatija	MELAS	4%
• Okulofaringodistalna miopatija	ODM	4%

Nakon svega iznesenog s oftalmološke strane ključno je kod svakog bolesnika s miogenom ptozom uz pažljivo uzimanje povijesti bolesti, koja uključuje i obiteljsku anamnezu pomni oftalmološki pregled treba naročito obratiti pažnju:

- visinu vjedačkog rasporka (Sl.1)
- aktivnost m.levatora u mm (Sl.2)
- bulbomotorika/-Cover-uncover
- Hess-Lancaster-ispitivanje dvoslika (Sl.3)
- Biomikroskopski pregled prednjeg segmenta (leća) (Sl.4)
- Ispitivanje filma suza-BUT/Schirmer (Sl.5 i 6.)
- Pregled očne pozadine (Sl.7)

Poznavajući komponente i tijek bolesti moguće je znatno ranije postaviti točnu dijagnozu, s time spriječiti štetne posljedice bolesti i pravilnim terapijskim postupcima s najmanjim mogućim zahvatima postići funkcionalno zadovoljavajuće stanje.

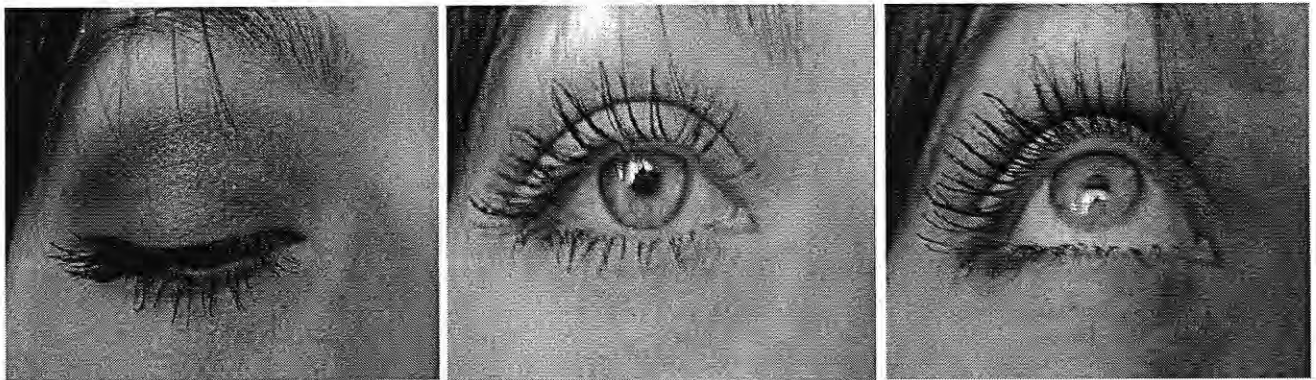
LITERATURA

1. Beard C.Ptois:Some newer concepts.Ann.Ophthalmol.1971;3:1047-1049.
2. Barbeau A.The syndrome of hereditary late onset ptosis and dysphagia in Franch Canada in: KuhnE. Progressive Muskeldystrophie, Myotonie, Myasthenie, Berlin:Springer Verlag,1966:102-109.
3. Brais B,Bouchard JP,Xie YG et al.Short GCG expansion in the PABP2 gene causes oculopharyngeal dystrophy.NatureGenet.1998;18:164-167.
4. TaylorEW. Progressive vagus-glossopharyngeal paralysis with ptosis: contribution to the group of family diseases.J.Nerv.Mentdis.1915;42:129-139.
5. ToméFMS, Fardeau M Nuclear inclusions in oculopharyngeal dystrophy,Acta Neuropathol 1980;49:85-87.

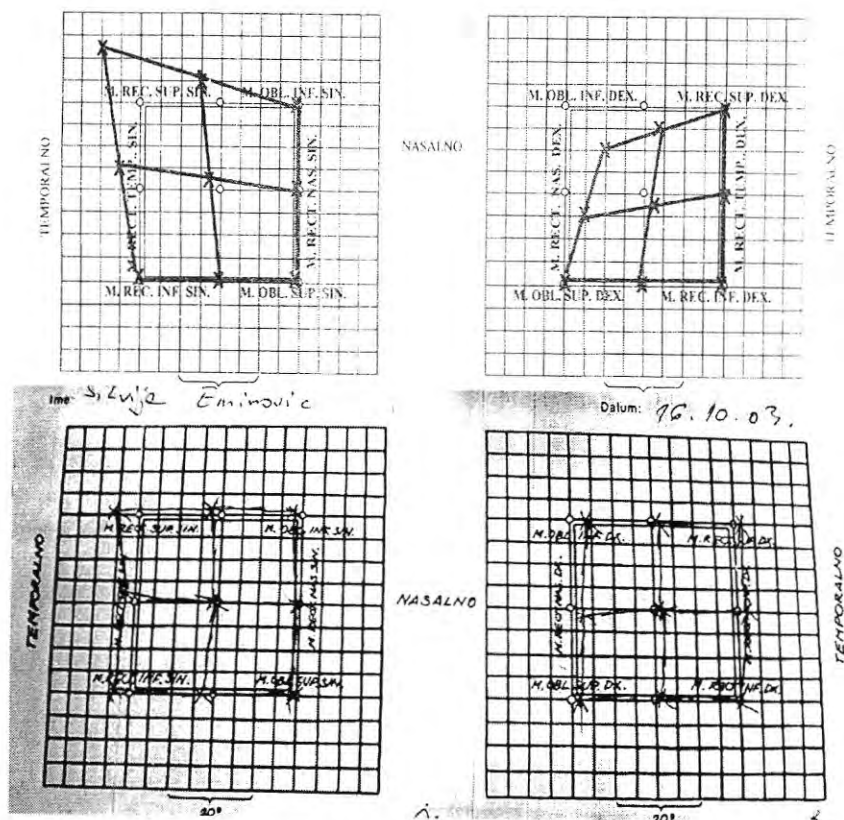
6. Tomé FMS, Fardeau M Oculopharyngeal muscular dystrophy, In Engel AG, Franzini-Armstrong C, Myology. NY: McGraw-Hill, 1994; 2: 1233-1245.
7. McLoon LK, Wirtschafter J Activated satellite cells are present in uninjured extraocular muscles of mature mice. Trans Am Ophthalmol Soc. 2002; 100: 119-23.
8. Wong VA, Bekingsale PS, Oley CA et al. Management of Myogenic Ptosis. Ophthalmology, 2002; 109; 5: 1023-1031.



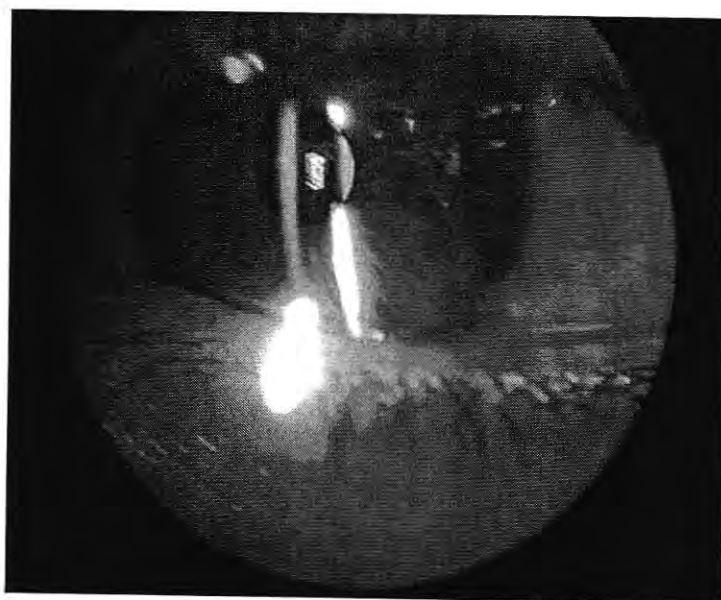
Slika 1.Normalna visina vjednog rasporka



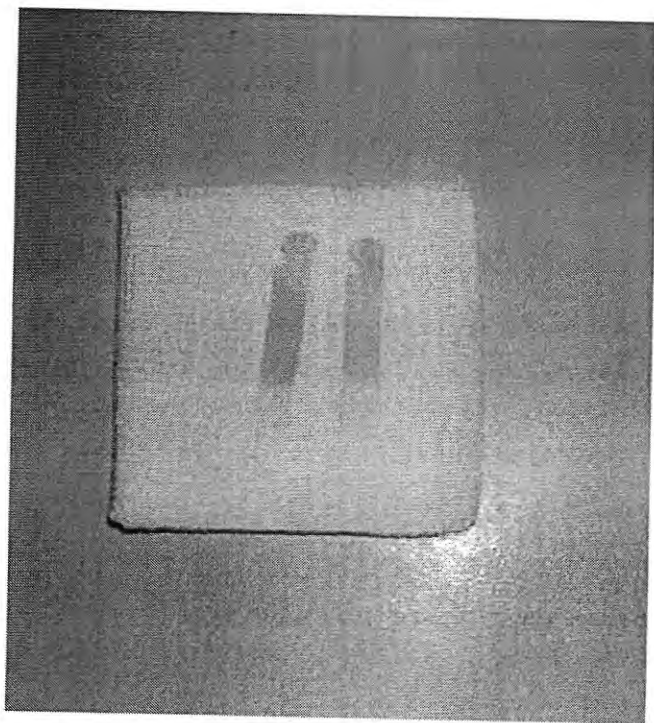
Slika 2. Aktivnost levatora gornje vjeđe



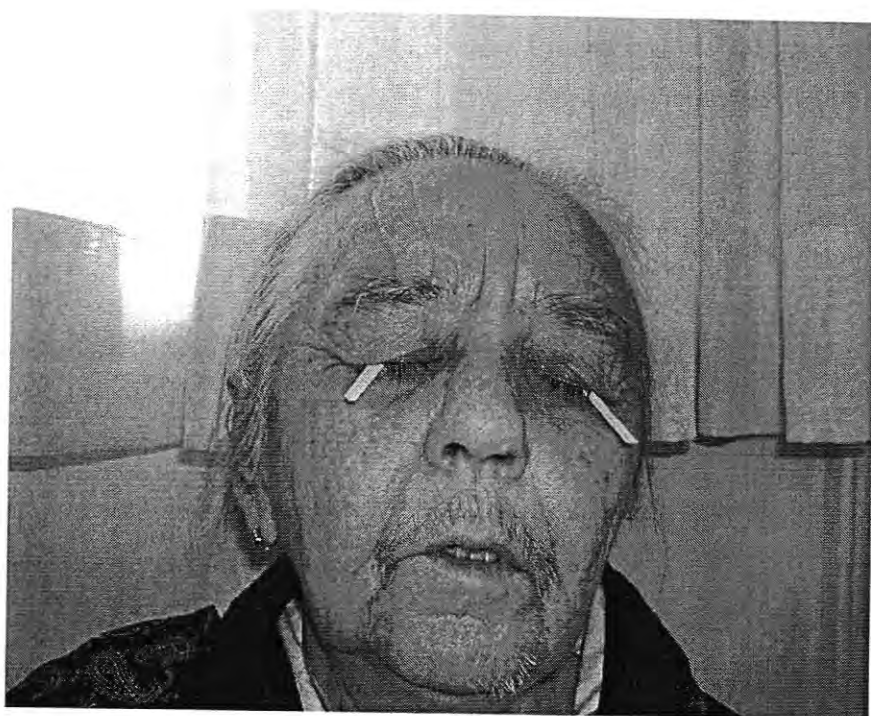
Slika 3. Test na dvoslike: Hess-Lancaster



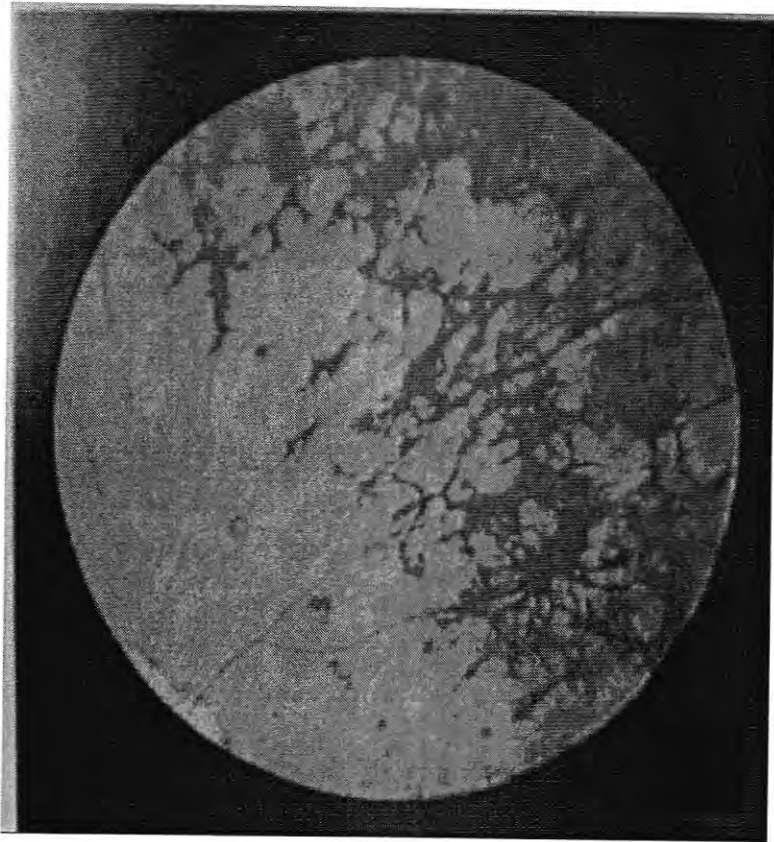
Slika 4. Biomikroskopija prednjeg segmenta oka



Slika 5. Test suzne sekrecije: Schirmer



Slika 6. Mjerenje sekrecije suza po Schirmeru



Slika 7. Slika fundusa: Retinitis pigmentosa

OPMD U GASTROENTEROLOŠKOJ PRAKSI

Dragan JURČIĆ

Odjel za hepatogastroenterologiju, OB «Sveti Duh», Zagreb

Primarna uloga probavnoga sustava sastoji se u učinkovitom procesuiranju hranjivih tvari i tekućine s jedne strane te odstranjivanju neprobavljivog otpada s druge. Prekid ovog procesa dovodi do niza različitih tegoba koje u prvom redu ovise o zahvaćenom segmentu gastrointestinalnog sustava.

Okulofaringealna mišićna distrofija manifestira se i disfagijom kao prominentnim simptomom bolesti upravo zbog važnosti funkcije gutanja za organizam.

Disfagija po svojoj definiciji predstavlja osjećaj otežane pasaže hrane iz usta u želudac, a bolesnici se obično tuže kako je otežana inicijacija gutanja, da hrana visi ili se lijepi i stoji u jednjaku. Treba razlikovati disfagiju od odinofagije (bolno gutanje) i globus senzacije (osjećaj „knedle“ ili „kugle“ u grlu).

Normalan akt gutanja može se podijeliti u dvije faze: orofaringelanu i ezofagealnu. Orofaringealna faza obuhvaća žvakanje i miješanje hrane sa slinom kako bi se pospješio njen prolaz kroz ždrijelo i jednjak. Radi se o sekvenci radnji koje se odvijaju bez utjecaja volje, a obuhvaćaju zatvaranje larinksa i mekog nepca, otvaranje gornjeg jednjačnog sfinktera te aktiviranje faringelane peristaltične aktivnosti koja tjera bolus hrane u proksimalni jednjak. Ovi procesi pod kontrolom su centra za gutanje u produljenoj moždini, V, X i XI kranijalnog živca (aferentni put), te V, VII, IX, X i XII živca (eferentni put).

Dolaskom hrane u gornji jednjak započinje ezofagealna faza gutanja. Radi se o primarnim peristaltičnim valovima koji pogone hranu niz jednjak pri čemu je donji jednjačni sfinkter relaksiran za vrijeme trajanja svakog pojedinačnog peristaltičnog vala. Ovakva koordinacija aktivnosti omogućuje nesmetan prolaz bolusa hrane iz jednjaka u želudac.

U odnosu na prethodno opisane faze gutanja moguće je, prema mjestu disfunkcije ili ispada, razlikovati dva oblika disfagije: (oro)faringelanu i ezofagealnu.

Orofaringelana disfagija posljedica je poremećaja u funkciji ždrijela i gornjeg jednjačnog sfinktera što otežava pripremu odnosno prolaz hrane iz usta u proksimalni jednjak. Ovdje valja napomenuti da je proksimalni jednjak (otprilike

proksimalna trećina jednjaka) skupa s gornjim jednjačnim sfinkterom te farinksom građen od poprečnoprugastih mišićnih vlakana za razliku od distalnijeg dijela jednjaka čiju muskulaturu čine glatke mišićne stanice što upućuje na bitne funkcijske razlike tih segmenata probavnog sustava.

U bolesnika s faringealnom disfagijom prisutna je otežana inicijacija gutanja kao posljedica primarne lezije živčanih ili mišićni strukturnih elemenata koji sudjeluju u procesu gutanja. Na orofaringelanu disfagiju upućuju otežana inicijacija gutanja, kašalj za vrijeme gutanja ili nazalna regurgitacija sadržaja. Važno je napomenuti da se ovi simptomi pojavljuju unutar 1 sata nakon početka gutanja.

Postoji čitav niz bolesti koje mogu dovesti do orofaringealne disfagije, a jedna od njih je i okulofaringealna mišićna distrofija, tablica 1. Osim niza neuroloških i mišićnih poremećaja ovdje valja diferencijalno-dijagnostički razmišljati i o strukturnim abnormalnostima kao što su neoplazme, Zenkerov divertikl itd.

