

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA
FACOLTA DI MEDICINA E CHIRURGIA
Scuola di Specializzazione in Neuropsichiatria Infantile
Direttore: Chiar.mo Prof. D. Mazzone**

Dott. ssa Catia Romano

NUOVI ORIENTAMENTI IN TEMA DI MIOPATIE CONGENITE

TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

Relatore:

Chiar.mo Prof. D. Mazzone.

Tutor:

Chiar.mo Prof. G. Sorge

Anno Accademico 2009-2010

INTRODUZIONE

Il termine generico "**Miopia Congenita**" (MC), viene usualmente riferito ad un ampio gruppo di malattie neuromuscolari ad esordio precoce, entro solitamente i 6 mesi di vita, definite unicamente dalle anomalie istologiche del tessuto muscolare evidenziabili con la biopsia muscolare [1]. Tale gruppo, differenziato esclusivamente dall'esame morfologico biotico, inizialmente includeva le seguenti patologie muscolari: **la miopia nemalinica (NM), central core disease (MCC), multi-minicore disease (MMC) e la miopia miotubulare o centronucleare (MM)**[2]. Clinicamente le MC sono un gruppo estremamente eterogeneo di patologie muscolari, caratterizzate da marcata ipotonia con il caratteristico aspetto di "floppy infant", ipostenia generalizzata, difficoltà di suzione, difficoltà respiratorie (con insufficienza respiratoria ipercapnica) e dimorfismi facciali (palato ogivale con mandibola piccola) secondari alla debolezza muscolare. Il

coinvolgimento cardiaco, solitamente è raro ed il cognitivo è nella norma. La morbilità in tutte le forme di MC è associata in modo variabile ad un coinvolgimento dei muscoli respiratori con il rischio di aspirazione (polmonite ab ingestis) e complicanze ortopediche come scoliosi e contratture articolari [3]. I livelli di CKemia sono normali o moderatamente aumentati, il quadro elettrofisiologico può essere normale o evidenziare un pattern di sofferenza miogena primitiva.

Tali patologie presentano una enorme variabilità clinica fenotipicamente caratterizzata da forme severe con rapida e progressiva evoluzione, forme meno gravi con esordio clinico durante i primi anni di vita (paucisintomatiche) diagnosticate solo in età più avanzata o addirittura senza sintomi e conseguentemente mai diagnosticate.[4] L'introduzione di nuove tecniche immunoistochimiche, l'avanzamento degli studi in microscopia elettronica e soprattutto la genetica molecolare ha permesso di ampliare il numero di forme di miopatia congenita includendo, **la miopatia a disproporzione di fibre (CFTD)**, e

altre forme più rare come **la miopatia a corpi riducenti, miopatia con corpi ialini, miopatia sarcotubulare, con fibre trilaminari, miopatia X-linked, con eccesso di autofagia e la miopatia zebra body**. La genetica molecolare ha evidenziato nuovi geni coinvolti nelle MC [26].

Nel 1997 gli unici loci genici responsabili di una forma di MC erano il recettore per la rianodina (RYR) [19-30-33] nella miopatia central cores, l'alfa tropomiosina slow (TPM) [26-34] nella miopatia nemalinica e la miotubularina (MT) [35] per la miopatia miotubulare o centronucleare. Alla fine del 2007 sono stati identificati almeno sette diversi geni coinvolti nella miopatia nemalinica, dal gene della nebulina (NEB)[8-12] a quello della actina (ACTA1)[16-23-25]. L'integrazione della clinica con il quadro isto-morfologico è fondamentale per una corretta diagnosi anche se sono ormai entrati nell'algoritmo diagnostico gli esami di genetica molecolare.

In una nuova classificazione, che prevede la suddivisione in base alla morfologia delle lesioni, le MC vengono distinte in quattro sottoclassi [29]:

- 1) Miopatia con accumulo di proteine [9-15-16-17]**
- 2) Miopatia con presenza di cores [31-32]**
- 3) Miopatia con centralizzazione dei nuclei [35-32]**
- 4) Miopatia con variazione delle dimensioni delle fibre. [24]**

Sulla base di questa classificazione riporto una tabella che prevede la classificazione morfologica, la modalità di trasmissione genetica, il gene e/o il locus genico coinvolto e la proteina carente. (tab. 1) [26].

Questa suddivisione prevede la possibilità che un quadro istologico simile possa essere determinato da carenze proteiche diverse e quadri istologici differenti siano determinati dalla stessa carenza proteica.

