

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Romana Kolenská

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Katedra biologických a biochemických věd

*Fibrodysplasia ossificans progressiva*

Bakalářská práce

2023

Romana Kolenská

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Romana Kolenská
Osobní číslo:	C19237
Studijní program:	B3912 Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor:	Zdravotní laborant
Téma práce:	<i>Fibrodysplasia ossificans progressiva</i>
Téma práce anglicky:	<i>Fibrodysplasia Ossificans Progressiva</i>
Zadávací katedra:	Katedra biologických a biochemických věd

## Zásady pro vypracování

1. Na základě informací z literatury uspořádejte současné znalosti o klinických projevech, příčinách a molekulární podstatě nemoci *Fibrodysplasia ossificans progressiva*.
2. Blíže se zaměřte také na roli laboratorních ukazatelů v diagnostice a monitorování průběhu tohoto onemocnění.
3. Dále se blíže zaměřte na roli buněčných modelů ve výzkumu příčin a možné terapie tohoto onemocnění.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.  
Rozsah grafických prací: dle potřeby  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.  
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.  
vedoucí katedry

**Prohlašuji:**

Práci s názvem *Fibrodysplasia ossificans progressiva* jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 6. 2023

Romana Kolenská v. r.

**Poděkování:**

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucí bakalářské práce Mgr. Pavle Žákové, PhD., za vstřícný přístup, množství cenných rad a připomínek, které mi v průběhu psaní práce poskytla. Dekuji také své rodině a přátelům za jejich ochotu a podporu během psaní této práce.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá onemocněním *Fibrodysplasia ossificans progressiva*. Úvod práce popisuje současné poznatky o molekulární podstatě nemoci, příčinách vzniku a klinických projevech. Druhá část informuje o laboratorních ukazatelích a monitorování průběhu tohoto vzácného onemocnění. Závěr práce popisuje roli buněčných modelů a případnou léčbu onemocnění.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

*Fibrodysplasia ossificans progressiva*, heterotopická osifikace, vzácné onemocnění, Aktivin A receptoru typu I

## **TITLE**

*Fibrodysplasia ossificans progressiva*

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis deals with *Fibrodysplasia ossificans progressiva*. The beginning of the thesis describes the current knowledge of molecular basis of the disease, causes and the clinical manifestations. The second part reports on laboratory parameters and monitoring the progression of this rare disease. The end of the thesis describes the role of cellular models and possible treatment.

## **KEYWORDS**

*Fibrodysplasia ossificans progressiva*, heterotopic ossification, rare disease, Activin A receptor type I

# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ .....	11
SEZNAM TABULEK .....	12
SEZNAM PŘÍLOH.....	13
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	14
ÚVOD .....	15
1 FIBRODYSPLASIA OSSIFICANS PROGRESSIVA .....	16
1.1 Historie nemoci .....	16
1.1.1 Harry Raymond Eastlack.....	16
1.2 Datovaná historie významných událostí ve FOP.....	18
1.3 Výskyt nemoci.....	19
1.4 Charakteristika nemoci.....	20
1.5 Etiologie nemoci.....	21
1.6 Patofyziologie nemoci .....	22
1.7 Genetické aspekty.....	24
1.8 Molekulární podstata .....	24
1.8.1 Základy k receptorům rodiny TGF- $\beta$ .....	24
1.8.1.1 Receptory typu I a II z rodiny TGF- $\beta$ .....	25
1.8.1.2 Role receptorů typu I v ligandem indukované signální transdukcii.....	26
1.8.2 Aktivin A .....	27
1.8.2.1 ACVR1/ALK2 .....	27
1.8.3 BMP a jejich signalizace .....	28
2 KLINICKÉ PROJEVY NEMOCI.....	30
2.1 Jednotlivé klinické projevy.....	30
2.1.1 Uzlíky na pokožce hlavy .....	30
2.1.2 Kostní deformace.....	31