Ezofagealna disfagija je poremećaj u pasaži bolusa hrane jednjakom pri čemu bolesnik ima osjećaj da hrana stoji u jednjaku. Može biti posljedica strukturnog ili mehaničkog procesa na jednjaku ili okolnim strukturama te poremećaj motiliteta jednjaka, tablica 1. Disfagija na suhu krutu hranu primarno je posljedica strukturalne ili mehaničke abnormalnosti, a ako se radi o teškoći gutanja i krute i tekuće hrane vjerojatno se radi o neuromuskularnoj bolesti.

Tablica 1. Uzroci disfagije

Orofaringealna disfagija		
Neurološke bolesti Cerebrovaskularni incidenti Mb. Parkinson Multipla skleroza Tumori mozga Bulbarni poliomijelitis Periferne neuropatije Huntingtonova bolest Mišićni poremećaji Mišićne distrofije Dermatomiozitis, polimiozitis Sarkoidoza Metaboličke miopatije Amiloidoza Miopatija inducirana steroidima	Bolesti mioneuralnog spoja Miastenija gravis Eaton-Lumbertov sy. Botulinizam Strukturni poremećaji Neoplazme orofarinksa Kompresije izvana (osteofiti, tiromegalija) Prsteni i opne jednjaka Zenkerov divertikl Disfunkcija GJS Krikofaringealna ahalazija Hipertenzivni gornji jednjačni sfinkter (hipo ili hipertiroidizam)	
	Ezofagealna disfagija	
	Intrinzične mehaničke abnormalnosti jednjaka	Poremećaji motiliteta
	Peptične striktуре	Ahalazija
	Karcinom jednjaka	Difuzni jednjačni spazam
	Opne, prsteni jednjaka	Hipertenzivni DJS
	Schatzkijev prsten	Nespecifični poremećaji motiliteta
	Divertikl jednjaka	Chagasova bolest
		Skleroderma
	Ekstrinzična kompresija jednjaka	
	Tumori medijastinuma	
	Vaskularna kompresija	
	Cervikalni osteofiti	
	Teža refluksna bolest jednjaka	

Dijagnostička evaluacija disfagije. U bolesnika s disfagijom potrebno je napraviti i širu gastroenetrološku obradu gornjeg dijela probavnoga sustava koja uključuje ezofagografiju barijem, endoskopiju, manometriju jednjaka te videomanometriju.

Radiografija jednjaka barijevom kašom potvrdit će ili isključiti postojanje anatomskih ili strukturalnih defekata, a videofluoroskopija gutanja s naknadnom „slow motion“ analizom nekoordiniranost mišićne aktivnosti orofarinksa i gornjeg segmenta jednjaka.

Endoskopijom jednjaka mogu se utvrditi eventualne promjene sluznice, a moguće je uzeti biopsiju ili napraviti dilataciju kada je to potrebno. Ova metoda posebno je značajna zbog isključenja ezofagealnog karcinoma.

Manometrija jednjaka je metoda izbora u dijagnostici motoričkih promjena kao uzroka disfagije. U bolesnika sa sumnjom na okulofaringealnu mišićnu distrofiju posebno je značajna evaluacija gornjeg segmenta jednjaka i orofarinksa. U tih bolesnika najčešće se utvrde sljedeće promjene motiliteta: povišen tonus gornjeg jednjačnog sfinktera, inkoordinacija u motilitetu farinks-gornji jednjačni sfinkter, repetitivne kontrakcije tijela jednjaka, a u bolesnika kod kojih je prisutan poremećaj na razini donjeg jednjačnog sfinktera moguć je refluks želučanog sadržaja u jednjak i orofarinks s potencijalnom opasnošću od recidivirajućih pneumonija.

Videomanometrija jednjaka je kombinacija radiološke ezofagografije i manometrije orofarinksa i jednjaka. Posebno je značajna u ispitivanju gutanja odnosno ponašanju orofarinksa pri gutanju, a metoda se zasniva na „slow motion“ analizi usporednog prikaza radiografije i manometrije jednjaka.

Literatura

Konagara K, Saffer E. Esophageal motility disorders and noncardiac chest pain. In: Current diagnosis and treatment in gastroenterology. Friedman SL, McQuaid K, Grendell J (eds). Lang Medical Books/McGraw-Hill, New York, 2003.

Goyal R, Sivaro DV. Functional anatomy and physiology of swallowing and esophageal motility. In: The Esophagus, 3rd ed. Castell DO, Richter JE (eds). Lippincott, Williams and Wilkins, 1999.

Perie S, Eymard B, Laccourreye L, Chaussade S et al. Dysphagia in oculopharyngeal muscular dystrophy: a series of 22 French cases. Neuromuscular disorders 7 Suppl. 1 (1997): 96-99.

Mathieu J, Lapointe G, Brassard A et al. A pilot study on upper esophageal sphincter dilatation for treatment of dysphagia in patients with oculopharyngeal muscular dystrophy. Neuromuscular disorders 7 Suppl. 1 (1997): 100-104.

Fan X, Rouleau GA. Progress in understanding the pathogenesis of oculopharyngeal muscular dystrophy. Canad Jour of Neurol Sci. 2003; 30(1): 8-14.

Christopher K, Horkan C, Patterson RB, Yodice PC. Oculopharyngeal muscular dystrophy complicating airway management. Chest. 2001; 120(6):2101-3.

Hill ME, Creed GA, McMullan TF et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy: phenotypic and genotypic studies in a UK population. Brain. 2001; 124:522-6.

Restivo DA, Marchese Ragona R et al. Successful botulinum toxin treatment of oculopharyngeal muscular dystrophy. Gastroenterology. 2000; 119(5):1416.

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15. 11. 2003.

Fradet G, Pouliot D, Robichaud R et al. Upper esophageal sphincter myotomy in oculopharyngeal muscular dystrophy: long term clinical results. *Neuromuscular Disorders*. 1997; 7 Suppl 1:90-95.

Bilić A, Jurčić D. Motilitet probavnog sustava. U: *Gastroenterologija i hepatologija*. Ur.: Vucelić B i sur. Medicinska naklada. Zagreb, 2002.

OPMD U OTORINOLARINGOLOŠKOJ PRAKSI

Diferencijalna dijagnostika promuklosti

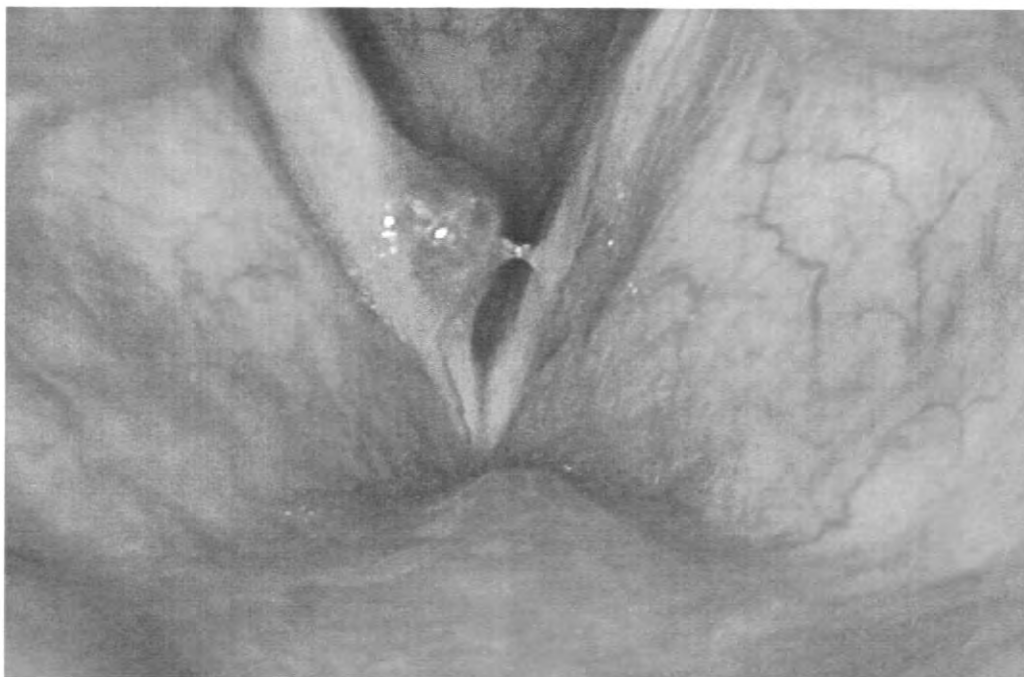
**Santa VEČERINA VOLIĆ, Vesna KIRINIĆ PAPEŠ,
Tihana IBRAHIMPAŠIĆ, Martina STARČEVIĆ**

KBC Zagreb, Fonijatrijski centar ORL klinike Šalata

Govor je rezultat kompleksnog i još uvijek ne do kraja istraženog djelovanja središnjeg živčanog sustava na periferne funkcijske i anatomske cjeline: artikulacijske organe, rezonantne prostore i respiratorni sustav.

Funkcija fonacije je u svom perifernom segmentu najbolje istražena, ali za razliku od poremećaja govora gdje je moguće već samom analizom patološkog simptoma posumnjati na razinu lezije u govornom sustavu, to je mnogo teže kod promuklih bolesnika.

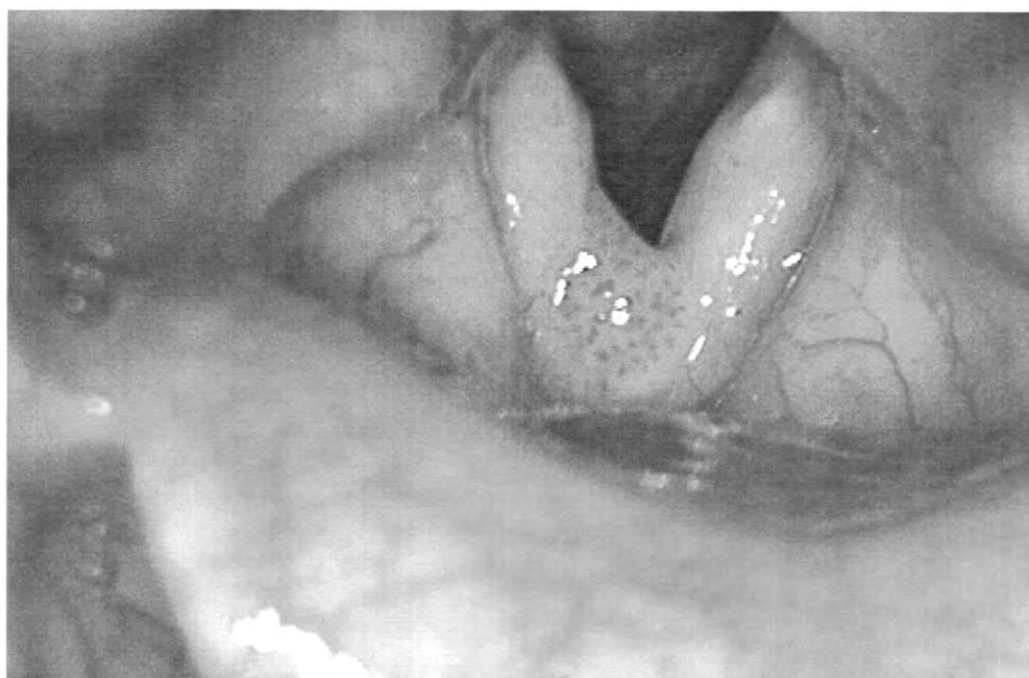
Kada se javi simptom promuklosti i liječnici i bolesnici najprije pomišljaju na neke bolesne promjene u grkljanu odnosno na glasnicama. S druge strane sasvim je očekivana promjena ili čak gubitak glasa u emocionalnom stresu ili kod psihijatrijskih bolesnika. Sve to ukazuje da je i fonacija, kao dio kompleksnog procesa govora također bitno ovisna o središnjem živčanom sustavu. Ipak ostaje činjenica da je naša pažnja opravdano vezana uz periferni generator glasa, jer su u svakodnevnoj praksi najčešći bolesnici koji se javljaju zbog smetnji glasa periferne geneze. Tada je i dijagnoza jednostavna jer je povezivanje onog što se čuje kao "simptoma koji upozorava" s onim što vizualiziramo u larinksu jednostavno. Npr. dijagnoza polipa, edema, papiloma ili karcinoma promptno objašnjava simptom zbog kojeg se bolesnik javlja (Slike 1a, b, c, d)



Slika 1a. Polip glasnice



Slika 1b. Oedema Reinke obje glasnice



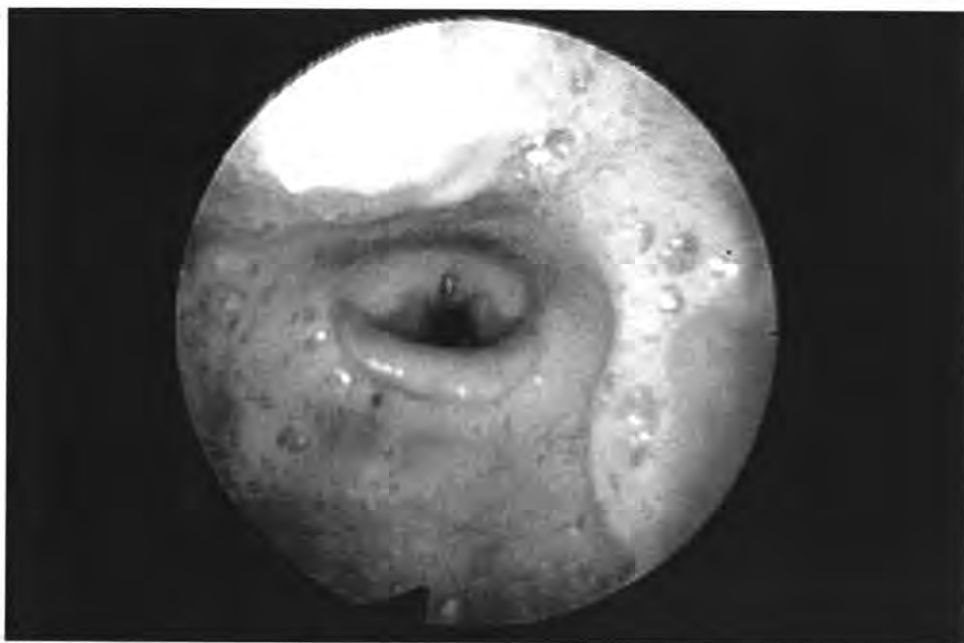
Slika 1c. Papilom prednje komisure



Slika 1d. Karcinom glasnice

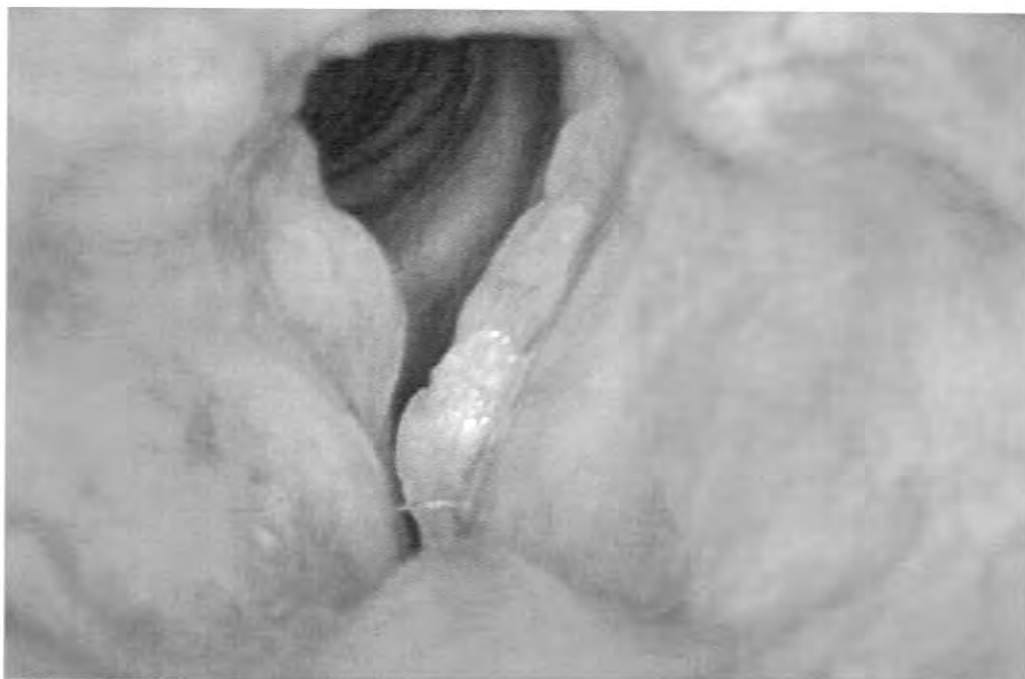
Međutim čak i tada simptom koji se čuje nije samo izraz promjena na glasnicama, nego i mnogih kompenzacijskih hiperekinetičkih mehanizama koji su izraz svjesnog ili podsvjesnog mehanizma “popravljanja” glasa.

Iako u znanosti o glasu postoje razni pokušaju detekcije patologije na temelju raznih subjektivnih i objektivnih akustičkih analiza i testova, u fonijatriji moramo strogo slijediti princip koreliranja onog što vidimo s onim što čujemo, odnosno isključiva detekcija fonatorne patologije na temelju analize akustičkog simptoma nije dopuštena. Tek kada usprkos pokušaju otkrivanja morfoloških ili funkcijskih promjena u perifernom glasovnom organu, ne možemo takve promjene vizualizirati, može nas simptom glasovne nestabilnosti ili neobičnosti voditi ka proširenju obrade odnosno možemo postaviti sumnju na neki drugi entitet (miotoničnu distrofiju, miasteniju gravis, progresinu bulbarnu paralizu, amiotrofičnu lateralnu sklerozu...). Kada i ne vidimo morfološke promjene na glasnicama, možemo registrirati neke periferne znakove koje govore u prilog mogućih drugih dijagnoza. Tako primjerice zastoj slina i sekreta u hipofarinksu (Slika 2) ili tremor aritenoida tijekom disanja i fonacije mogu poslužiti kao vrijedni periferni znakovi centralnih oštećenja.