Tab. 1

Disordine	Trasmissione	Gene/proteina
<i>Miopia con accumulo di proteine</i>		
Miopia nemalinica	AD, AR AR AD, AR AD AR AR AD	Alfa-tropomiosina slow Nebulina Alfa-actina Beta-tropomiosina troponinaT Cofilina 15q21-q24
Miosyn storage myopathy	AD	Slow beta-cardiac myosin heavy chain (MYH7)
Cap disease	AD	Beta-tropomiosina
Miopia a corpi riducenti	X-Linked	Four and a half LIM domain (FLH1)
<i>Miopia con presenza di cores</i>		
Miopia central core	AD, AR	Recettore per la rianodina
Miopia core-rod	AD	Recettore per la rianodina
Miopia multiminicore	AD, AR AR AD	Recettore per la rianodina Selenoproteina N Alfa-actina scheletrica
<i>Miopia con nuclei centrali</i>		
Miopia miotubulare	X-Linked	Miotubularina
Miopia centronucleare	AD AR	Dinamina2 Amphyphyn2
<i>Miopia variazione delle dimensioni delle fibre</i>		
Miopia a disproporzione di fibre	AD AD	Alfa-actina scheletrica Alfa-tropomiosina slow

	AR X-Linked	Selenoproteina N Xp-22.13 to Xq22.1
<i>Miopia con vacuoli</i>		
Miopia sarcotubulare	AR	TRIM32
Miopatie ad eziologia genetica sconosciuta		Broad A band disease Miopia a corpi lamellari Miopia autofagica Miopia zebra body Miopia con fibre a mosaico intrasarcomero.

Lo scopo del nostro studio, effettuato in collaborazione con l'Istituto G. Gaslini di Genova è quello di descrivere il fenotipo delle differenti forme di MC, il decorso clinico ed infine la correlazione istopatologica/genetica nelle varie forme di MC.

MATERIALI E METODI

In collaborazione l'U.O. di Malattie Neurodegenerative e Neuromuscolari dell'Istituto Giannina Gaslini di Genova abbiamo selezionato tredici pazienti affetti da Miopatia Congenita (MC), di cui tre afferiti presso il Laboratorio di Patologia Muscolare dell'Istituto Giannina Gaslini e dieci afferiti presso l'Ambulatorio di Malattie Neuromuscolari dell'U.O.C di Neuropsichiatria Infantile dell'Università di Catania e l'Ambulatorio di Neurologia Pediatrica dell'U.O. di Pediatria dell'Ospedale Vittorio Emanuele di Catania.

La diagnosi di ogni paziente è stata ricavata da una revisione retrospettiva contenente i dati anamnestici, clinici, ematochimici (CKemia), strumentali (EMG-VCN) e biotipici.

La valutazione della forza è stata condotta in concordanza con la scala di MRC che prevede l'assegnazione di un punteggio da un minimo 0 ad un massimo 5^[37].

Successivamente dopo aver posto diagnosi di Miopatia Congenita in relazione al quadro istologico abbiamo eseguito gli esami di genetica molecolare per i seguenti geni: actina (ACTA1), gene della nebulina (NEB), gene del recettore della rianodina (RYR) e gene della Tropomiosina (TPM).

Tab 2: dati clinico-anamnestici e strumentali

N° Pazienti	1	2	3	4	5	6	7
Diagnosi	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
Sesso/età	M/2aa	F/2aa	M/3aa	F/2aa	M/5aa	M/4aa	M/2aa
Anamnesi familiare	no	no	no	no	no	no	no
Esordio	nascita	nascita	20 mesi	14 mesi	nascita	nascita	nascita.
Ritardo motorio	si	si	no	si	si	si	si
Segni iniziali	ipotonia	Ipotonia Distress respiratorio	ipotonia	ipotonia	ipotonia	Ipotonia dispnea	Ipotonia Piede torto bilateralmente
Debolezza facciale	2	3	3	4	5	5	5
Debolezza AASS	3	3	3	3	5	4	4
Debolezza AAI	4	4	3	4	4	4	5
Atrofia muscolare	+	+	+	+	+	+	+
Segni dismorfici	Facies Allungata	Palatoschisi Micrognatia Alluce a martello	Palato ogivale	Torace incavato	Dolicocefalo Torace a botte Palato ogivale	Dolicocefalo	Palato ogivale Impianto basso padiglioni auricolari
Progressione clinica	no	no	no	no	si	si	si
Riflessi OT	Ridotti	ridotti	ridotti	assenti	ridotti	assenti	Molto ridotti
Altri segni	no	no	Ipoacusia scoliosi	Iperlassità Ipoplasia Corpo calloso	Brachidattilia camptodattilia	cifosi	no
ECG	normale	Difetto interatriale	normale	normale	normale	normale	normale
CK	normale	normale	normale	normale	normale	normale	normale
VCN/EMG	miogeno	miogeno	miogeno	miogeno	Miogeno/ neurogeno	NE	miogeno
Istopatologia	Corpi nem.	Corpi nem	Corpi nem	Corpi nem	Corpi nem	Corpi nem	Corpi nem
Fibre tipo 1	ipotrofiche	prevalenza	prevalenza	prevalenza	prevalenza	prevalenza	prevalenza
Gene deleto	ACTA1	ACTA1 non deleto	ACTA1 non deleto	ACTA1	ACTA1 non deleto	ACTA1 non deleto	ACTA1 non deleto