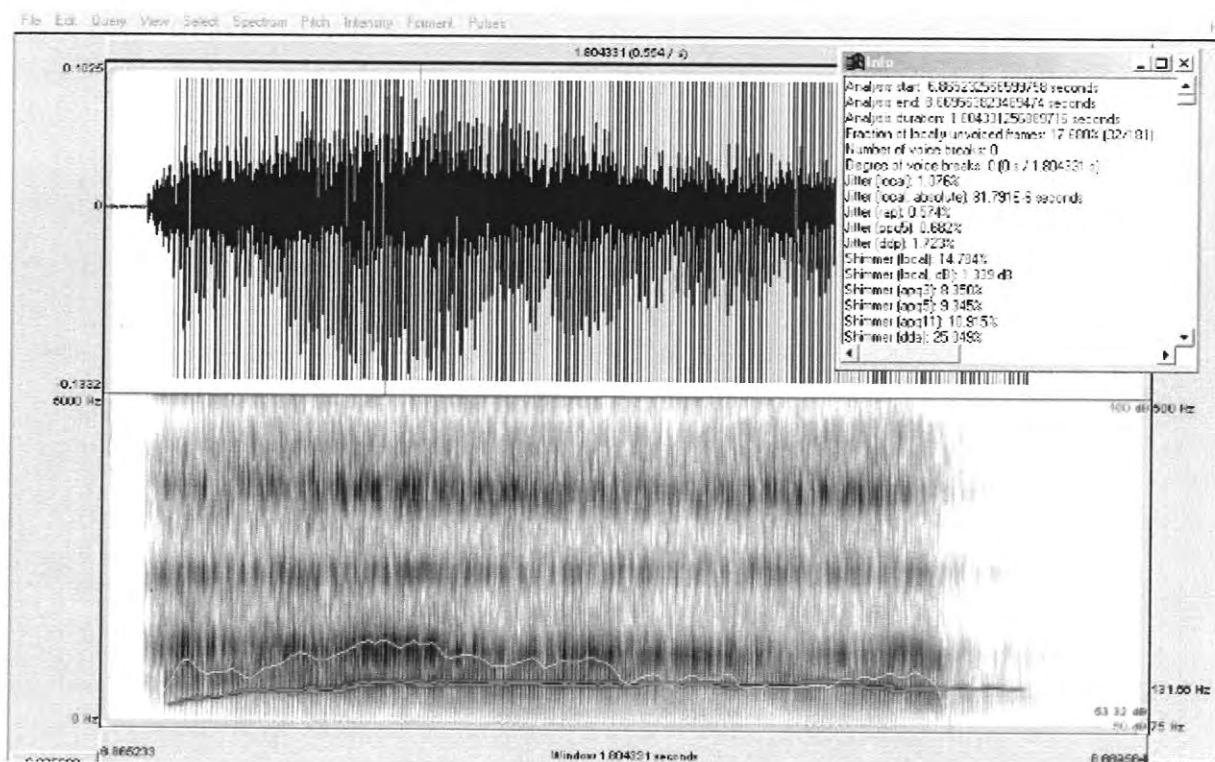


Slika 2. Zaostajanje sekreta u hipofarinksu

O povezanosti perifernog glasovnog organa i centralne kontrole temeljnog laringalnog tona govore i naša osobna istraživanja brzih promjena temeljnog laringalnog tona (F0) kod rane karcinomske infiltracije glasnice. Naime receptori koji obavještavaju centre o napetosti glasnice su tada infiltrirani tumorskim tkivom i dolazi do znakovitog regulatornog poremećaja, (povišen tzv. jitter) a nama taj znak koristi u postavljanju sumnje na ranu malignu infiltraciju i daje nam smjernice za žurnu bipsiju (Slika 3. i 4).



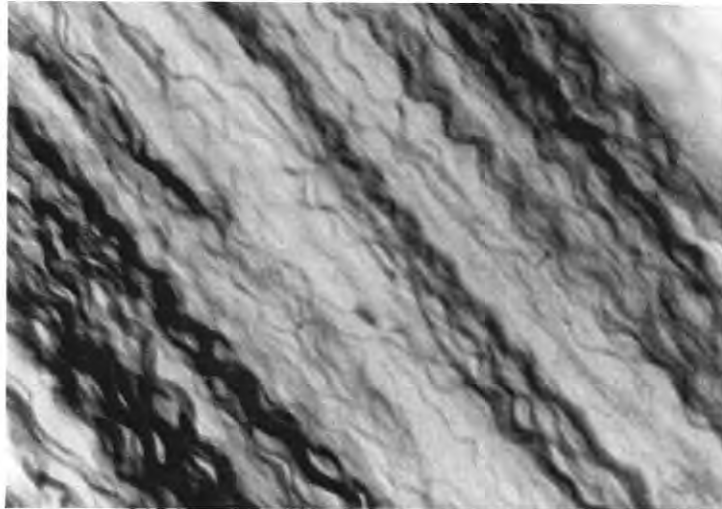
Slika 3. Maligna alteracija rizične lezije glasnice



Slika 4. Akustička slika produžene fonacije glasa A te visoka vrijednost Jitter-a.

Osim u slučaju ove najteže laringealne patologije kompjuterske akustičke analize patološkog glasa (u sustavima Kay-Elementrics akustičkog laboratorije za analizu

glasa, Pratt softverskog sustava) daju nam mogućnost uočavanja akustičkih iregularnosti, pa nam je u tom kontekstu relevantna akustička analiza i obrazlaganje tih nalaza vrlo važno upravo u dijagnostici nelaringealne glasovne patologije. Napretkom vizualizacijskih tehnika uočavamo i minimalna morfološka odstupanja na glasnicama, koja mogu biti izvorom upadljive promuklosti. Naime i najmanja iregularnost u vibratornom sluzničkom sloju glasnice remeti sluznički val i dovodi do muklosti u glasu, a pokušaj kompenzatorne hiperekinezije uvelike pogoršava glas.



Slika 5. Pravilan raspored vezivnih niti u sluzničkom sloju glasnice



Slika 6. Destrukcija sluzničkog sloja glasnice

Takve diskretne ili izraženije promjene nazivamo degenerativnom laringopatijom i često je sluznica upadljivo promijenjena na slobodnom rubu u obliku tzv glottidne brazde.



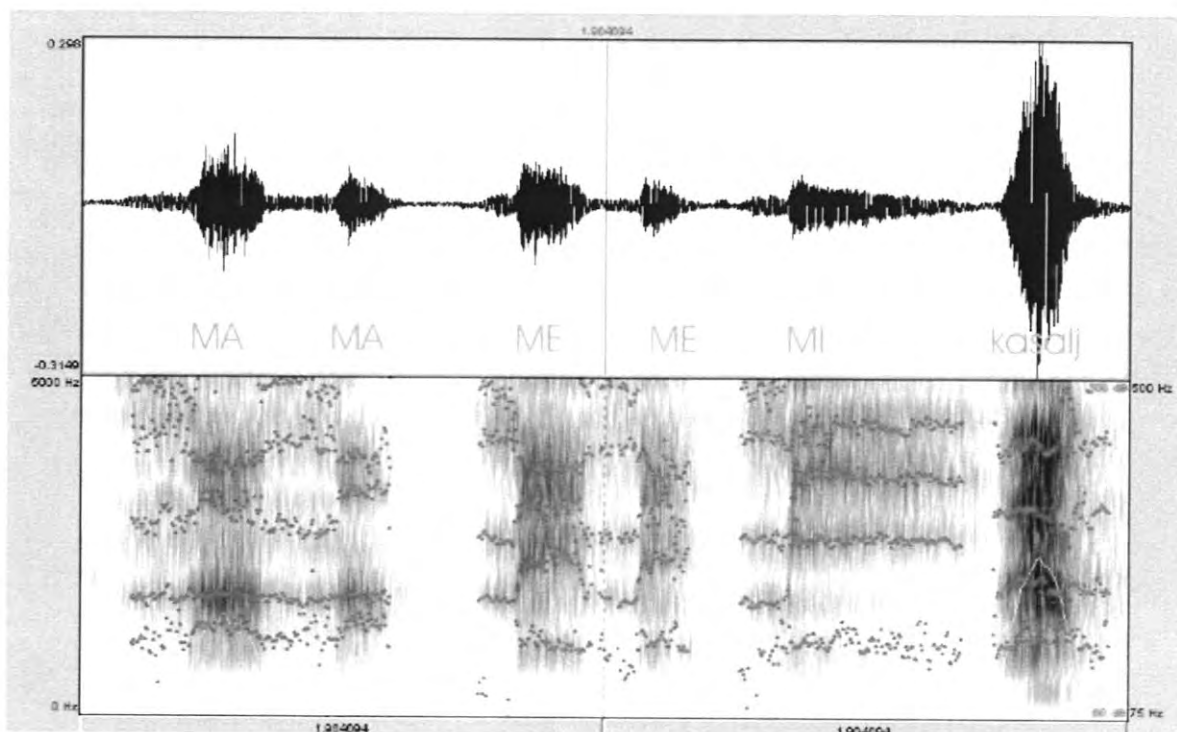
Slika 7. Laryngopathia degenerativa i sulcus glottidis

U skupini bolesnika s degenerativnom laringopatijom često se susrećemo s velikom varijabilnošću simptoma promuklosti, što može dovesti do dijagnostičkih zabuna. Naime degenerativne laringopatije i glottidne brazde češće su u starijoj dobi i uzrokuju starački glas ili prezbofoniju, što ne znači da osim te patologije ne mogu razviti i drugu patologiju. Upravo takva moguća dijagnostička zabuna zabilježena je na slijedeća naša dva bolesnika, te ćemo na temelju analize njihovog tijeka bolesti ilustrirati sve gore rečeno.

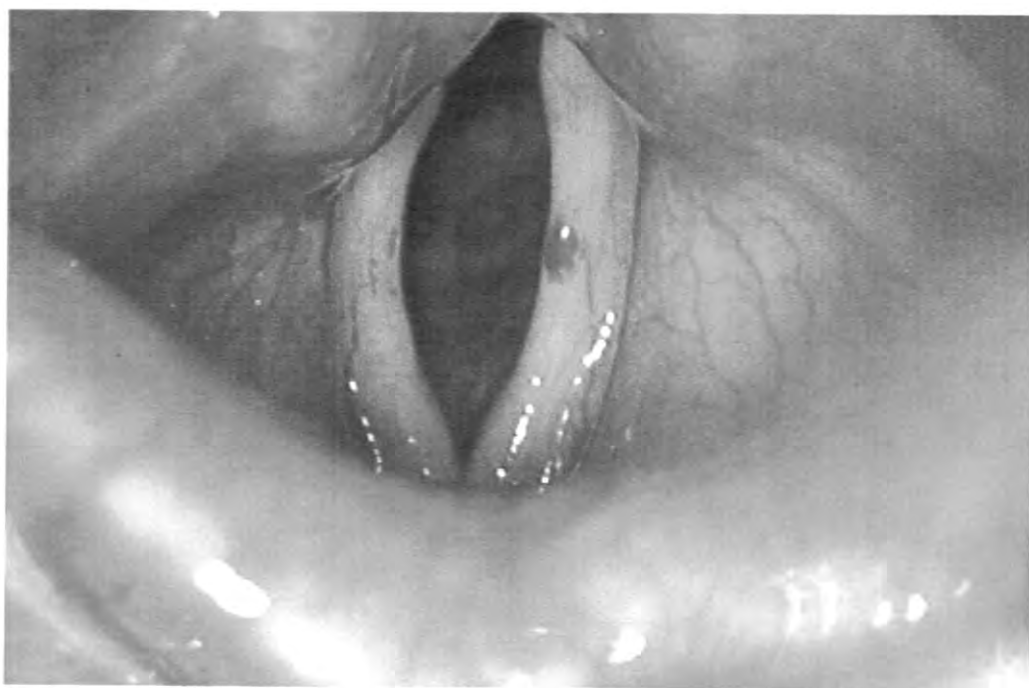
Prikaz slučaja (J.I)

Bolesnica stara 60 godina liječena je u drugoj ustanovi nekoliko godina pod dijagnozom atrofije glasnice i teške disfonije. Upućena je u naš Centar kako bismo fonokirurškim postupkom popravili glas bolesnice. Kod dolaska u Centar bolesnica je bila potpuno afonična, a usprkos addukcijskim pokretima aritenoida nismo mogli ostvariti niti minimum potrebne addukcije stanjenih glasnica za pokretanje fonatornog procesa. Čak niti vanjskim manuelnim pokušajima približavanja glasnica nismo uspjeli dobiti ništa osim šapta, odnosno šuma. Akustičke su analize stoga bile vrlo otežane, jer nisu mogle tragati za patologijom nepostojećeg glasa. Međutim, znak znakovitog zaostajanja sekreta u hipofarinksu, kao i brza progresija disfonije i

afoniju, te nemogućnost poboljšanja glas mehaničkim manuelnim približavanjem glasnica, navelo nas je na sumnju o drugim mehanizmima promuklosti odnosno gubitka glasa, te je bolesnica premještena na neurologiju gdje je relevantnom dijagnostikom potvrđena dijagnoza amiotrofične lateralne skleroze. (Slika 7. i 8.)



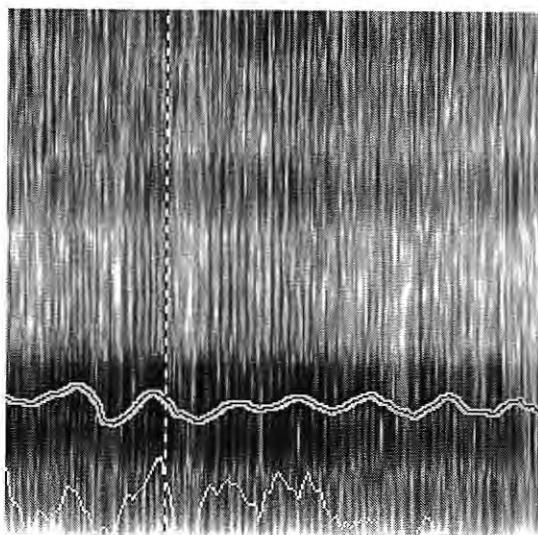
Slika 7. Akustička slika fonacije pacijentice – afonija



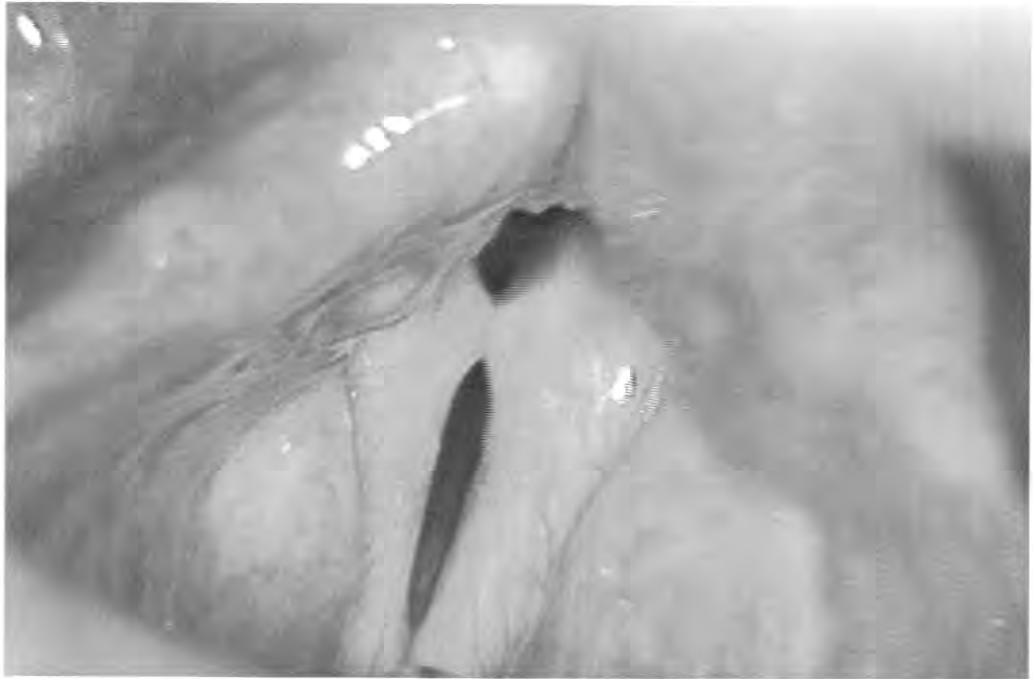
Slika 8. Izrazita fonacijska insuficijencija

Prikaza slučaja (D.A)

Bolesnica je stara 77 godina, pjevala je u crkvenom zboru i zamijetila je gubitak raspona glasa, otežanu kontrolu visine glasa, te nemogućnost vođenja melodijske linije. Pregledom glasnica utvrdili smo degenerativnu laringopatiju, te smo bolesnici objasnili da starenjem, a i pjevačkom fonotraumom mogu nastati promjene gubitka elasticiteta i fibroza glasnica koje mogu biti odgovorne za njezine glasovne simptome. Ali analizom produžene fonacije glasa A kao i prozodijskih elemenata govora na snimci spontanog razgovora nađeni su određeni znakovi poremetnji u smislu neartikuliranosti glasova ili glasovnih cjelina i sl.. (Slika 9 i 10) Svoje tegobe pacijentica je pripisivala novom zubalu, no ipak smo bolesnicu nakon kraće opservacije poslali na neurološku obradu koja je dokazala suprabulbarnu paralizu.



Slika 9. Produžena fonacija glasa A – vidljivi tremor glasa.



Slika 10. Stanjene glasnice i kompenzatorna aktivnost ventrikularnih nabora u bolesnice sa suprabilbarnom paralizom

Zaključak

Primjenom modernih vizualizacijskih i akustičkih tehnologija te povezivanjem dobivenih kliničkih znakova s rezultatima fonijatrijske obrade, moderna fonijatrija može bitno doprinijeti dijagnozi raznih neuroloških entiteta, pa tako i dijagnozi okulofaringealne mišićne distrofije.

LITERATURA:

1. Večerina S, Stojiljković Romić R, Krajina Z, Gamulin S. Androgen receptors in normal and neoplastic laryngeal tissue. *Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 1987; 113: 411-413.
2. Večerina Volić S, Kovač Đ, Seiwerth S, Manojlović S. Correlation between instability of fundamental voice frequency and malignant infiltration of vocal fold nerve endings. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1997; 527: 131-133.
3. Večerina S. Histological structure of fetal vocal fold mucosa. In: Kirchner JA, ed. *Vocal Fold Histopathology*. San Diego: College Hill Press, 1986: 25-33.
4. Večerina S, Kirinić Papeš V, Papeš Z. Interaktivni multimedijски priručnik na CD-u uz tiskani pregled patologije za potrebe dodiplomske, postdiplomske nastave i specijalizacije. Zagreb, 2002.

5. Večerina S. Analysis of the Articulatory and Phonatory Mechanismus in Damaged Central Nervous System. *Folia Phoniatica* 1979; 31: 250-258.
6. Večerina S, Jušić A, Subotić R. Mechanism of dysphonia in Melkerson-Rosenthal syndrome. *Folia Phoniatica* 1984; 36: 122-128.
7. Duranceau AC, Letendre J, Clermont RJ, Levasque HP, Barbeau A. Oropharyngeal dysphagia in patients with oculopharyngeal muscular dystrophy. *Can J Surg* 1978; 21: 326-329.

Slike 1-10 pripadaju datoteci Fonijatrijskog centra ORL klinike Šalata.

ZBRINJAVANJE BOLESNIKA S OPMD

LIJEČENJE MIOGENIH PTOZA

Neda STIGLMAYER, Miljenka TOJAGIĆ, Jelena JURI

Zavod za bolesti orbite, rekonstruktivnu kirurgiju, neurooftalmologiju i glaukom

Klinika za očne bolesti KBC, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Miogene ptoze kojima pripadaju i ptoze u sklopu okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD) karakterizira oslabljena funkcija dizača gornje vjeđe (m.levator palpebrae superioris). S progresijom bolesti ta funkcija može biti značajno smanjena, a uz to dolazi i do poremećaja bulbomotorike i slabljenja Bellovog fenomena rotacije očne jabučice kod zatvaranja vjeđa. Stoga je poznavanje uzroka poremećaja funkcije vjeđa i kliničkog toka bolesti ključno za pravilan pristup liječenju.

Za **OPMD** je tipičan kasni nastup kliničkih znakova, a obostrano spuštene vjeđe su prvi znak koji dovodi bolesnika liječniku (Taylor, 1915). *Ptoze* se razvijaju postupno, ali u 50-im godinama života postaju tako uočljive i izrazite da otežavaju uobičajene funkcije radno sposobnih i aktivnih ljudi.

Oftalmoplegija je u pravilu kasni znak i javlja se u diskretnom obliku, za razliku od drugih stanja, gdje je dominantan znak i javlja se u mladosti ili već djetinjstvu. Kod bolesnika s miogenim ptozama mogu se naći i druge oftalmološke promjene koje su karakteristične za pojedine genetske bolesti, a što će nam pomoći u odluci izbora oblika liječenja.

Preoperativna obrada bolesnika stoga mora uključivati:

- **POVIJEST BOLESTI:** a) vrijeme i način nastanka ptoze
 - b) eventualni prateći znaci-bolna bulbomotorika, promjene KKS, znaci upale
 - c) podaci o ozljeđivanju
 - d) nasljednost-podaci i obiteljske fotografije
 - e)ostale prateće bolesti ili stanja: miopatije, neuropatije, autoimune bolesti, endokrine bolesti (npr.diabetes), toksična kronična stanja poput alkoholizma (Wernickeova avitaminoza), uzimanje lijekova koji mogu utjecati na motoriku vjeđa (Reserpine, Oncovin).
 - f)prethodne bolesti koje zahvaćaju neuromuskularni sustav (influenza, ospice, encefalitis, meningitis, difterija)
 - g)promjene intenziteta ptoze u tijeku dana

- IZGLED

- a) a)eventualne prateće prirodene promjene na očima i licu
- b) b)kompenzatorna držanja- glave, obrva
- c) c)udružene promjene kao kod sinkinetičkih poremećaja: Marcus-Gun je sindrom sa paradoksalnom inervacijom, gdje n. Glossopharyngeus inervira m. Levator palpebrae superioris pa kod gutanja se podiže vjeđa, odnosno tada nema ptoze.
- d) znaci neuroloških ili miopatskih ispada: Hornerov sindrom, Kestenbaum je prvi uočio i opisao da kod pogleda prema gore ptoza postaje još uočljivija.
- e) upale vjeđa ili neposredne okoline-orbite
- f) promjene vjeđa koje mehanički onemogućuju motoriku ili položaj: blefarohalaze, edemi, tumori, ožiljci, strana tijela
- g) pseudoptoza zbog poremećenog odnosa sadržaja orbite i vjeđa: enoftalmus, mikroftalmus, anoftalmus

- KLINIČKI TESTOVI

- a) aktivnost m.levatora mjerena u milimetrima (Sl.1.)
- b) bulbomotorika/-Cover-uncover (ispitivanje namještanja oka pod zaklonom u patološki položaj konvergencije ili divergencije zbog poremećaja)
- c) Bell-ov fenomen rotacije očne jabučice prema gore kod zatvaranja vjeđa
- d) stanje m.orbikularisa
- e) Iliff-Berke-ov test okretanja gornje vjeđe (kod prisutne funkcije m.levatora pogledom prema gore, vjeđa se ispravlja)
- f) ispitivanje rožničnog refleksa
- g) ispitivanje filma suza-BUT/Schirmer
- h) ispitivanje funkcije retraktora gornje vjeđe (Müllerov mišić)-kod fiksiranja dodatno podizanje ruba gornje vjeđe

- Biomikroskopski pregled prednjeg segmenta (leća)

- Egzoftalmometrija (Sl. 2)
- Pregled očne pozadine
- Rtg obrada okolnih struktura-orbita i sinusi
- Ultrazvuk orbite
- CT orbita i sinusa
- Fotodokumentacija

S obzirom na kasniji nastup ptoze i njezinu progresiju s dodatnim promjenama očiju, naročito smanjene bulbomotorike, a s time i povećane opasnosti oštećenja prednjeg segmenta oka opće je prihvaćeno stajalište odabir operativne tehnike koja

omogućuje motoriku i položaj vjeda uz zadovoljavajuću zaštitu prednjeg segmenta. Zato ćemo u glavnom preporučiti bolesnicima s prisutnim ptozama prije 45 g života kao metodu izbora korekcija ptoze frontalnim režnjem (Stiglmayer, 1986) (Sl.3) i to kada su ptoze izrazite i sa slabom funkcijom mišića.

Za razliku od ostalih autora, koji preporučuju «suspenzijske» operacija na frontalni mišić različitim materijalima, kao što su silikonske trake (Wong, 2002). Slike 3-7 prikazuju različite tehnike operacija ptoza: operaciju s režnjem frontalnog mišića (Sl.4), korekciju tehnikom suspenzije (Sl. 5.)

Kod oba oblika korekcije ptoze preporuča se podizanje ruba vjede sa mogućim potpunim zatvaranjem vjednog rasporka u snu, što znači blagu hipokorekciju .

Međutim, ako je nastup ptoze u kasnijem životnom razdoblju i sa donekle sačuvanom funkcijom m.levatora, zadovoljavajući rezultat će dati i operativne tehnike kod kojih se djeluje na aponeurozu mišića uz poštedu Whitnall-ovog ligamenta, koji je značajan za funkciju i potporu mišića.Kod miogenih ptoza, naročito ukoliko je izražena jednostrano, mora se imati na umu Heringovo pravilo, jer zbog centralnih impulsa jače izražene ptoze, na drugoj strani je relativno uredno stanje. Tako nakon operacije ptoze jedne strane, postaje manifestna ptoza druge strane. (Sl. 6 i 7).

Nakon korekcije ptoze neophodno je pratiti bolesnika s obzirom na stanje prednjeg segmenta oka. Često puta za zadovoljavajuću zaštitu potrebno je dodati primjenu umjetnih suza u kapima preko dana , te eventualno u obliku gela preko noći. Na taj način uz korekciju ptoze koja vraća bolesnike normalnoj funkciji osiguravamo i osjećaj ugone zbog zadovoljavajućeg stanja prednjeg segmenta oka usprkos nepovoljnim uvjetima oslabljene bulbomotorike i Bell-ovog fenomena rotacije očne jabučice prema gore kod zatvaranja vjednog rasporka.

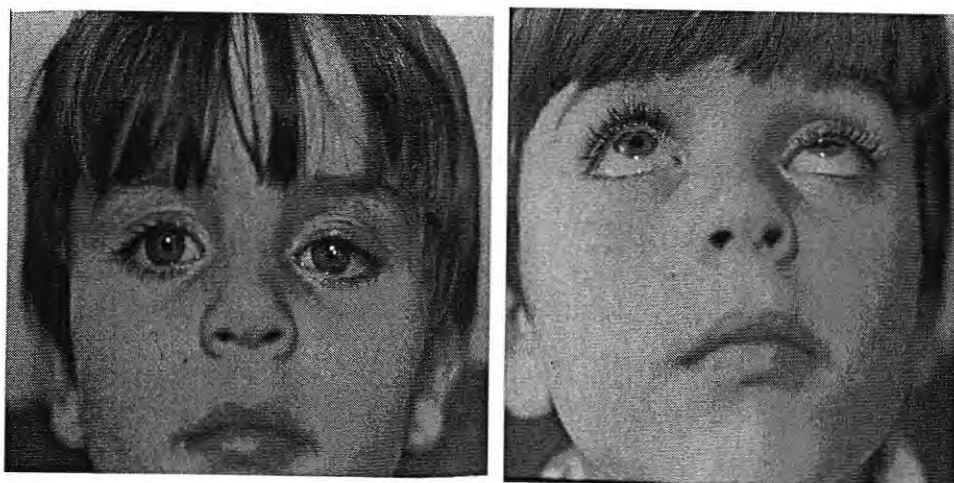
LITERATURA

Beard C.Ptois:Some newer concepts.Ann.Ophthalmol.1971;3:1047-1049.

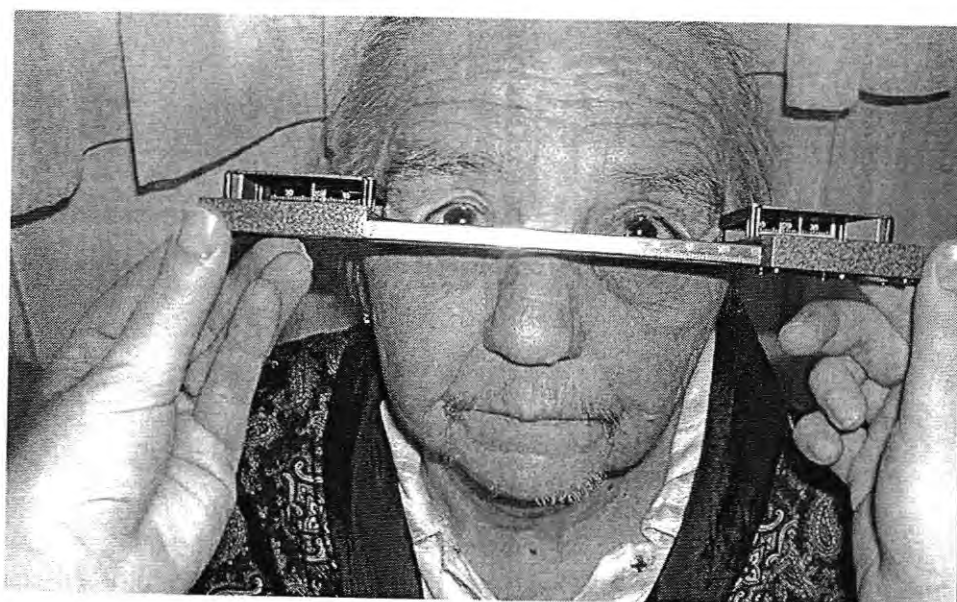
Taylor EW.Progressive vagus-glossopharyngeal paralysis with ptosis:contribution to the group of family diseases.JnervMent Dis 1915;42:129-139

Stiglmayer N:Management of Ptosis with poor levator function,Orbit 1986.

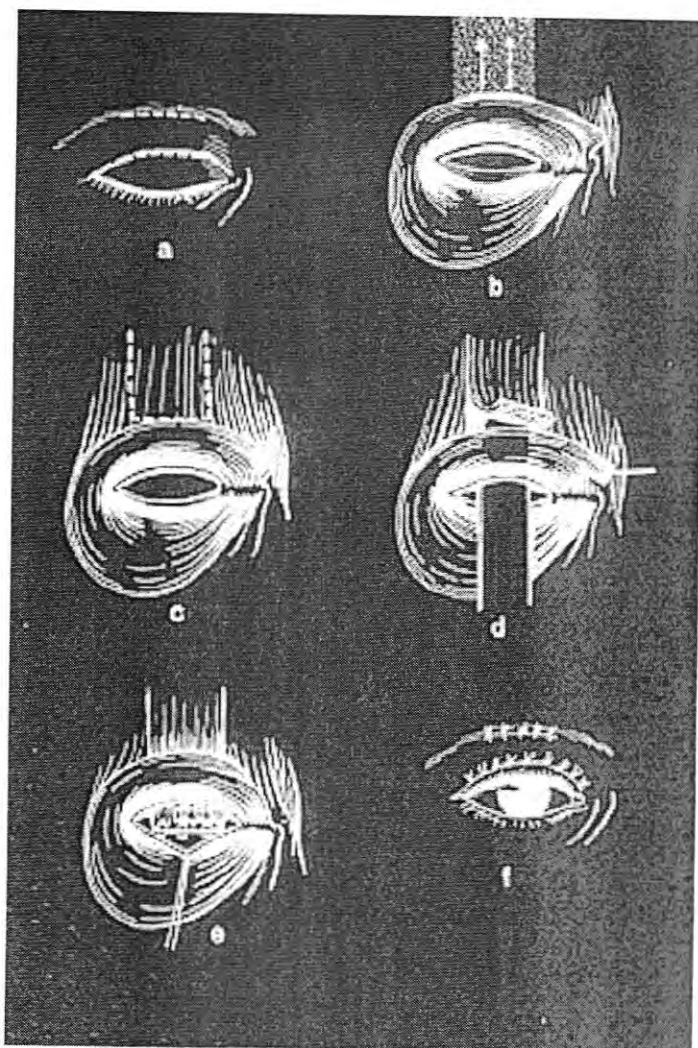
Wong VA,Bekingsale PS,Oley CA et al. Management of Myogenic Ptosis.Ophthalmology,2002;109;5:1023-1031.



Slika 1. Bulbomotorika



Slika 2. Egzoftalmometrija po Hertelu



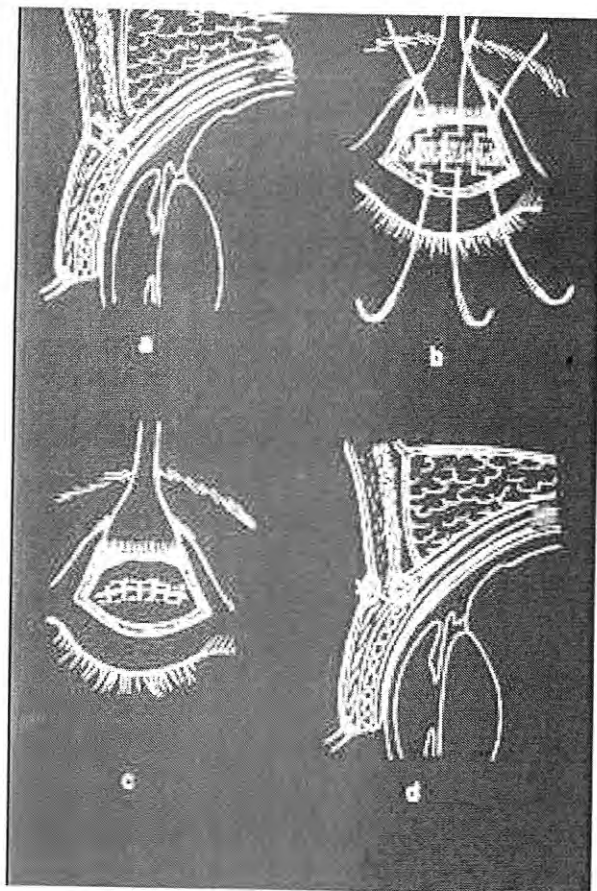
Slika 3. Korekcija ptoze frontalnim režnjem



Slika 4. Operacija s režnjem frontalnog mišića



Slika 5. Bolesnik prije i nakon korekcije tehnikom suspenzije



Slika 6. Operacija na razini aponeuroze



Slika7. Bolesnica nakon operacije shematski prikazane na slici 6

ZBRINJAVANJA BOLESNIKA S OPMD: POMOĆ GASTROENTEROLOGA

Dragan JURČIĆ

Odjel za hepatogastroenterologiju, OB «Sveti Duh», Zagreb

Pristup liječenju bolesnika s OPMD je multidisciplinaran. Uloga gastroenterologa u tom zbrinjavanju sastoji se primarno u rješavanju mehaničkih poremećaja uočenih pri dijagnostičkoj evaluaciji orofarinksa i jednjaka. U svakom slučaju pristup rješavanju disfagije kod ovih bolesnika sastoji se primarno od procjene težine poremećaja. Konzervativni pristup dolazi u obzir kod lakših oblika bolesti, dok teže forme zahtijevaju operativno liječenje.

U bolesnika s OPMD *ne postoji adekvatno medikamentno liječenje* disfagije.