Tab 3: dati clinico-anamnestici e strumentali

N° Pazienti	8	9	10	11	12	13
Diagnosi	MCC	MM	MCC	MCC	CFTD	Miopatia primitiva
Sesso/età	F/3aa	M/12 aa	F/13 aa	F/14 aa	M/3 aa	F/10 aa
Anamnesi familiare	no	no	sorella	sorella	no	no
Esordio	nascita	2 aa	4 aa	3 aa	nascita	nascita
Ritardo motorio	si	si	si	si	no	si
Segni iniziali	Ipostenia generalizzata	Ipostenia generalizzata	Ipostenia	Ipostenia	Artrogriposi distale	Ipotonia
Debolezza facciale	4	3	3	3	2	3
Debolezza AASS	2	2	2	2	3	3
Debolezza AAII	4	3	3	3	4	3
Atrofia muscolare	+	+	+	+	+	+
Segni dismorfici	Facies Allungata	Palato ogivale	Facies allungata	Facies allungata	Facies amimica	Facies Allungata
Progressione clinica	no	no	no	no	no	lieve
Riflessi OT	ridotti	lievemente ridotti	ridotti	ridotti	ridotti	ridotti
Altri segni	no	no	no	no	no	no
ECG	normale	normale	normale	normale	normale	normale
CK	nella norma	nella norma	nella norma	nella norma	nella norma	nella norma
VCN/EMG	miogeno	nella norma	nella norma	nella norma	nella norma	nella norma
Istopatologia	central core	centranucleare	central core	central core	NE	Miopatia primitiva
Fibre tipo 1	prevalenza	prevalenza	prevalenza	prevalenza	NE	prevalenza
Gene deleto	RYR	NE	RYR	RYR	Beta tropomiosina	Esame genetico per la nebulina in corso

NE: Non eseguito

RISULTATI

Nel nostro studio abbiamo analizzato tredici pazienti, sette maschi e 6 femmine con un'età alla diagnosi, compresa tra i due e i sette anni. Dalla tabella 2 e dalla tabella 3 si evince che l'anamnesi familiare è risultata positiva in due su tredici pazienti (#10 #11).

L'età d'esordio sintomatologico per otto pazienti esaminati (#1 #2 #5 #6 #7 #8 #12 #13) era alla nascita, per gli altri cinque casi (#3 #4 #9 #10 #11) si colloca al di sotto dei quattro anni di età.

Il ritardo motorio era presente in undici pazienti su tredici (#1 #2 #4 #5 #6 #7 #8 #9 #10 #11 #13).

La sintomatologia in tutti i casi ha esordito con un quadro di ipostenia ed ipotonia generalizzata e la suzione è sempre stata ipovalida. Tutti i pazienti descritti presentavano, un fenotipo caratteristico di MC con facies amimica e palato ogivale.

L'artrogriposi distale era presente in un paziente su tredici (#13).

Tre pazienti su tredici (#5 #6 #7) non hanno mai raggiunto la deambulazione autonoma.

Il decorso clinico era stazionario in dieci su tredici mentre per tre su tredici era progressivo (#5 #6 #7).

Tutti i pazienti presentavano una CKemia ed una VCN nella norma mentre l'esame elettromiografico (EMG) ha rilevato la presenza di segni di sofferenza muscolare in sette su tredici (#1 #2 #3 #4 #5 #7 #8).

La biopsia muscolare mostrava la presenza di inclusioni intracitoplasmatiche di forma allungata o bastoncellare di colore brunastro riferibili a corpi nemalinici in sette su tredici pazienti (#1 #2 #3 #4 #5 #6 #7) (Fig. 1), in tre su tredici si evidenziava la presenza di cores (#8 #10 #11) (Fig. 2) e in un caso non si evidenziavano i segni "patognomonic" istologici di alcuna MC (#13). In undici su tredici pazienti si evidenziava una predominanza di fibre di tipo I (#2 #3 #4 #5 #6 #7 #8 #9 #10 #11#13) (Fig. 3) [5].

L'indagine genetico-molecolare eseguita sui pazienti esaminati, con amplificazione mediante PCR degli esoni 2-7 del gene ACTA1 e sequenziamento dei prodotti amplificati ha evidenziato una mutazione de novo di un paziente (#4) (Fig. 4). In un altro caso (#1) lo studio eseguito sull'RNA, ottenuto da muscolo scheletrico, ha evidenziato una delezione (mancanza di amplificazione durante la reazione con PCR) che interessa i primi frammenti del gene.