Dilatacija gornjeg jednjačnog sfinktera. Primjenjuje se dilatacija Maloney bužinom i to najčešće Maloney No 60 F. Dilatorom se prođe gornji jednjačni sfinkter u cervikani jednjak. Koristi se lokalni anestetik.

Dilatacija balonskim dilatorom za ahalaziju. Ova metoda sastoji se u pozicioniranju balona katetera (Rigiflex) u područje gornjeg jednjačnog sfinktera te insufliranjem zraka i održavanju postignutog tlaka kroz 10 sekundi. Procedura se ponavlja dva puta. Bolesnik je u općoj anesteziji te intubiran tijekom izvođenja procedure.

Operativna metoda krikofaringealne miotomije. Radi se o kirurškoj metodi miotomije krikofaringealnog mišića koja dolazi u obzir kod težih formi disfagije, a kontraindicirana je kod bolesnika s faringealnom aperistaltikom.

Literatura

Vidi: Dragan Jurčić :OPMD U GASTROENTEROLOŠKOJ PRAKSI

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15. 11. 2003.

REHABILITACIJA OSOBA S OKULOFARINGEALNOM MIŠIĆNOM DISTROFIJOM

Ida KOVAČ

KBC Zagreb, Klinički zavod za rehabilitaciju i ortopedska pomagala

Okulofaringealnu mišićnu distrofiju karakteriziraju polimorfni klinički simptomi, od kojih je rani simptom ptoza kapaka s progresivnom afekcijom ekstraokularnih mišića do moguće potpune paralize, dok su kasniji simptomi flakidna disfagija, dizartrija, slabost muskulature lica te slabost proksimalne muskulature udova. Terapija bolesti je, uglavnom, simptomatska.

Medicinska rehabilitacija osoba koje boluju od neuromišićnih bolesti, uključujući i bolesnike s okulofaringealnom mišićnom distrofijom se sastoji od niza različitih terapijskih postupaka koji su usmjereni na olakšanje posljedica bolesti te postizanje maksimalno moguće neovisnosti kao i kvalitete življenja. Osnovni cilj rehabilitacije je smanjiti posljedice bolesti - onesposobljenja ("disablement") tj. utjecaja oštećenja ("impairment") koje dovodi do nesposobnosti ("disability") te pojave ometenosti ("handicap"). Općenito, ciljevi rehabilitacije su ublažavanje ili prevencija razvitka oštećenja, funkcionalne deterioracije na razini organa, 2. prevencije razvitka onesposobljenosti, na nivou individue te 3. osiguranje adekvatnog društvenog života i integracije.

Rehabilitacija bolesnika s neuromišićnim bolestima je orijentirana holistički, a planira se individualno. Temelji se na kliničkom statusu i tegobama bolesnika, sukladno poznavanja prirodnog tijeka i patoanatomskih značajki pojedine bolesti iz heterogene grupe neuromuskularnih bolesti. Ona ne mijenja patofiziološki tijek bolesti ali često, i to vrlo značajno, utječe na funkcionalne mogućnosti bolesnika.

Specifični ciljevi fizioterapije u tretmanu neuromišićnih bolesti, su: 1. održati/poboljšati mišićnu snagu, 2. spriječiti ili umanjiti kontrakture. 3. poboljšati ili produžiti pokretnost, mogućnost hodanja bolesnika te funkcionalne mogućnosti bolesnika.

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HlIM, Zagreb, 14. i 15. 11. 2003.

Medicinska terapija obuhvaća postupke fizioterapije, radne terapije, primjene različitih ortopedskih i tehničkih pomagala, edukaciju bolesnika za samostalnost i samozbrinjavanje unutar granica funkcionalnih mogućnosti, a povremeno, uključuje i kirurške intervencije. Za bolesnike s okulofaringealnom distrofijom, koji imaju izraženu slabost muskulature lica te smetnje gutanja i govora, ulažu se naponi za ublažavanje navedenih tegoba.

U fizioterapiji je naglasak na kinezioterapiji kojom nastojimo djelovati na usporenje razvoja mišićne slabosti, ali smo svjesni da nijedan kinezioterapijski program nije u mogućnosti značajno osnažiti distrofične mišiće, što je rezultat progresivnog propadanja mišićnih vlakana i njihovom zamjenom masnim tkivom i ožiljcima, a što je tipično za mišićnu distrofiju. Kinezioterapija obuhvaća vježbe snaženja i izdržljivosti za skeletnu muskulaturu te vježbe za održavanje pokretljivosti zglobova uz respiratorni trening.

Kod bolesnika s okulofaringealnom distrofijom se kinezioterapijski program planira na temelju mišićne slabosti (što se procjenjuje kliničkim pregledom a potom kvantificira mjerenjem, ocjenom manuelnim mišićnim testom i dinamometrijski), i to ne samo udova nego i zahvaćene facijalne muskulature, muskulature vrata, žvačnih mišića te ekstraokularnih mišića. Gubljenje mišićne snage, pretežno proksimalnih skupina udova, ima za posljedicu na gornjim udovima, redukciju funkcionalnih sposobnosti ruku a na donjim udovima poteškoće pri hoda, posebno po stepenicama. Adekvatno doziranje intenziteta i trajanja kinezioterapije je od osobite važnosti kod bolesnika s distrofijom radi realne opasnosti od dodatnog oštećenja, i inače manje vrijednog, mišićnog tkiva. Preveliko funkcionalno opterećenje mišića i preforsiranje koje izaziva umor, može biti štetno za distrofične mišiće. Stoga se, kao i kod ostalih bolesnika s mišićnom distrofijom, savjetuje svakodnevno provođenje vježbi, ali dozirano, i to s aspekta trajanja kao i intenziteta vježbi. Kroz edukaciju se bolesnik upoznaje s ciljevima i načinu provođenja rehabilitacije te potiče na aktivno uključivanje u terapiju. Vježbanje treba postati dio svakodnevnog života.

Kontrakture zglobova, predstavljaju vrlo neugodnu komplikaciju neuromišićnih bolesti. Javljaju se kao posljedica nejednolikog slabljenja mišića oko zglobova radi čega se, zbog prevlasti relativno snažnijih mišića, formiraju određeni položaji zglobova i to, najprije, s mogućnošću pasivne korekcije, a kasnije kao fiksirane kontrakture. Kod bolesnika s mišićnom distrofijom, na gornjim udovima se najčešće javljaju u ramenima a na donjim udovima na stopalima, koljenima i kukovima. Kontrakture donjih udova zahtijevaju pojačani napor kod hoda i izazivaju brzi umor. U kombinaciji s mišićnom slabošću natkoljeničnih i zdjelčnih mišića, posebno ekstenzora kuka, rezultiraju gubitkom samostalnog hoda. Na gornjim udovima pojava kontraktura reducira spretnost i snagu te manipulativnost šaka odnosno ruku.

Za prevenciju nastanka kontraktura provodi se kombinacija aktivnih i pasivnih vježbi vježbi istezanja fleksora kukova, koljena i stopala, po 10-15 puta dva puta dnevno za svaki zglobov. Ukoliko su fiksirane kontrakture težeg stupnja, postavlja se indikacija za operacijsku terapiju u smislu tenotomija, nakon koje se apliciraju stabilizacijske korektivne ortoze za donje udove i provodi intenzivna rehabilitacija.

Specifični problem u okulofaringealnoj mišićnoj distrofiji predstavlja i slabost muskulature lica, najviše ekstraokularnih mišića (m.orbicularis oculi) te mastikatornih mišića. Vježbe snaženja muskulature lica provodi se aktivnim vježbama pred ogledalom. Za vježbanje žvačnih mišića razrađen je program vježbanja po Schulteu. Ciljanu kinezioterapiju predstavljaju vježbe koje se kombiniraju s EMG biofeedback terapijom

Radi slabosti muskulature lica, posebno žvačnih mišića te mišića usana i obraza, supra i infrahiodnih mišića i faringisa, otežano je gutanje odnosno javlja se disfagija i disfagija. Prema istraživanju Wiliga i sur (10), ustanovljena je učestalost disfagije u Europskoj populaciji, kod 51% bolesnika s polimiozitisom, 44% kod bolesnika s mijastenijom gravis, 38 % bolesnika s pojasnom MD, 33% osoba s miotoničnom mišićnom distrofijom, 20 % bolesnika s mišićnom distrofijom, a 6 % kod bolesnika s facioscapulohumeralnom distrofijom te kod cca 60-100% bolesnika s amiotrofičnom lateralnom sklerozom. Problemi gutanja kod okulofaringealne mišićne distrofije obično nastaju postepeno, sporo se razvijaju tijekom ili nakon nekoliko godina trajanja bolesti. Prema kliničkim opažanjima, koje zahtijevaju daljnju analizu, postoji funkcionalna povezanost između oslabljene faringealne konstrikcije i submandibulne muskulature, pa se ta spoznaja koristi u primjeni ciljane kinezioterapije. Obzirom da površinskim EMG elektrodama nije moguće detektirati unutrašnje faringealne mišiće, radi tretmana oslabljenih faringealnih mišića, EMG elektrode se postavljaju na suprahiodnu muskulaturu (prednji trbuh digastričnog mišića, stylohyoidni i mylohyoidni mišić) koji sudjeluju u podizanju laringisa i jezika te pomicanju krikoida, hyoida, laringisa, traheje i jezika. Iako ne postoji efikasan fizioterapijski tretman smetnji gutanja, biofeedback EMG metoda je korisna nadopuna programu rehabilitacije bolesnika s okulofaringealnom distrofijom s disfagijom, jer se bolesnik educira za pravilno provođenje vježbi snaženja, barem nekih, mišića koji sudjeluju u aktu gutanja. Audio i video nadzor preko EMG signala omogućava kvantificiranje, objektivizaciju mišićne aktivnosti muskulature koja sudjeluje u aktu gutanja.

Literatura :

1. Kilmer DD, Abresch RT, Aitkens SG, Carter GT, Fowler WM, Johnson ER, McDonald C M. Profiles of neuromuscular disease: facioscapulohumeral dystrophy. Am J Phys Med Rehabil 1995; 74(2): S 131-39.

2. Gregory T, Carter GT. Rehabilitation Management in Neuromuscular Disease. *J Neuro rehab* 1997; 11: 69-80
3. Edwards S. *Neurological Physiotherapy. A problem solving approach.* Second ed. Churchill Livingstone. Edinburg London New York Philadelphia St Luis Sydney Toronto; 2002.
4. Aitkens SG, McCrory MA, Kilmer DD, Bernauer EM. Moderate resistance exercise program: its effects in slowly progressive neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 1993; 74(7):711-15.
5. Kilmer DD, McCrory MA, Wright NC, Aitkens SG. The effect of a high resistance exercise program: its effects in slowly progressive neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 1994; 75(5) :560-63.
6. Fowler WM, Abresch RT, Aitkens SG, Carter GT, Johnson ER, Kilmer DD, McCrory MA. Impairment and disability profiles in neuromuscular diseases: design of the protocol. *Am J Phys Med Rehabil* 1995; 74(2) S 62-69.
7. Johnson EW, Braddom R. Overwork weakness in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Arch Phys Med Rehabil* 1971; 52: 333-36.
8. Perie S, Eymard B, Laccourourreye L et al. Dysphagia in oculopharyngeal muscular dystrophy: a series of 22 French cases. *Neuromuscul Disord* 7(Suppl 1),S96- S99
9. [http://ucneurology.uchicago.edu/ Neurological_ Disorders/ NeuroMuscular/ Muscular Dystrophies_ Myopathie/ muscular_dystrophies_myopathie.html](http://ucneurology.uchicago.edu/Neurological_Disorders/NeuroMuscular/MuscularDystrophies_Myopathie/muscular_dystrophies_myopathie.html)
10. Wilig T, Paulus J, Lacau Saint Guilly J, Baen C, Navarro J. Swallowing problems in neuromuscular disease. *Archives of Physical Medicine and rehabilitation* 1994; 94 75: 1175-81.
11. Johnson, MD. Swallowing Disorders in Neuromuscular Diseases. *Rehabilitation Research and Training Center in Neuromuscular Diseases University of California, Davis. RRTC Newsletter, February 1997.*
12. Kovač I. Rehabilitacija osoba s živčanomišićnim bolestima. U: Bobinac Georgijevski A, Domljan Z, Martinović-Vlahović R, Ivanišević G, ur. *Fizikalna medicina i rehabilitacija u Hrvatskoj.* Zagreb .Hrvatsko društvo za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju. 2000: 110-122.
13. Joynt R.L.,Findley T.W, Boda W, Daum M.C. Therapeutic Exercise. U J. De Lisa: *Rehabilitation medicine: Principles and Practice, Second Edition., J.B.Lippincott Company Philadelphia , 1993: 526-551.*
14. Trombly CA, Scott AD: *Occupational Therapy for Physical Dysfunction.* Baltimore, Williams& Williams Co, 1977.
15. Fowler W M, Goodgold J. Rehabilitation management of neuromuscular diseases U: Googold J ed. *Rehabilitation medicine.* St. Luis: CV Mosby Company , 1988: 298- 316.
16. Huckabee M L. Application of EMG Biofeedback in the Treatment of Oral Pharyngeal Dysphagia. 1997.

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15. 11. 2003.

17. Čuljak M, Habuš R. Integralni pristup u liječenju dinamičkog temporomandibularnomastikatornog segmenta s naglaskom na kinezioterapiju po Schulteu. Medix, 2001; 124-127.

PSIHOLOŠKI PROBLEMI U PACIJENATA S OKULOFARINGEALNOM MIŠIĆNOM DISTROFIJOM: PRIKAZ BOLESNICE

Gorana TOCILJ-ŠIMUNKOVIĆ

KBC Zagreb, Klinika za psihološku medicinu

Psihološku pomoć zatražila je vrlo stara gospođa. Neovisna po prirodi, izborila se da ju dovedu u ambulantu jer mora sa nekim porazgovarati. Kod kuće je rekla da ima problem kojeg mora riješiti, vjerojatno depresiju.

Tužna je, nezadovoljna i bezvoljna neko vrijeme. Točnije, sve je počelo tijekom ljeta. Ljetovala je u kući na moru gdje ljetuje i ostatak obitelji. Među njima bila je i adolescentica, kćerka njene rođakinje: mlada, impulzivna i direktna.

Naša pacijentica ima dulje vrijeme smetnje gutanja. Teško guta svu hranu, ali osobito tekućinu. Ručak traje više od sat vremena, mnogo dulje od drugih za istim stolom. U vrijeme incidenta pacijentica je u ustima imala hranu koju je teško gutala. Razgovor za stolom u vrijeme ručka vodio se o povijesti jednog dijela obitelji. Upala je u razgovor nastojeći objasniti ono što zna bolje od drugih. Zaboravila je da u ustima ima hranu koju teško guta.

Govor je bio mukao, vibrirajući, grgljajući, osjetila se vibracija hrane i gadljivi zvuk neprogutane sluzi koja vibrira u vrijeme govora. Nitko nije razumio što želi reći. Ponovila je ponovno, neke riječi treći put...

Mlada adolescentica nije izdržala; digla se sa stola prekrivši rukom usta i istrčala u nužnik povraćati....Vratila se, uzela tanjur i rekla: "Ja ovdje ne mogu više jesti...oprosti."

Naša pacijentica prvi se put suočila sa činjenicom da su njeno gutanje, govor i smetnje gadljivi za druge ljude. O tome nikada prije nije razmišljala.

Prestala je jesti, povukla se od stola i uvrijedila na mladu rođakinju. Bila je povrijeđena nekoliko dana, a nakon toga izrazito tužna i razmišljajuća.

Smetnje gutanja počele su oko pedesete godine kada je prvi put osjetila teškoću, ali i strah da će biti isti nono, njen otac koji na kraju svog života nije mogao uopće gutati, niti se kretati. Grgljao je i prevrtao hranu, a ona je imala gađenje kao i njena

mala rodakinja sada. Prestala se ljutiti na nju jer se sjetila vremena kada je i ona bježala iz zajedničke prostorije zbog nonova jela! "Pa jesam li morala baš sve loše osobine pokupiti od nona: oči, gutanje i teškoću hoda! Isti sam on, posebno s gutanjem. "

Brat je u starosti imao smetnje sa enormno velikom ingvinalnom hernijom od čega je i umro, ali nije imao smetnje gutanja. Svi ostali članovi obitelji imali su kose oči zbog spuštenih kapaka pa su ih zvali "Kinezi". Sjeća se, po pričanju, da su tu osobinu imali i u prethodnoj generaciji. Ne sjeća se razgovora o smetnjama gutanja do vremena svog oca, ali su spušteni kapci bili prepoznatljiva osobina cijele obitelji.

Izrazito teško guta zadnjih deset godina. Ranije su to bile povremene smetnje, sada stalne. Uspoređuje sebe s puranom koji se šopa jer u vrijeme jela pomaže sebi rukom guranjem hrane izvana pritiskom na vrat. Tekuća hrana čak je i teža. Ne može govoriti zbog ostataka hrane koja prijeti gušenjem. Ima osjećaj da tekućina koju uzme zastane iznad hrane koju ne može progutati. Nema osjećaj da će se ugušiti, ali ponekada potpuno zaboravi da mora paziti na jelo.....

Dosadilo joj je i misli da čovjek ne treba izgubiti dostojanstvo do kraja. Ne moraju drugi zbog gađenja bježati od stola. Ostat će u svojoj kući i pokušati jesti kada nikoga nema pored nje. Došlo je vrijeme da se zatvori i ne smeta drugima. Od tada je tužna, kao da se pripremila da je došlo vrijeme "odlaska".

Proces napreduje, sve joj je teže i hodati i jesti. Slabost u nogama također napreduje i vjerojatno će kao i njen otac potpuno prestati hodati. U mladosti je bila sportašica pa je cijeli život nastavila sa jutarnjim gimnastičkim vježbama. Sada ne može podignuti noge u krevetu niti voziti bicikl kao prije.

Osjećaj davljenja kod jela, umor i težina u nogama koji joj ograničavaju kretanje bili su simptomi zadnjih deset godina. U zadnje vrijeme ispadaju joj stvari iz ruke, nema snage i spretnosti kao ranije, sve se pogoršalo.