In un solo caso (#12) era coinvolto il gene TPM ed in tre su tredici la RYR (#8 #10 #11).

La diagnosi genetica quindi è stata possibile solo in sei su tredici pazienti (#1 #4 #8 #10 #11 #12).

.

DISCUSSIONE

Le MC sono un gruppo di patologie muscolari primitive caratterizzate da ipotonia ed ipostenia generalizzata, ad esordio solitamente entro i 6 mesi di vita e dalla presenza di lesioni istologiche peculiari.

Il primo riscontro in letteratura risale a Shy quando nel 1954 pubblicò su Brain un caso clinico caratterizzato da un esordio precoce ma con un decorso clinico fondamentalmente statico [36].

Il quadro sintomatologico era caratterizzato dalla presenza di ipostenia ed ipotonia generalizzata, da segni dismorfici facciali e da una lesione istologica muscolare caratteristica mai prima di allora riportata in letteratura.

Da allora sono stati pubblicati numerosi casi clinici simili al primo report di Shy che hanno permesso di diversificare

l'esordio, il quadro clinico e di tipizzare le diverse forme sul riscontro bioptico della lesione muscolare.

Infatti sono stati descritti fenotipi clinici "gravi" con esordio precoce che se non sostenuti dal ventilatore meccanico portavano a morte entro i primi mesi di vita e di conseguenza mai diagnosticati.

Al contrario vi sono case reports con forme "mild" in cui il quadro clinico era sfumato, con esordio clinico nei primi anni e/o nella seconda decade di vita. Il clinico può essere aiutato dalla ricerca di segni patognomonic di danno del Sistema nervoso Periferico (SNP) come l'assenza e/o riduzione dei riflessi osteotendinei e dalla valutazione del trofismo muscolare che risulta essere assente o diminuito, al contrario delle distrofie muscolari dove solitamente vi è una ipertrofia anche se fittizia.

La Ckemia, marker biochimico di danno della fibrocellula muscolare risulta nella norma nella maggior parte dei pazienti

quindi di poco aiuto nella ricerca diagnostica, al contrario dei pazienti distrofici in cui è marcatamente elevata.

Solo il quadro bioptico può confermare il sospetto clinico di una MC e sulla base del danno osservato con l'istochimica si può procedere al successivo "step" diagnostico che è rappresentato dal riconoscimento genetico del sottogruppo.

Quindi ad oggi le MC sono le seguenti: **miopatia nemalinica (NM), central core disease (MCC), multi-minicore disease (MM), miopatia miotubulare (centronucleare), miopatia a disproporzione di fibre (CFTD), miopatia a corpi riducenti, miopatia con corpi ialini, miopatia sarcotubulare, con fibre trilaminari, miopatia X-linked, con eccesso di autofagia e la miopatia zebra body.**

A questi pattern bioptici in cui il danno è dovuto ad una alterazione di un componente del sarcomero (actina, miosina, alfa o beta tropomiosina, recettori per la Rianodina) corrisponde ad un quadro istologico vario che può mutare anche nel corso della vita di un paziente affetto da una qualsiasi forma di MC.

Nella maggior parte dei pazienti infatti l'alterazione muscolare è localizzata all'interno della fibrocellula, reperto che la contraddistingue dalle altre forme di miopatie distrofiche in cui il danno è localizzato a livello della membrana plasmatica (Distrofinopatie, sarcoglicanopatie) o all'esterno della fibrocellula come nelle distrofie muscolari congenite (DMC).

Dal nostro studio si evince che il quadro clinico esordisce usualmente alla nascita e si presenta più chiaramente entro il primo anno di vita con ritardo delle tappe motorie grossolane.

Nelle forme ad esordio "precoce" e quindi neonatale, spesso vi è una stretta correlazione di gravità sintomatologica che è rappresentata da difficoltà di suzione, grave ipotonia ed insufficienza respiratoria ipercapnica ed il decorso clinico solitamente è inficiato dalla possibilità di supportare tali pazienti dal punto di vista respiratorio.

Inoltre sono state descritte rare forme con polidramnios, akinesia fetale associate a morte intrauterina. [6]

I segni clinici tipici “precoci” delle MC sono caratterizzati da una amimia facciale, palato ogivale e difficoltà di suzione, ritardo psicomotorio di grado variabile da lieve a severo.

In letteratura le forme di MC con artrogriposi sono associate di solito alle forme severe di malattie muscolari con decorso rapidamente progressivo. [6] Contrariamente nel nostro studio un paziente con artrogriposi distale presentava un quadro clinico lentamente progressivo.

L'esame genetico dei geni coinvolti nelle MC deve seguire il reperto istologico che può essere determinato da alterazioni di diversi geni come succede nel riscontro delle inclusioni nemaliniche in cui bisogna indagare almeno sette geni anche se la più frequente è rappresentata dalle alterazioni della nebulina (70% dei casi) localizzato sul cromosoma 2q22 che codifica per una proteina della matrice e nel 25% dei casi della ACTA1.

Uno dei dati più interessanti che è emerso dalla letteratura di questi ultimi anni è rappresentato dalla non staticità del quadro

bioptico e dalla possibilità di trovare diversi reperti istologici a distanza di anni nello stesso paziente.

Attualmente non vi sono elementi clinici o strumentali che ci aiutano nella differenziazione delle diverse forme di MC e ciò è in conformità alla nostra esperienza che seppur limitata a tredici casi non permette di porre alcuna valutazione definitiva.

La nostra casistica però ci fa considerare le MC un gruppo ampio di patologie ad esordio prevalentemente entro il primo anno di vita in cui ad un stesso quadro bioptico si correlano alterazioni di più geni che determinano l'effetto istologico di danno all'interno della miofibrilla, che in atto rappresenta un dato di fondamentale importanza nella diagnostica delle MC.

CONCLUSIONI

In conclusione dall'analisi clinico-istologica e genetica-molecolare dei casi studiati, si evince che il gruppo delle MC può anche subire uno shift di denominazione passando dal termine di miopatie congenite a quello di "Sarcomeropatie". Tale termine ci appare più adeguato perché indica che l'alterazione determinante la patologia risiede all'interno dell'unità funzionale del muscolo scheletrico.

La difficoltà diagnostica risiede nell'estrema complessità dei meccanismi che guidano la contrazione muscolare all'interno del sarcomero in cui vengono interessate proteine strutturali (actina, miosina, alfa e beta tropomiosina) o proteine di messaggio intracellulare di primaria importanza nella differenziazione dei mioblasti (miotubularina) o proteine che rilasciano il calcio dal reticolo sarcoplasmatico (ryanodina) e che funge da segnapassi della contrazione muscolare.

Fig. 1 Sezione trasversale di muscolo. Tricromica di Gomori.
Visualizzazione dei “ rods” di colore rosso-violaceo (vedi freccia)