Pacijentica se zapravo tek sada suočila sa svojim smetnjama, i prvi put shvatila da boluje od iste bolesti kao njen otac. Ona je to logično mogla znati i ranije, o njegovoj bolesti je i pričala, ali je **negacija kao dominantni mehanizam obrane** bila uspješna obrana od suočavanja sa bespomoćnosti koju je imala priliku vidjeti na djelu u svojoj obitelji. Bilo je bolje ne vidjeti svoje simptome nego očekivati bespomoćnost kod sebe. Rušenje mehanizama obrane našu je pacijenticu dovelo je do spoznaje što je čeka. U njenom primjeru depresivni odgovor bio je logičan slijed stvari.

Psihološka pomoć u pacijenata sa okulofaringealnom mišićnom distrofijom sastoji se u psihološkom radu na **prihvatanju svoje bolesti** kao i kod svih kroničnih bolesti koje stvaraju ograničenja.

Kada osoba prihvati bolest kao takvu mogući su i svi palijativni zahvati koji pomažu u osiguranju bolje kvalitete življenja. Na tom putu pacijent najprije mora postati svjestan svoje bolesti, a što neprestano odbija. Naša pacijentica npr. ima izrazite

smetnje hoda, ali nikada nije prihvatila štap, a moderna mala invalidska kolica za pripomoć poklonila je drugom.

Simptomatska terapija, u ovom slučaju liječenje depresije, uklanja prediktore pasivnog odnosa prema svojim smetnjama.

Interesantno je, da je u tijeku obrade i pored uvida u svoju bolest bolesnica dugo odbijala genetsku pretragu. Pristala je onog trenutka kada joj je objašnjeno da je ova nasljedna bolest možda prešla na njenog sina, a da je rano otkrivanje korisno za njega.

Ljubav prema sinu bila je jača od njenih obrana.

Osoba skoro cijeli svoj život može negirati bolest, upravo zato, što ju je vidjela i prije nego se pojavila u nje, na svojim precima. Psihološki problem negacije bolesti, u našem primjeru dominantan je od samog početka.

Pacijentica je sada, nakon uvida, nešto tužnija, ali iskrenija i spremnija na realnu pomoć okoline.

PREVENCIJA BOLESTI

GENETSKO SAVJETOVANJE, GENETSKO TESTIRANJE, PRENATALNA DIJAGNOSTIKA

Nina CANKI-KLAIN

**Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Neurološka klinika i Hrvatski
institut za istraživanje mozga,**

Genetsko savjetovanje

Genetsko savjetovanje predstavlja prototip psihološke medicine u kliničkoj genetici. Već sama činjenica da je genetsko savjetovanje t.j. genetska informacija integralni dio interdisciplinarne kliničke djelatnosti koja se bavi problemima nasljednih bolesti, dok slično "savjetovanje" unutar drugih kliničkih specijalnosti nije poznato, ukazuje na postojanje značajnih razlika između genetskih i drugih "ne genetskih" bolesti.

Što čovjeka frustrira pri saznanju da se radi o genetskoj bolesti? Premda reakcija ovisi o težini oštećenja i raspoloživim mogućnostima liječenja, spoznaja da osoba ima neizlječivu bolest koju može prenijeti na potomstvo ili koju je naslijedila, daje posebnu težinu.

Genetsko predviđanje je prisutno u svakidašnjem životu i odražava se u izrekama: "Moram iskoristiti svaku minutu budući da svi moji bližnji rano umiru od srčane bolesti" ili pak "Živjet ću do stote jer svi u mojoj obitelji dugo žive."

Misao vodilja u svim tim predviđanjima kao i u svim proročanstvima tiče se osnovnog pitanja života i smrti. Kada i kako ću umrijeti ?

Genetsko predviđanje je važno za pojedinca, obitelj i društvo. Ozbiljnost posljedica genetskog predviđanja (genetske dijagnostike) i izbori koje ono potiče ovise o načinu nasljeđivanja, dobi pri pojavi simptoma, mogućnosti liječenja, težini i subjektivnoj percepciji bolesti te simptomima osobito ako se radi o gubitku mentalnih sposobnosti.

Osnovni problem pri postavljanju dijagnoze genetske bolesti predstavlja predviđanje teškog i smrtonosnog oštećenja bez bilo kakve mogućnosti sprječavanja ili liječenja. Premda rano otkrivanje samo vrlo malog broja bolesti uz određenu terapiju pruža više ili manje zadovoljavajuće poboljšanje (npr. fenilketonurija, hiperholesterolemija, cistična fibroza), značajno je veći broj stanja koja je moguće

otkriti, ali za koja ne postoji nikakva terapija. To se naročito odnosi na prenatalno otkrivanje bolesnih plodova s posljedičnim prekidom trudnoće, što sa sobom nosi teške etičke i psihičke probleme. Posebnu dilemu predstavlja presimptomatska dijagnostika t.j. predviđanje teške bolesti u još asimptomatskih bolesnika.

Genetsko savjetovanje i OPMD

Osnovni preduvjet za genetsko savjetovanje je poznavanje točne etiološke dijagnoze.

U slučaju OPMD većinom se radi o autosomno dominantnom nasljeđivanju iako je moguće vrlo rijetko autosomno recesivno nasljeđivanje u slučaju dvostruke prisutnosti alela koji sadrže 7 GCG tripleta. Prema tome uglavnom postoji 50% rizik prijenosa patološkog gena iz generacije u generaciju bez obzira na spol. Stupanj de novo nastalih mutacija za OPMD još nije poznat.

Testiranje potencijalno rizičnih asimptomatskih odraslih osoba je moguće. Međutim potrebno je voditi računa o psihološkim posljedicama pozitivne dijagnoze na još zdravu osobu.

Usprkos razvoja molekularne dijagnoze, težinu i vrijeme pojavljivanja kliničkih simptoma nije moguće predvidjeti. Iskustvo kanadskih kolega pokazuje, da u obiteljima s različitim kliničkim tokom, bolesnici s teškim oblikom bolesti nemaju veću vjerojatnost da će prenijeti teži od lakšeg oblika na svoje potomstvo.

U rijetkom slučaju bolesti, koja se nasljeđuje na autosomno recesivan način, oba roditelja su nužno zdravi heterozigoti t.j. nose normalni alel s 6 GCG tripleta i recesivni alel sa 7 GCG tripleta. Rizik za pojavu bolesti u slijedećoj generaciji iznosi 25%, dok 50% zdravih potomaka nosi jedan recesivan gen.

Prediktivno testiranje se ne preporučava za asimptomatsku djecu.

Pristup dijagnozi genetske bolesti

Etiološki pristup dijagnozi zahtijeva timski rad uz poznavanje osnova klasične i ne klasične genetike te općih i specijalnih metoda kliničke genetike, kako bi se posumnjalo na genetsku bolest. Uz to je često potrebno upotrijebiti najsuvremenije dijagnostičke metode (poput UZ, CT, magnetska rezonancije, holter, FISH, biokemijske i molekularne analize). Odabir tih sofisticiranih metoda nalaže timski rad budući da te često vrlo skupe i zahtjevne laboratorijske metode bez usmjerene kliničke dijagnoze rijetko daju korisne rezultate.

Genetsko savjetovanje i genetsko testiranje

Kako bi se osiguralo, da **genetsko testiranje** bude što e

fikasnije i izvedeno na što primjereniji mogući način po najvišim standardima potrebno ga je smatrati sveobuhvatnim procesom, a ne jednostavnim laboratorijskim postupkom. Taj se proces sastoji iz tri jednako važna dijela:

- I. Priprema, obavještenost i privola**
- II. Laboratorijska analiza**
- III. Objašnjenje rezultata i pomoć (medicinska, psihološka, socijalna)**

Pojedine od navedenih faza mogu različito dugo trajati, što ovisi o težini bolesti i metodama koje nam omogućuju potvrdu ili isključenje.

Što je genetski test i zašto se genetsko testiranje razlikuje od ostalih medicinskih testova?

Genetski test je analiza nekog specifičnog gena, njegovog produkta ili funkcije, ili neka druga analiza na razini DNK ili kromosoma, koja ima za cilj da otkrije ili isključi neko oštećenje koje je vjerojatno povezano s određenim genetskim poremećajem. Genetski test se razlikuje od ostalih vrsta medicinskih testova budući da ne izaziva iste emocionalne, etičke i socijalne probleme poput drugih medicinskih testova zbog niže navedenih razloga:

1. Zloporaba genetike u prošlosti

Kako bi se prisjetili o čemu je riječ, spominjem samo neke događaje: eugenički pokret u SAD-u; Zakon o eugeničkoj sterilizaciji nepodobnih osoba- Indijana 1907; Zakon o ograničenju useljavanja, 1924 (kako navodno biološko manje vrijedni imigranti ne bi populacijski nadvladali rođene Amerikance); eugenički pokret u Njemačkoj s kraja tridesetih god. prošlog stoljeća usmjeren u početku na teško zaostalu djecu u zavodima za duševno zaostale, proširio se najprije na stariju djecu s razvojnim anomalijama, zatim na zdravu židovsku djecu te na odrasle osobe čije su se bolesti smatrale neizlječivima ili čiji životi "nisu bili vrijedni življenja"; opasnost od sadašnje i buduće genetske diskriminacije (zapošljavanje, zdravstveno, socijalno i životno osiguranje itd).

2. Mogućnost otkrivanja genetskog uzroka bolesti iz bilo kojeg tkiva i u bilo koje doba od trenutka začeća bez obzira na prisutnost ili odsutnost kliničkih simptoma.

Većina etičkih i pravnih problema, koji potječu iz genetskog testiranja tiče se širenja i upotrebe dobivene informacije. Da li je ispitanik dužan da obavijesti bliske rođake koji imaju također rizik? Što je s liječnikom? Smije li, ili mora obavijestiti bolesnikove srodnike ili ispitanika u slučaju znanstvenog istraživanja o mogućem genetskom riziku. Ako uopće postoji, kakvo je pravo osiguravatelja, poslodavaca,

škola i drugih važnih društvenih ustanova, da dobiju genetsku informaciju do koje se došlo ispitivanjem. Genetskim istraživanjem je moguće razotkriti uzroke nekih teških duševnih poremećaja, a poduzeti su mnogi projekti kako bi se ustanovili geni odgovorni za shizofreniju, bipolarnu poremećaje ili Alzheimerovu bolest. Te studije su potaknule određeni broj pitanja poput: 1) zaštite podataka koji se tiču ispitanika; 2) legalna i etička prihvatljivost podmetnutog mišljenja u ime bolesnika koji možda nije bio u stanju da razumije informaciju prije svoga pristanka; 3) procjena vrste i stupnja rizika za osobu koja sudjeluje u takvim ispitivanjima.

Neočekivano otkriće lažnog paterniteta ili neznanje osobe da je adoptirana nije čest, ali niti rijedak događaj pri izvođenju genetskog testiranja. Da li treba obavijestiti ispitanika prije DNK analize da bi ona možda mogla pokazati da njegovi roditelji u stvari nisu bioloških roditelji?

3. Društvene implikacije

Među raznim društvenim implikacijama genetskog testiranja istakla bih neke situacije:

- strah od stigmatizacije i diskriminacije
- pritisak za testiranjem kako bi se dobilo životno ili zdravstveno osiguranje
- rizik od štetnih posljedica uslijed nerazumijevanja okoline o značenju rezultata pri otkrivanju nositelja štetnog recesivnog gena ili
- zbog neizvjesnosti kliničkog značenja nekih nalaza poput premutacija u miotoničnoj distrofiji ili mentalnoj zaostalosti uzrokovanoj fragilnim X.

Privola nakon informacije o testu

Prethodno navedeni razlozi objašnjavaju zašto je prije svakog genetskog testiranja potrebno informirati potencijalnog ispitanika o koristi i štetnim posljedicama testiranja. Očito je, da važnost shvaćanja informacije ovisi o vrsti bolesti i stanju ispitanika (bolesnik, potencijalni bolesnik jer u obitelji postoji bolest, "znatiželjna" osoba, itd). Osim toga potrebno je voditi računa, da upotrebom iste tehnologije tj. isti test može biti "dijagnostički", "presimptomatski" ili "prediktivan"(predviđajući). Ako se ne razumiju osnovne razlike među tim testovima može doći do ozbiljnih posljedica.

- **Dijagnostički genetski test** je test koji se izvodi na bolesniku koji na osnovi kliničke slike boluje ili bi mogao bolovati od određene genetske bolesti koja se ispituje. Naglasak je na znacima bolesti koji su prisutni **sada u momentu ispitivanja**, a ne da li će se pojaviti jednom u budućnosti.
- **Prediktivan genetski test** se odnosi na osobe koje su obično zdrave, ili na bolesnike koji imaju simptome koji se ne odnose na bolest koja se testira. Međutim naziv **prediktivan genetski test** je bolje upotrebljavati za slučajeve u

kojima je rizik za pojavu bolesti znatno povećan ili smanjen u odnosu na opću populaciju, ali bez bilo kakvog stupnja sigurnosti da će doći do bolesti.

- **Presimptomatski genetski test** bi se trebao upotrebljavati za slučajeve u kojima će abnormalni rezultat testa imati za posljedicu gotovo neizbježan nastanak bolesti u nekom kasnijem periodu života.

Prediktivna medicina

Osnova prediktivnog testiranja leži u činjenici da bilo kakva promjena otkrivena u DNK ostaje u pravilu nepromijenjena od začeća do smrti bez obzira na prisutnost ili odsutnost kliničkih simptoma, omogućuje da se prije pojave simptoma predvidi 10-30 godina ili čak više, da li će neka zdrava osoba razviti specifičnu bolest. Dob pri nastanku kao i težina bolesti mogu pokazivati korelaciju s veličinom i prirodom genetske mutacije. Ipak u većini slučajeva ne postoji pouzdan prognostički pokazatelj za neku osobu.

Prediktivna medicina se osniva na otkrivanju gena čije bi poznavanje trebalo pomoći da se spriječi pojava bolesti. Etičke dileme su ogromne, naročito kada se radi o genima teških smrtonosnih bolesti koje se javljaju tek u odraslo životno doba i za koje ne postoji nikakvo liječenje. Prototip takvog testiranja predstavlja Huntingtonova bolest čija je učestalost u općoj populaciji oko 1:10 000.

Kada govorimo o prediktivnoj medicini posebno je važno naglasiti da primjenom iste tehnologije, ispitivanje može biti "dijagnostičko" (ukoliko se primjeni na rizičnu osobu, koja već ima kliničke simptome), "presimptomatsko" (primijenjeno na osobu bez simptoma ali s povećanim rizikom radi pozitivne obiteljske anamneze za ispitivanu bolest ili "prediktivno" (ako se testira zdrava nerizična osoba). Nerazumijevanje osnovnih razlika između dijagnostičkog, presimptomatskog i prediktivnog testa može imati nerijetko teške i dalekosežne posljedice.

Problemi oko obavještene privole pri presimptomatskom testiranju

1. Upućivanje na testiranje bez privole
2. Testiranje djece
3. Upućivanje na testiranje pod pritiskom "sa strane"

Etički sukob između prava jedne osobe, da zna i prava druge osobe na privatnost.

Genetsko testiranje djece i maloljetnika

- Prediktivno testiranje kako bi se vidjelo da li će dijete oboljeti od bolesti od koje boluje neki drugi član obitelji

- Testiranje zdravih nosioca određene genetske (genske ili kromosomske) preinake kako bi se ustanovilo da li postoji rizik za pojavu bolesti u potomaka djeteta kada će ono odrasti
- Screening test koji se izvodi bez obzira na obiteljsku povijest bolesti kako bi se otkrila djeca s povećanim rizikom za određenu bolest

Što je pravo, a što dužnost roditelja?

Prenatalna dijagnostika OPMD

Prenatalno testiranje OPMD je teoretski moguće. Međutim, imajući na umu kasni početak bolesti i uglavnom polagan i blag tijek bolesti, zahtjevi za takvom pretragom, koja se izvodi na uzorku korionskih resica ili stanicama plodove vode, nisu uobičajeni.

Etička razmatranja

U slučaju bilo koje potencijalno fatalne genetske neurološke bolesti potrebno je pri dijagnostici i genetskom savjetovanju obratiti posebnu pažnju na etičke faktore. Posebno bih navela slijedeće etičke dileme:

- Koja životna dob je najpodobnija za genetsko testiranje. Premda mnogi roditelji žele znati dg. svoje djece nije jasno da li je etički valjano testirati djecu samo kako bi se potvrdila genska mutacija.
- Testiranje presimptomatskih, potencijalno bolesnih odraslih osoba je također delikatno pitanje. Iskustvo većine profesionalaca pokazuje da je trenutačna odluka bolesnika želja za testiranjem. Međutim, ukoliko se pusti osobu neko vrijeme prije ispitivanja, dosta velik broj asimptomatskih članova obitelji odustaje od testiranja.
- Genetsko testiranje nekog člana obitelji omogućuje dijagnozu u drugih srodnika, koji možda ne žele znati tu informaciju. Prema tome, sporna pitanja koja se tiču povjerljivosti podataka o bolesniku su znatno opsežnija nego što je to u slučaju neuroloških bolesti koje nisu genetski uzrokovane.

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA OPMD (VJEŽBE)

Astrid MILIĆ

Hrvatski institut za istraživanje mozga, Šalata 12, Zagreb

Zahvaljujući poznavanju odgovornog gena (PABPN1) i vrste genskih promjena koje dovode do OPMD, molekularna dijagnostika okulofaringealne mišićne distrofije je relativno brza i jednostavna.