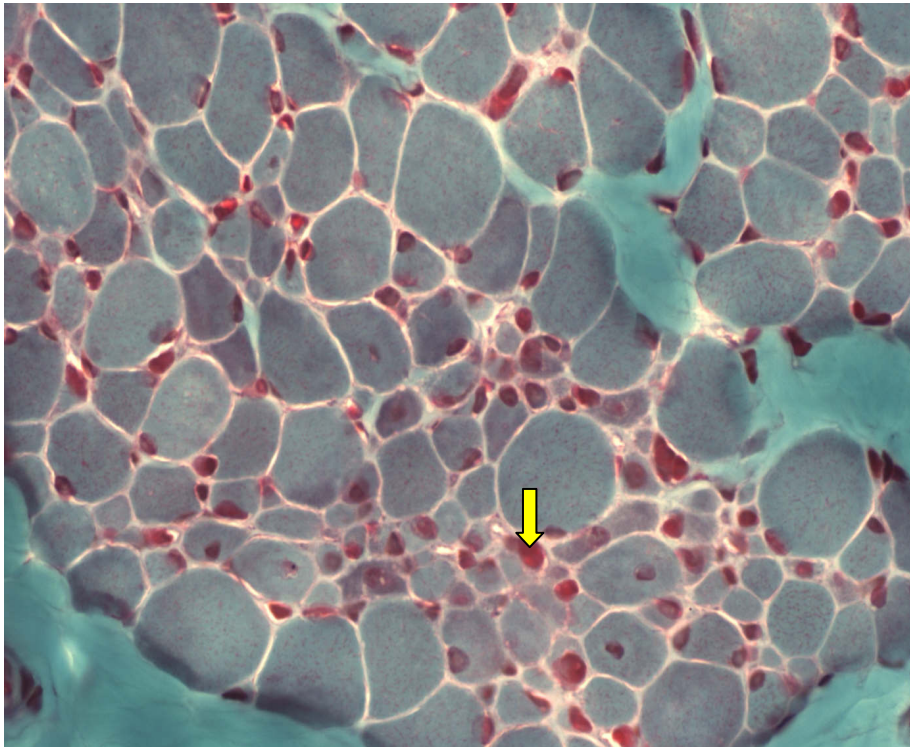


Fig. 2: presenza di cores alla colorazione NADH

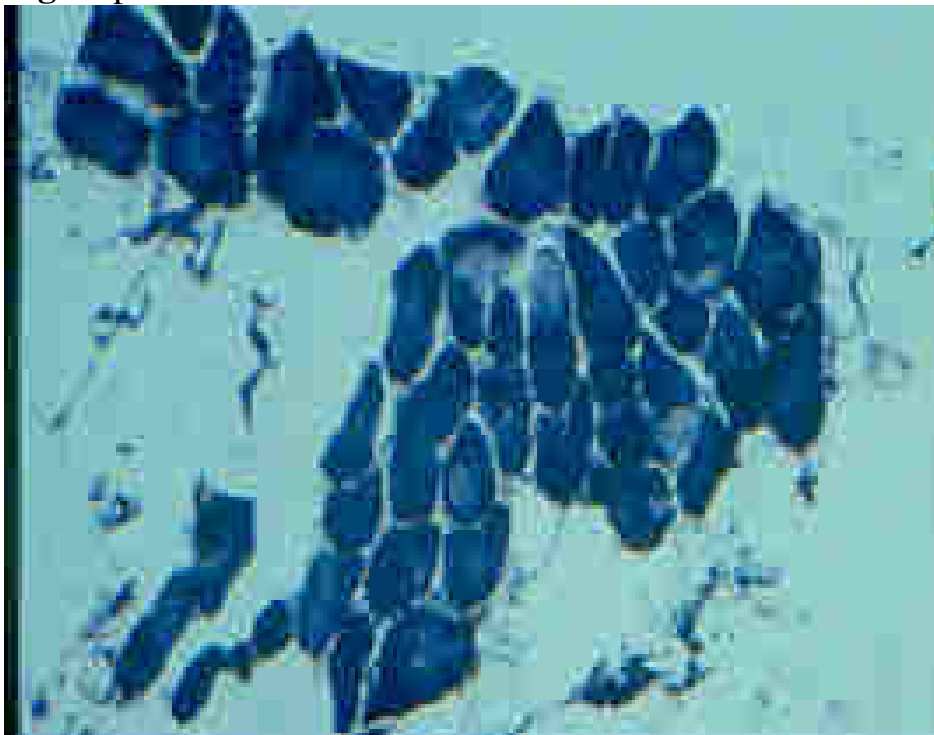


Fig. 3 Predominanza di fibre di tipo I alla ATPasi ph 9.4

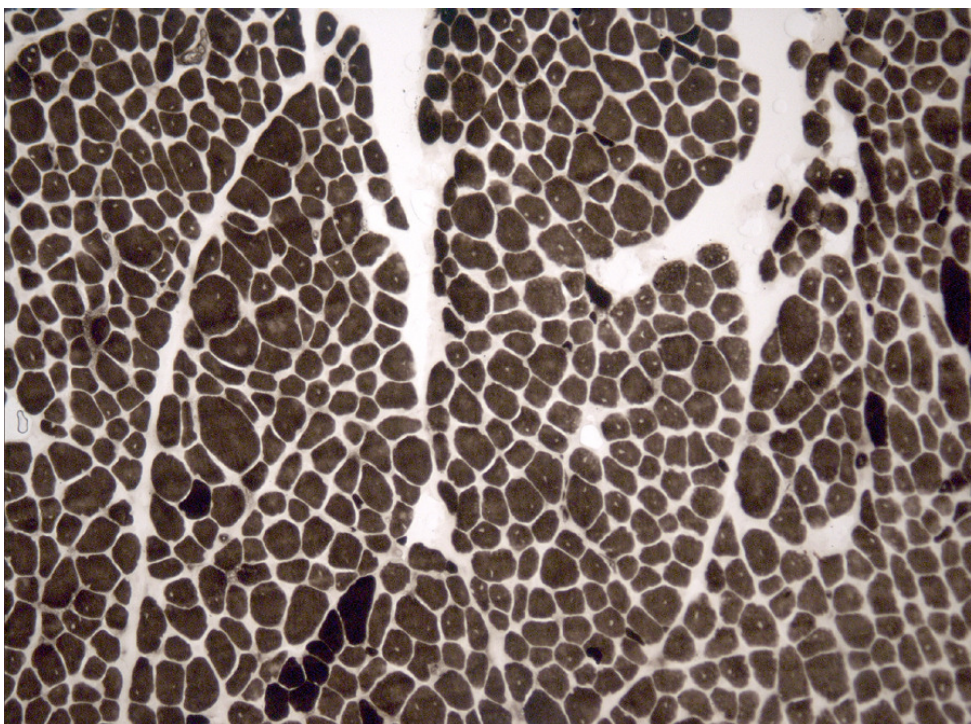
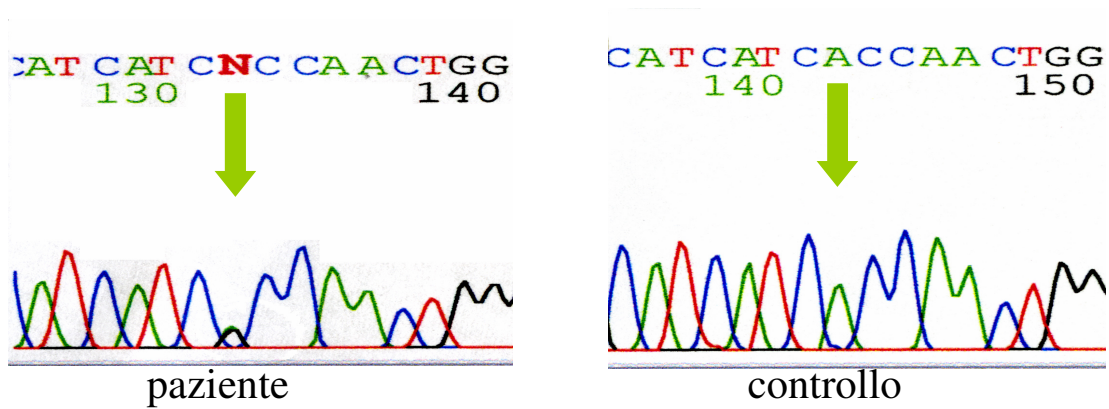


Fig. 4: L'elettroferogramma evidenzia la mutazione nel gene ACTA1, con sostituzione di una base A>G in posizione c2020 (nucleotide della sequenza codificante) nell'esone 3. Questo determina la sostituzione di un aminoacido treonina con un aminoacido alanina.



BIBLIOGRAFIA

- 1) Wallgren-Pettersson C and Laing.
NG:Workshop report: 40th ENMC International Workshop:
Nemaline Myopathy. 2-4 February 1996, Naarden,
The Netherlands.
Neuromuscul disord 6: 389-391, 1996

- 2) Dubowitz V.
Muscle Biopsy. A Practical Approach. London: Baillière
Tindall; 1985

- 3) Taratuto AL.
Congenital myopathies and related disorder.
Curr Opin Neurol 2002, 15: 553-561

- 4) Fardeau M, Tome F.
Congenital myopathies: In Myology. Edited by Engel AG,
Franzini-Armstrong C. New York
McGraw-Hill; 1994: 1487-1533

- 5) North KN, Laing NG and Wallgren-Pettersson C.
Nemaline myopathy: The ENMC International Consortium and Nemaline Myopathy.
Med Genet 34: 705-713,1997

- 6) Lammens M, Moerman P, Fryns JP, Lemmens F, et al
Fatal Akinesia sequence caused by nemaline myopathy.
Neuropediatrics 1997. 28: 116-9

- 7) Lomen-Hoerth C, Simmons ML, Deamond SJ, Layzer RB.
Adult-onset nemaline myopathy: another cause of
dropped head.
Muscle Nerve. 1999. 22: 1146-50

- 8) Wallgren-Pettersson C.
70th ENMC International Workshop:
Nemaline Myopathy Naarden, The Netherlands. 11-13
June 1999.
Neuromuscul disord 2000, 10: 299-306

- 9) Ryan MM, Schnell C, Strickland CD, et al.
Nemaline Myopathy: a clinical study of 143 cases.
Ann Neurol 2001, 50: 312-320

- 10) Wallgren-Pettersson C and Laing NG.
Report of the 70th ENMC International Workshop:
Nemaline myopathy, 11-13 June 1999, Naarder, The
Netherlands.
Neuromuscul disord 10: 299-306, 2000

- 11) Laing NG, Wilton SD, Akkari PA, et al.
A mutation in the alpha tropomyosin gene TPM3 associated
with autosomal dominant nemaline myopathy NEM1.
Nat Genet 1995, 9: 75-79

- 12) Pelin K, Hilpela P, Donner K, et al.
Mutation in the nebulin gene associated with autosomal
recessive nemaline myopathy.
Proc Natl Acad Sci U S A 1999, 96:2305-2310

- 13) Donner K, Ollikainen M, Ridanpaa M, et al.
Mutation in the beta tropomyosin (TPM2) gene a rare
cause of nemaline myopathy.
Neuromuscul disord 2002, 12:151-158.

- 14) Nowak KJ, Wattanasirichaigoon D, Goebel HH, et al.
Mutation in the skeletal muscle alpha-actin gene in
patients with actin myopathy and nemaline myopathy.
Nat Genet 1999, 23: 208-212

- 15) Johnston JJ, Kelley RI, Crawford TO, et al.
A novel nemaline myopathy mutation in the muscle alpha-skeletal-actin gene in the Amish caused by a mutation in troponin T1.
Am J Hum Genet 2000, 67:814-821

- 16) Ilkovski B, Cooper ST, et al.
Nemaline myopathy caused by a mutation in the muscle alpha-skeletal-actin gene.
Am J Hum Genet 2001,68:1333-1343.