Metode koje se koriste u OPMD dijagnostici su:

- Izolacija DNA iz pune krvi
- Lančana reakcija polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*, PCR)
- Poliakrilamidna gel elektroforeza (PAGE)

IZOLACIJA DNA IZ PUNE KRV

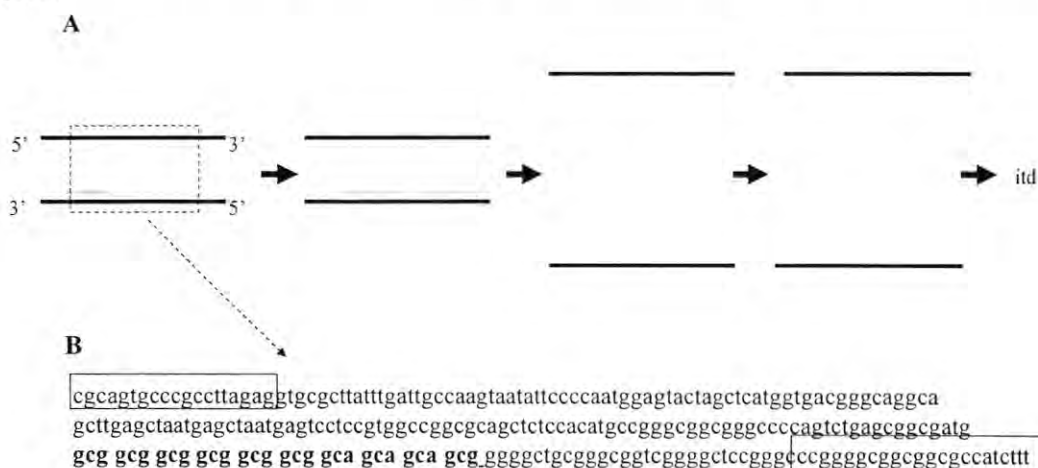
Izvor DNA u rutinskoj laboratorijskoj praksi najčešće je puna krv. Ispitaniku se uzme 3-7 ml krvi sa antikoagulansom (najčešće EDTA) što na kraju rezultira dobivanjem količine DNA dovoljne za višestruke analize odgovarajućih gena. U punoj krvi glavni izvor DNA predstavljaju bijele krvne stanice-leukociti pa se krv prvo miješa sa hipotoničnom otopinom koja će razgraditi crvene krvne stanice-eritrocite, a koji će se iz otopine ukloniti uzastopnim centrifugiranjem. Uklanjanjem eritrocita ostaje talog leukocita koji se podvrgava djelovanju proteinaze K koja će razgraditi prisutne proteine. Razgrađeni proteini mogu se ukloniti na više načina: isoljavanjem, tj. korištenjem NaCl ili kombinacijom fenola i kloroforma. Uklanjanjem proteina u otopini preostaje DNA koju precipitiramo alkoholom (etanolom ili propanolom). Nakon precipitacije DNA se otapa u TE puferu i potom neograničeno dugo pohranjuje na +4°C.

LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM (engl. POLYMERASE CHAIN REACTION, PCR)

Lančana reakcija polimerazom je brza i specifična metoda *in vitro* sinteze nukleinskih kiselina kojom se specifični odsječak DNA može umnožiti u velikom broju kopija.

Reakcijska smjesa (najčešće 25µl) obavezno sadržava genomsku DNA, par oligonukleotidnih početnica (engl. *primer*), smjesu sva četiri deoksiribonukleotida, magnezij-klorid, PCR pufer i termostabilnu Taq DNA polimerazu. U slučaju OPMD dijagnostike cilj je umnožiti prvu kodirajuću jedinicu (egzon 1) u kojoj su smješteni GCG tripleti čiji broj ponavljanja želimo odrediti. Kako je područje od interesa vrlo bogato GC parovima potrebno je koristiti posebnu Taq DNA polimerazu koja će moći umnožiti željeni dio egzona 1. Vrlo je važno istovremeno sa DNA bolesnika, umnožiti i kontrolne DNA, tj. DNA za koje nam je poznat broj GCG ponavljanja, određen DNA sekvencioniranjem.

Reakcija umnažanja izvodi se u stroju za lančanu reakciju polimerazom, a uvjeti (temperatura, trajanje dijelova ciklusa, broj reakcijskih ciklusa) pod kojima se reakcija odvija ovise o karakteristikama regije koju želimo umnožiti. Općenito, jedan reakcijski ciklus se dijeli na tri dijela: denaturaciju (razdvajanje DNA lanaca), lijepljenje početnica (engl. *annealing*) i sintezu DNA. Zbog visoke zastupljenosti GC parova, umnažanje egzona 1 PABPN1 gena zahtijevati će nešto višu temperaturu lijepljenja početnica od uobičajene. Na slici 1A prikazan je princip lančane reakcije polimerazom, dok je uokvireni dio povećan na slici 1B. On prikazuje dio egzona 1 kojeg umnožavamo prilikom OPMD dijagnostike. Ljubičasta slova označavaju DNA početnice, dok su crvenim označena GCG ponavljanja čiji ukupan broj želimo odrediti. Na slici je prikazana normalna sekvenca koja sadrži 6 GCG ponavljanja, koja slijedi 3 GCA ponavljanja i 1 GCG triplet. Ukupno taj dio gena sadrži 242 bp, što je i veličina normalnog PCR produkta (6 GCG ponavljanja). Bilo kakvo povećanje broja tripleta znači i povećanje veličine PCR produkta za 3 bp, što se može lako vidjeti nakon razdvajanja DNA molekula na poliakrilamidnom gelu.



Slika 1A. Princip lančane reakcije polimerazom. Crnom bojom su označeni lanci genomske DNA, sive linije predstavljaju DNA početnice. **B.** Uvećani dio PABPN1 gena koji se umnožava u lančanoj reakciji polimerazom. Uokvireni dio predstavlja DNA početnice, dok su masno označena područja GCG i GCA tripleta čiji broj želimo odrediti.

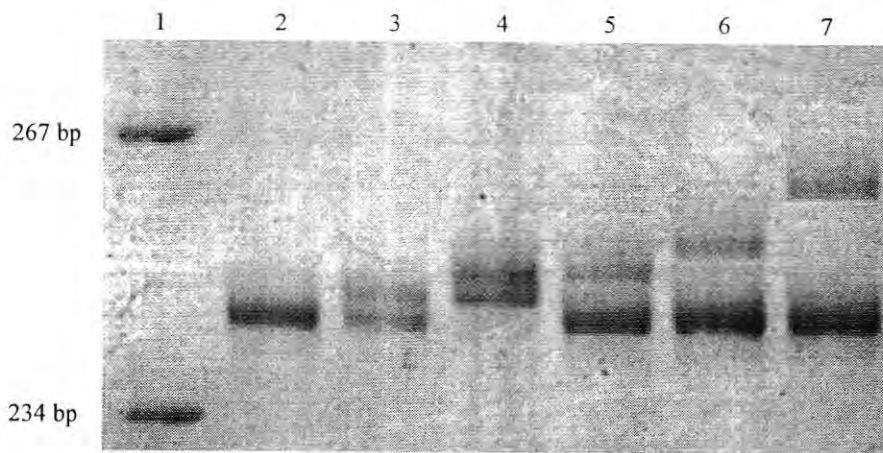
ELEKTROFOREZA DNA

Elektroforeza je metoda kojom se nabijene molekule (DNA, RNA ili proteini) mogu razdvojiti pod utjecajem električnog polja. Brzina putovanja molekule ovisiti će o njezinom ukupnom naboju i masi, kao i o jakosti električnog polja. Razdvajanje se najčešće odvija na gelu koji djelujući kao "sito" pospješuje razdvajanje molekula.

Za razdvajanja fragmenata male razlike u veličini, što je slučaj u dijagnostici OPMD (razlike od 3 bp=veličina jednog tripleta) koristimo *poliakrilamidnu gel elektroforezu*. Poliakrilamidni gel nastaje umreženjem akrilamida i N,N'-metilenbisakrilamida, a uz pomoć amonij-persulfata i TEMED-a (N,N,N',N'-tetrametilendiamin). Količina akrilamida i bisakrilamida u otopini za izradu gela određuje postotnost gela, tj. veličinu pora. Poliakrilamidna gel elektroforeza je vertikalna, tj. otopina gela se izlijeva između vertikalno postavljenih stakala. Na vrhu i dnu stakala nalaze se spremnici sa puferom što omogućava protok struje i razdvajanje molekula DNA. Kako je molekula DNA zbog fosfatnih skupina negativno nabijena, tijekom elektroforeze će putovati od katode(-) prema anodi(+). Uvjeti elektroforeze (jakost struje, duljina putovanja) ovise o veličini molekula koje razdvajamo, kao i o postotnosti gela koju koristimo.

Detekcija DNA fragmenata može se postići ili "kupanjem" gela u etidij-bromidu po završetku elektroforeze ili bojanjem gela srebrom što je jednostavniji, osjetljiviji i manje opasan način detekcije DNA fragmenata na poliakrilamidnom gelu. Primjer jednog poliakrilamidnog gela obojanog srebrom prikazan je na slici 2.

Ukoliko se za razdvajanje DNA molekula umjesto "klasične" aparature koristi DNA sekvenator (kapilarni ili na principu poliakrilamidnog gela), rezultati se očitavaju pomoću kompjutera.



Slika 2. PCR produkti egzona 1 PABPN1 gena različite veličine, razdvojeni na poliakrilamidnog gelu i obojani srebrom. Stupac 1: biljeg molekularne mase (Molecular Weight Marker V, Roche); Stupac 2: PCR produkt normalne veličine od 242 bp (genotip: 6/6); Stupac 3: PCR produkt sadrži DNA vrpce normalne veličine (242 bp) i “povećanu” vrpce od 245 bp (genotip: 6/7); Stupac 4: PCR produkt sadrži vrpce od 245 i 248 bp, što odgovara genotipu 7/8; Stupac 5: PCR produkt sadrži vrpce od normalnih 242 bp i “povećanih” 248 bp, pa je genotip 6/8; Stupac 6: PCR produkt sadrži DNA vrpce od 242 i 251 bp, što odgovara genotipu 6/9; Stupac 7: PCR produkt dviju DNA vrpce od 242 i 257 bp, tj. genotipa 6/11.

OCULAR MOTRICITY DISORDERS IN HEREDITARY MUSCLE PATHOLOGY

Michel FARDEAU

Institute of Myology, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Pariz, Francuska

SEMINAR IZ MOLEKULARNE GENETIKE

Astrid MILIĆ

Hrvatski Institut za istraživanje mozga, Zagreb

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA OPMD

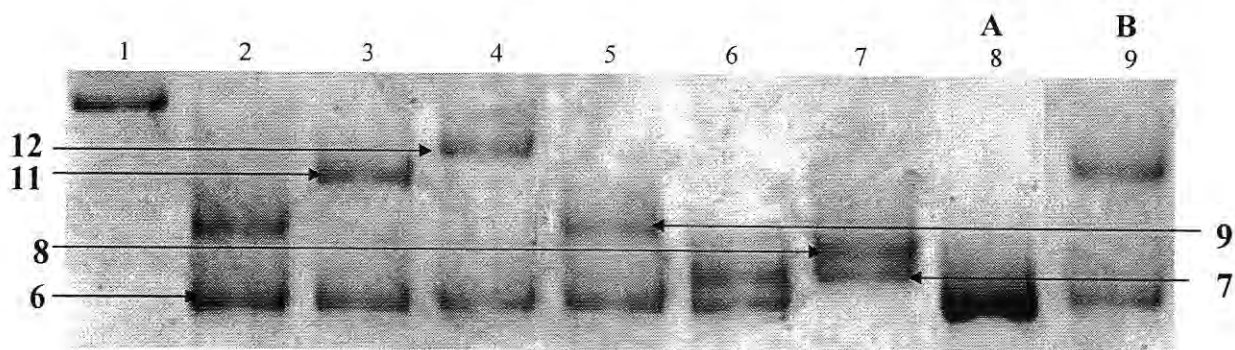
Zadatak 1.

Na slikama 1. i 2. prikazani su rezultati OPMD dijagnostike za 4 pacijenta (A, B, C i D). Korištenjem podataka iz predavanja «*Molekularna genetika i dijagnostika OPMD*», teorijskih principa metoda u tekstu *Vježbe-molekularna dijagnostika OPMD*, te tablice 1. potrebno je:

- (a) odrediti genotip za svakog pacijenta
- (b) odrediti veličine DNA pruga detektiranih za svakog pacijenta A, B, C i D
- (c) što na osnovu genotipa možete reći o svakom pacijentu, tj. koji je pacijent bolestan odnosno zdrav?

Tablica 1. Veličine PCR produkta i odgovarajući broj GCG ponavljanja

Broj GCG ponavljanja	6	7	8	9	10	11	12	13
Veličina PCR produkta (bp)	242	245	248	251	253	257	260	263



Slika 1. Rezultati OPMD dijagnostike

Stupac 1: biljeg molekularne mase

Stupac 2: kontrolni uzorak 6/9

Stupac 3: kontrolni uzorak 6/11

Stupac 4: kontrolni uzorak 6/12

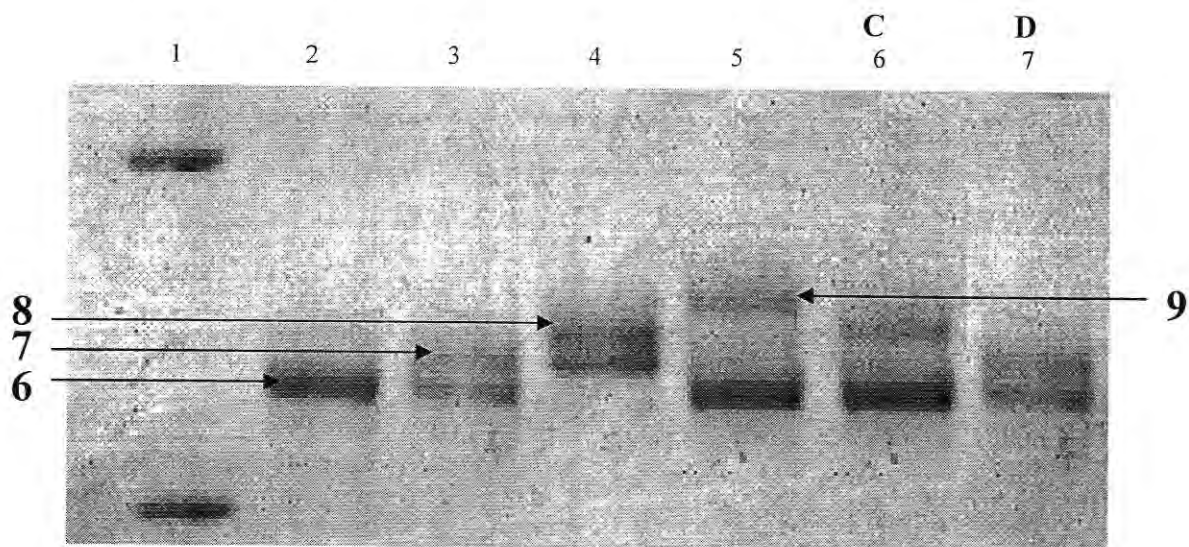
Stupac 5: kontrolni uzorak 6/9

Stupac 6: kontrolni uzorak 6/7

Stupac 7: kontrolni uzorak 7/8

Stupac 8: **pacijent A**

Stupac 9: **pacijent B**



Slika 2. Rezultati OPMD dijagnostike

Stupac 1: biljeg mol.mase

Stupac 2: kontrolni uzorak 6/6

Stupac 3: kontrolni uzorak 6/7

Stupac 4: kontrolni uzorak 7/8

Stupac 5: kontrolni uzorak 6/9

Stupac 6: **pacijent C**

Stupac 7: **pacijent D**

ANALIZA POVEZANOSTI

Analiza genetske povezanosti (engl. Genetic linkage analysis) je indirektna metoda genetske analize koja se u kliničkoj dijagnostici koristi kada je direktna genska analiza dugotrajna i zahtjevna (najčešće zbog veličine gena), a proteinska analiza nije moguća. Glavni preduvjet za korištenje genetske analize povezanosti u dijagnostici je istovremena analiza više članova obitelji, u kojoj postoji bolesnik sa sigurnom kliničkom dijagnozom i po mogućnosti molekularnom ili proteinskom dijagnozom. Osim u dijagnostičke svrhe, analiza povezanosti može poslužiti u istraživanju starosti i porijekla određene genske mutacije. Točnije, usporedba haplotipa osoba koje nose istu mutaciju na nekom kromosomu može npr. u slučaju istih haplotipa ukazati na isto porijeklo i postojanje tzv. efekta osnivača (engl. *founder effect*). Isto tako analiza povezanosti koristi se i prilikom mapiranja gena.

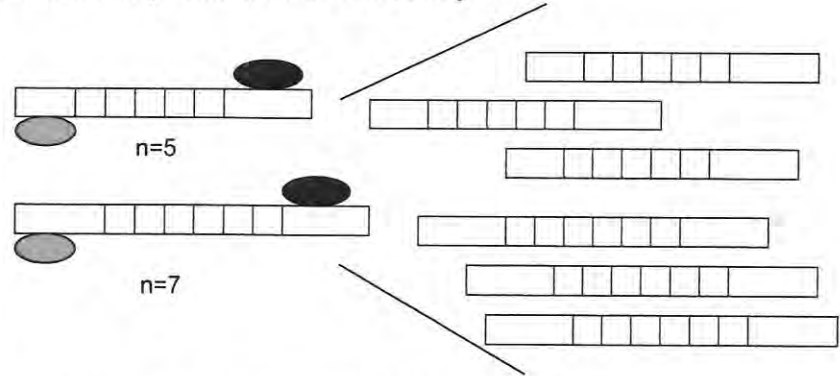
Analiza povezanosti se temelji na praćenju nasljeđivanja mikrosatelitnih markera. Mikrosateliti su jedan od tri tipa uzastopno ponavljajućih dijelova DNA čija veličina osnovne jedinice, te broj ponavljanja može biti vrlo varijabilan. Ponavljajuće jedinice su u slučaju mikrosatelita kratki DNA fragmenti veličine 2-5 nukleotida. Broj ponavljanja mikrosatelita varira u populaciji, a analizom članova jedne obitelji može se pratiti njihovo nasljeđivanje. Mikrosatelitni markeri moraju biti smješteni što bliže genu od interesa, da bi se izbjegao crossing-over i da bi se njihovom analizom i praćenjem njihovog nasljeđivanja moglo pratiti nasljeđivanje bolesti u obitelji.

Za izvođenje analize povezanosti potrebno je poznavati mikrosatelitne markere koje ćemo koristiti u analizi. Poznavanje markera podrazumjeva poznavanje njihovog smještaja na određenom kromosomu, posebice u odnosu na smještaj gena od interesa. Osim njihovog smještaja bitno je znati da li su jedinice ponavljanja dva-, tri- ili četir nukleotidi kako bi se tome prilagodila metoda razdvajanja DNA fragmenata (DNA elektroforeza). Vrlo važan podatak predstavlja i poznavanje broja jedinica ponavljanja, odnosno poznavanje konačne veličine DNA fragmenta za svaki analizirani marker. Svi navedeni podaci o mikrosatelitnim markerima dobiveni su analizama velikog broja humanih DNA uzoraka i dostupni su u literaturi i na Internetu. Uobičajeno se prilikom analize povezanosti koristi 4-5 mikrosatelitnih markera koji se nalaze što bliže mjestu gena od interesa. U slučaju okulofaringealne mišićne distrofije, prilikom analize povezanosti koriste se slijedeći mikrosatelitni markeri: D14S283, D14S990, MYH7.24, MYH7.1 i D14S1041. OPMD gen nalazi se u području od 2 cM koje omeđuju markeri D14S283 i D14S990. Primjer analize povezanosti u dijagnostici OPMD prikazan je u Zadatku 2.

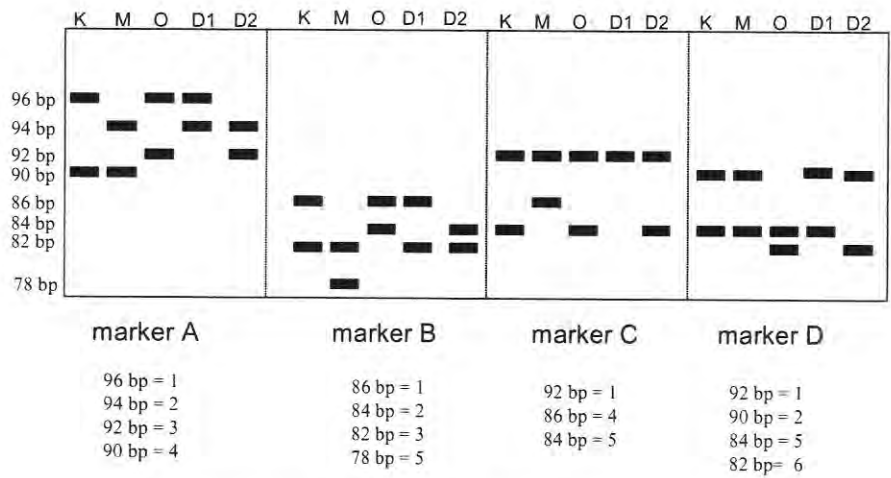
Metode molekularne genetike koje koristimo prilikom analize povezanosti su: **lančana reakcija polimerazom** (engl. *polymerase chain reaction, PCR*) i **DNA poliakrilamidna gel elektroforeza** (engl. *DNA polyacrylamide gel electrophoresis, DNA PAGE*). Lančanom reakcijom polimerazom svaki se marker umnoži uz pomoć pravilno izabranih oligonukleotidnih početnica. Dobiveni DNA fragmenti se potom razdvoje na poliakrilamidnom gelu. Karakteristike poliakrilamidnog gela i

uvjeti elektroforeze moraju biti takvi da omoguće razdvajanje 2 DNA fragmenata u svakom ispitivanom uzorku (jedan alel nasljeđen od majke, drugi od oca) koji se eventualno razlikuju u svega 2, 3 ili 4 bazna para. Na istom gelu moguće je analizirati i više od jednog markera, ovisno o njihovim veličinama. Nakon završene elektroforeze, poliakrilamidni gel se oboji srebrom pri čemu postanu vidljivi DNA fragmenti ili se rezultati očitaju kompjuterski ako je korišten DNA sekvenator. Veličine DNA vrpce «očitaju» se za svaki analizirani uzorak, odnosno za svaki analizirani mikrosatelitni marker. «Očitanim» veličinama mikrosatelitnih markera dogovorno se pridruži odgovarajući jednoznačenasti broj poznat iz literature. Takav način obilježavanja veličina mikrosatelitnih markera koristi se radi lakšeg pisanja haplotipa i mogućnosti usporedbe rezultata između različitih laboratorija. Tek kada su «očitani» rezultati DNA elektroforeze za svaki pojedini marker, može se pristupiti konstruiranju haplotipa. To podrazumjeva da se rezultati za svaki marker poredaju jedan ispod drugog prema redoslijedu markera na kromosomu i pritom dobiveni niz brojeva predstavlja haplotip ispitivanog uzorka za korištene mikrosatelitne markere. Opisani način izvođenja analize povezanosti shematski je prikazan na slici 3.

1. Umnažanje markera PCR reakcijom

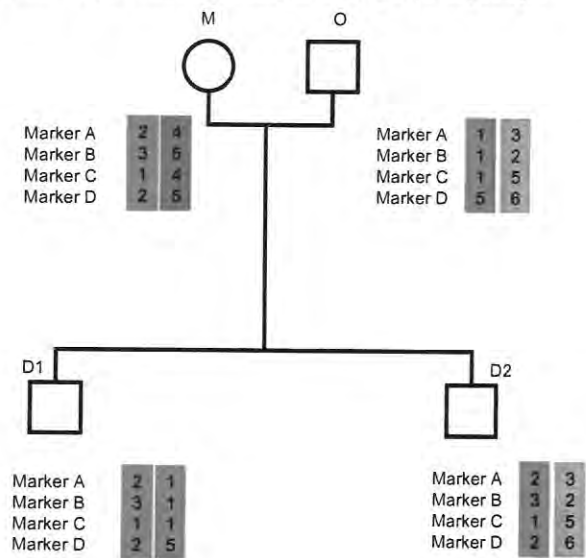


2. Razdvajanje PCR produkata DNA elektroforezom i bojanje poliakrilamidnog gela srebrom



K=kontrolna DNA; M=majka; O=otac; D1=dijete 1; D2=dijete 2

3. “Očitavanje” rezultata sa gela i slaganje haplotipa



Slika 3

Zadatak 2.:

***ANALIZA POVEZANOSTI U DIJAGNOSTICI
OKULOFARINGEALNE MIŠIĆNE DISTROFIJE***

OPMD je autosomno dominantno oboljenje uzrokovano mutacijama u PABP2 (PABPN1) genu.

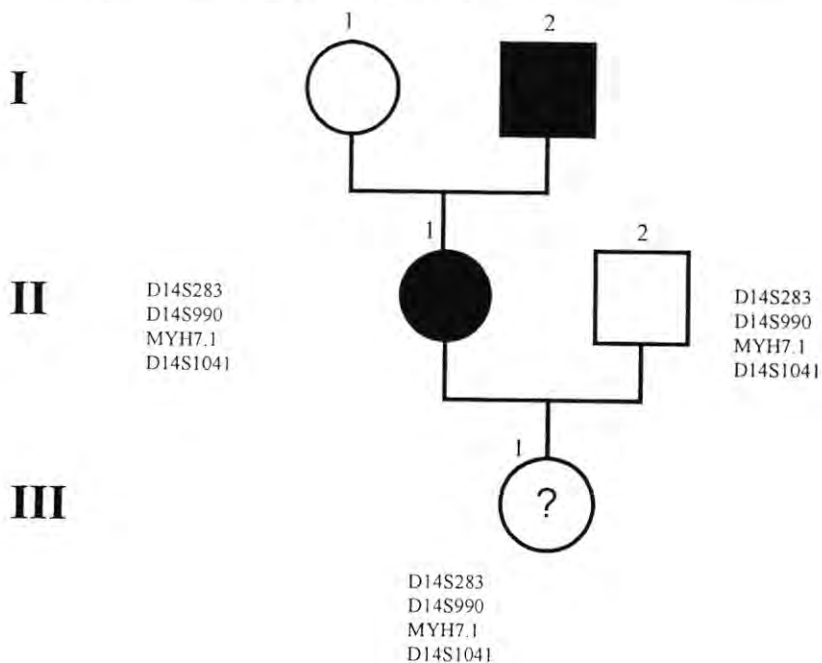
U analizi haplotipa za OPMD korištena su 4 mikrosatelitna markera smještena u neposrednoj blizini PABP2 gena, a ovdje nabrojena od smjera centromere prema telomeri: **D14S283, D14S990, MYH7.1 i D14S1041**. Gen za OPMD nalazi se između D14S283 i D14S990 markera.

Na slici 4. prikazana je obitelj u kojoj je je majka (II-1) OPMD bolesnica (potvrđeno genskom analizom; genotip 6/9), a otac (II-2) je zdrav. Iz slike je vidljivo da je bolesnica (II-1) bolest naslijedila od svog oca (I-2).

A)

U analizu povezanosti uključeni su samo bolesnica II-1, njezin zdrav suprug i njihova kćer.

ZADATAK JE «OČITATI» REZULTATE ZA SVAKI MARKER, ODREDITI HAPLOTIP ZA SVAKOG ČLANA OBITELJI, TE ODGOVORITI DA LI JE KĆERKA (III-1) BOLESNA ILI ZDRAVA!



Slika 4.

Pitanja:

1. Koristeći improvizirane slike gelova na slici 5 treba odrediti:

A) za svakog člana obitelji 2 alela za svaki analizirani marker

B) za kćer treba odrediti koji je majčinski, odnosno očinski alel naslijedila.

2. Na temelju dobivenih rezultata za markere, treba složiti haplotipove i zaključiti koji je haplotip naslijeđen od svakog roditelja.

Što se na temelju toga može zaključiti o kćerki, tj. njezinoj mogućnosti oboljevanja od OPMD uz pretpostavku da genska analiza njezine DNA iz određenog razloga nije moguća?

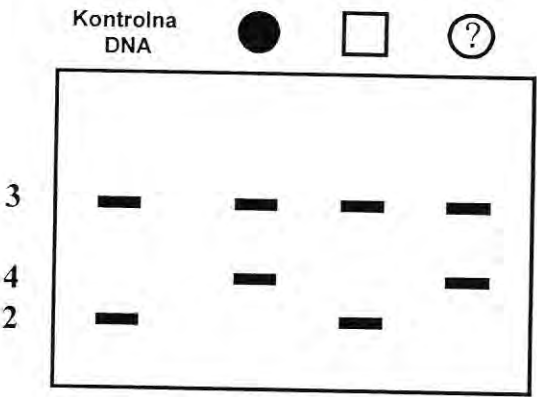
Veličine mikrosatelitnih markera označavaju se brojevima:

	<u>D14S283</u>	<u>D14S990</u>	<u>MYH7.1</u>	<u>D14S1041</u>
<u>BROJ</u>	<u>Veličina (pb)</u>	<u>Veličina (pb)</u>	<u>Veličina (pb)</u>	<u>Veličina (pb)</u>
1	139	151	158	113
2	125	147	156	111
3	137	153	154	117
4	133	143	152	119
5	131	155	150	115
6	145	157	148	109
7	147	145	146	105
8	143	149	144	121
9	153	161	142	
10			140	
11			138	
12			136	
13			134	
14			132	
15			130	

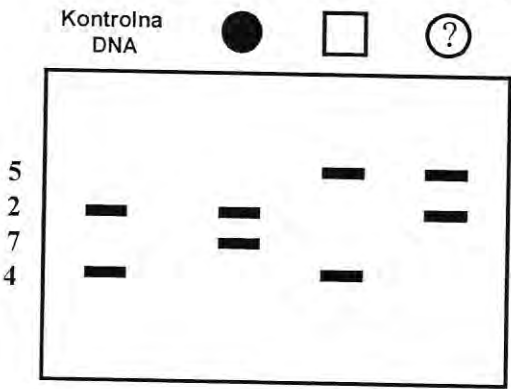
Uz članove obitelji analizirana je i kontrolna DNA čiji su rezultati za svaki pojedini marker označeni podebljanim brojevima.

REZULTATI:

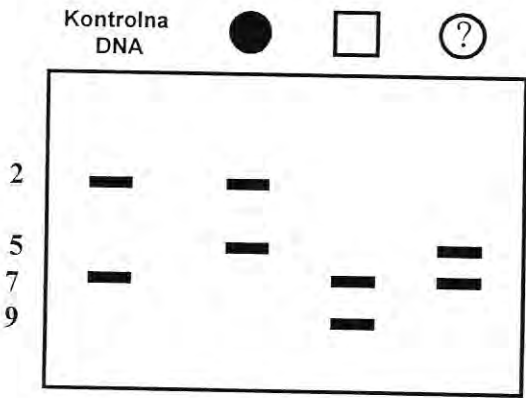
D14S283



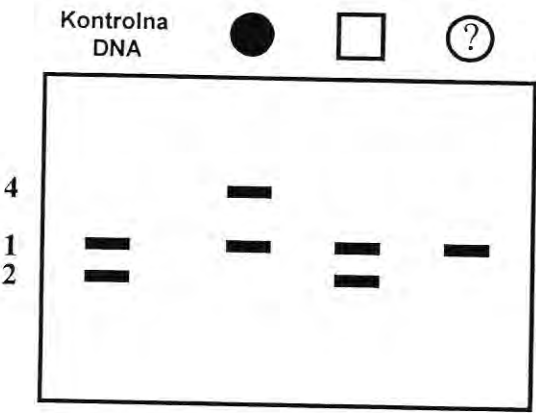
D14S990



MYH 7.1



D14S1041

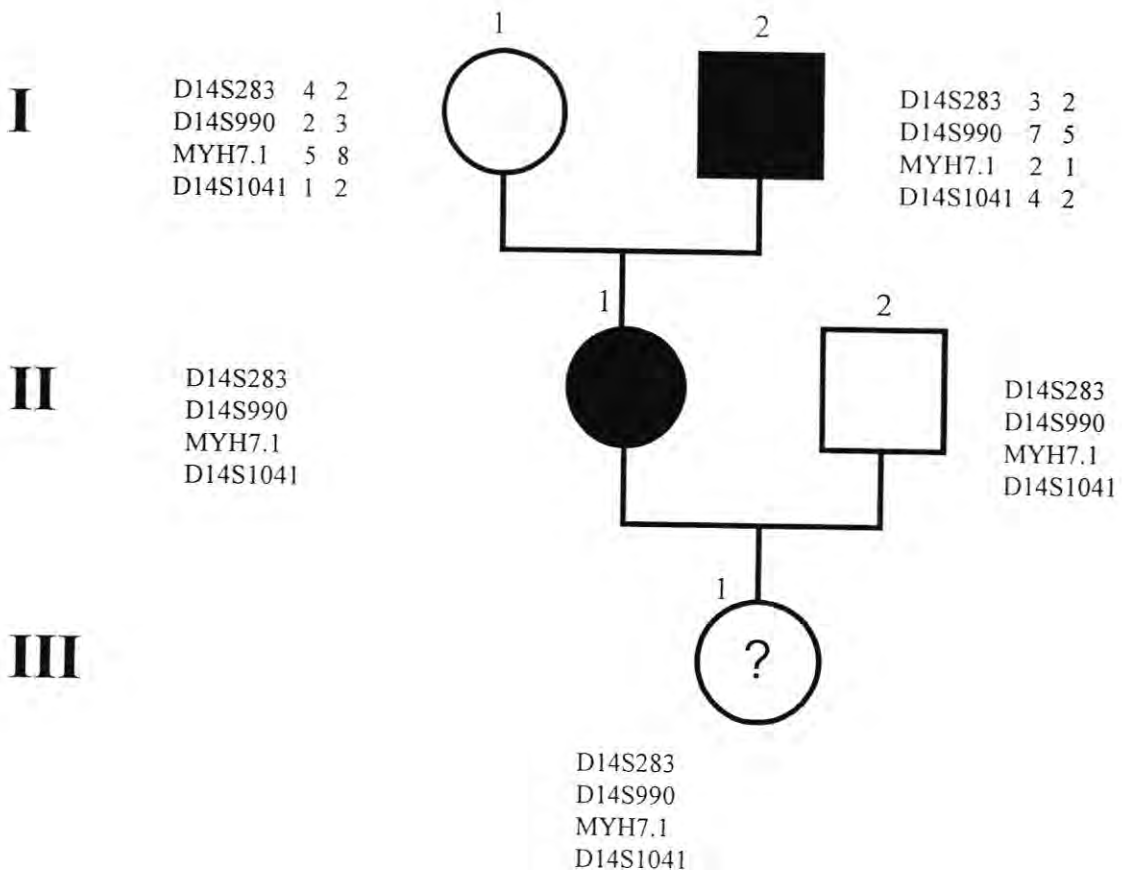


Slika 5.

B)

Na slici 6 su prikazani rezultati naknadno napravljene analize povezanosti roditelja OPMD bolesnice (I-1 i I-2).

Da li se kombinacijom rezultata iz zadatka 2A i sa slike 6 može pouzdanije odgovoriti na pitanje br. 2, tj. reći da li je kćer (II-2) bolesna ili zdrava?



Slika 6.

NOVOSTI U KLINIČKOJ GENETICI: Multidisciplinarni pristup dijagnostici, terapiji i prevenciji okulofaringealne mišićne distrofije (OPMD), HIIM, Zagreb, 14. i 15.11.2003.

**MULTIDISCIPLINARY APPROACH TO DIAGNOSIS,
TREATMENT AND PREVENTION OF HEREDITARY MUSCLE
DISORDERS**

Michel FARDEAU

Institute of Myology, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Pariz, Francuska