- 17) Nowak KJ, Wattanasirichaigoon D, Goebel HH, et al.
Mutation in the skeletal muscle alpha-actin gene in patients with actin myopathy and nemaline myopathy.
Nat Genet 23: 208-212, 1999. 7: 160-8.

- 18) Wallgren Pettersson C, Pelin K, Hilpela P, et al.
Clinical and genetic heterogeneity in autosomal recessive nemaline myopathy.
Neuromuscul Disord. 1999. 9:564-72

- 19) Zhou H, Yamaguchi N, Xu L, et al. Characterization of recessive RYR1 mutation in core myopathies. Hum Mol Genet 2006;15:2791-803
- 20) Goebel HH, Anderson JR, Hubner C, Oexle K, Warlo I. Congenital myopathy with excess of thin myofilaments. Neuromuscul Disord. 1997. 12:22-30
- 21) D'Amico A, Graziano C, Pacileo G, et al. Fatal hypertrophic cardiomyopathy and nemaline myopathy associated with ACTA1 K336E mutation. Neuromuscul Disord. 2006 Oct; 16 (9-10): 584-52
- 22) Wallgren-Pettersson C and Laing NG. 109th ENMC International Workshop: 5th workshop on nemaline myopathy, 11-13 October 2002, Naarder, The Netherlands. Neuromuscul disord 13: 501-507, 2003.
- 23) Agrawal PB, Strickland CD, Midgett C, et al. Heterogeneity of nemaline myopathy cases with Skeletal muscle alpha-actin gene mutations. Ann Neurol. 2004 Jul; 56 (1): 86-96.

- 24) Laing NG, Clarke NF, Dye DE, Liyanage K, et al.
Actin mutations are one cause of congenital fibre type
Disproportion.
Ann Neurol.2004. 56:689-94
- 25) Graziano C, Bertini E, Minetti C, Porfirio B
Alfa-actin gene mutations and polymorphisms in Italian
Patient with nemaline myopathy.
International Journal of molecular medicine
2004 13: 805-09
- 26) Laing NG, Wilton SD, Akkari PA, et al. A mutation in the
alpha tropomyosin gene TPM3, associated with autosomal
dominant nemaline myopathy NEM1. Nat Genet
1995;10:249
- 27) Ferreiro A, Monnier N, Romero NB, et al. Ann Neurol
2002;51:750-9

- 28) Johnston JJ, Kelley RI, Crawford TO, et al. A novel nemaline myopathy mutation in the muscle alpha-skeletal-actin gene in the Amish caused by a mutation in troponin T. *Am J Hum Genet* 2000, 67:814-821
- 29) Schoser BGH, Frosk P, Engel AG, et al. Commonality of TRIM32 mutation in causing sarcotubular myopathy and LGMD2H. *Ann Neurol* 2005;57:591-5
- 30) Zhang Y, Chen HS, Khanna VK, et al. A mutation in the human ryanodine receptor gene associated with central core disease. *Nat Genet* 1993;5:46-50
- 31) Quane KA, Healy JM, Keating KE, et al. Mutations in the ryanodine receptor gene in central core disease and malignant hyperthermia. *Nat Genet* 1993;5:51-5
- 32) Romero NB, Monier N, Viollet L, et al. Dominant and recessive central core disease associated with RYR1 mutations and fetal akinesia. *Brain* 2003;126:1-9.

- 33) Jungbluth H, Zhou H, Sewry Ca, et al. Centronuclear myopathy due to a de novo dominant Mutations in the skeletal muscle ryanodine receptor (RYR1) gene. *Neuromuscul Disord* 2007;17:338-45.
- 34) Tan P, Briner J, Boltshauser E, et al. Homozygosity for a nonsense mutation in the alpha-tropomyosin slow gene TPM3 in a patient with severe infantile nemaline myopathy. *Neuromusc Disord* 1999;9:573-9
- 35) Laporte J, Hu LJ, Kretz C, et al. A gene mutated in X-Linked myotubular myopathy defines a new putative tyrosine phosphatase family conserved in yeast. *Nat Genet* 1996;13:175-82
- 36) Magee KR, Shy GM: A new congenital non-progressive myopathy. *Brain* 1956, 79(4):610-621.
- 37) Florence JM, Pandya S, King WM et al. Intrarater reliability of manual muscle test (Medical Research Council scale) grades in Duchenne's muscular dystrophy. *Phy Ther* 1992;72:115-22