2.1.3	Otoky měkkých tkání .....	31
2.1.4	Heterotopická osifikace .....	31
2.2	Druhy FOP.....	32
2.2.1	<i>Classic FOP</i> .....	32
2.2.2	<i>FOP-plus</i> .....	33
2.2.3	<i>Variant FOP</i> .....	33
2.3	Frekvence klinických příznaků.....	35
2.4	Problémy spojené s nemocí .....	35
2.4.1	Kardiorespirační dysfunkce u FOP .....	36
2.4.2	Neurologická dysfunkce.....	36
2.5	Prevence vzniku vzplanutí a ovlivnění života.....	38
2.5.1	Rehabilitační péče .....	39
2.5.2	Vzdělávání a práce .....	40
2.5.3	Těhotenství .....	41
3	VÝVOJ KOSTRY U FOP .....	42
3.1	Kostra .....	42
3.2	Kost.....	42
3.3	Osifikace.....	42
3.3.1	Anomálie normotického skeletu.....	44
3.3.2	Vývoj embryonálního skeletu.....	44
3.4	Heterotopická osifikace .....	45
3.4.1	Hypoxie a HO .....	46
3.4.2	<i>Flare-ups</i> ve FOP .....	47
4	DIAGNOSTICKÉ METODY A MONITORING NEMOCI.....	49
4.1	Rentgenové vyšetření (RTG).....	49
4.2	Magnetická rezonance (MRI).....	49
4.3	Počítačová tomografie (CT) .....	50

4.4	Zobrazování v nukleární medicíně .....	51
4.5	Pozitronová emisní tomografie – počítačová tomografie (PET-CT) .....	52
4.6	Ultrasonografie .....	52
4.7	Histopatologie.....	53
4.8	Laboratorní testy.....	53
4.8.1	Monitorování vzorků krve .....	54
4.8.2	Monitorování vzorků slin .....	55
5	MODEL Y NEMOCI .....	56
5.1	Myší modely .....	57
5.2	Model ovocné mušky .....	57
5.3	Kuřecí modely .....	57
5.4	Model Dánia pruhovaného .....	58
5.5	Buněčné modely .....	58
6	LÉČBA .....	60
6.1	Symptomatická léčba vzplanutí nemoci .....	60
6.2	Vývoj léků pro FOP.....	61
6.2.1	Saracitinib.....	62
6.2.2	Rapamycin.....	62
6.2.3	Palovaroten .....	62
6.2.4	REGN2477(Garetosmab) .....	62
	ZÁVĚR .....	64
8	POUŽITÁ LITERATURA .....	65
9	ZDROJE OBRÁZKŮ A TABULEK .....	81
	PŘÍLOHY .....	83

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Harry Raymond Eastlack a jeho kostra.....	17
Obrázek 2: Schématické znázornění lidského ACVR1 .....	22
Obrázek 3: Náznak patologické cesty.....	23
Obrázek 4: Signální transdukce členů rodiny TGF- $\beta$ .....	26
Obrázek 5: Schématické znázornění přenosu signálu ALK2 .....	28
Obrázek 6: Normální signální dráhy BMP/TGF- $\beta$ a abnormální signalizace BMP .....	29
Obrázek 7: Charakteristické a proměnlivé rysy FOP .....	32
Obrázek 8: Malformace Variant FOP .....	33
Obrázek 9: Zobrazení kostry FOP pomocí CT .....	51
Obrázek 10: Znázornění změn končetin a kolen vlivem mutací .....	58
Obrázek 11: Schématický přehled léčiv a zkoumaných látek .....	63

## **SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Celosvětové zastoupení jedinců s FOP .....	20
Tabulka 2: Klinické nálezy a zastoupení mutací u typů FOP .....	34

## **SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1: Zaznamenání pěti klinických stádií nemoci .....	83
--	----

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACVR1 – Aktivin A receptoru typu I

ALK2 – Aktivin receptor-like kinase 2

BMP – kostní morfogenetický protein

Co-Smad – common partner Smad

COX-2 – cyklooxygenáza -2

IS – imunitní systém

FOP – *Fibrodysplasia ossificans progressiva*

GS – glycin/serin

HIF – hypoxii indukovaný faktor

HO – Heterotopická osifikace

iPSC – indukované pluripotentní kmenové buňky

mTOR – mammalian target of rapamycin

NSAID – nesteroidní protizánětlivé léky

R-Smad – receptorem regulovaný Smad

TGF- $\beta$  – transformující růstové faktory beta

# ÚVOD

Ve své bakalářské práci jsem se rozhodla věnovat vzácnému onemocnění *Fibrodysplasia ossificans progressiva* a současným znalostem o této chorobě. Vzhledem k ojedinělému výskytu této nemoci a mnohdy chybné diagnostice, která má následně negativní vliv na život pacienta je důležité její včasné odhalení a nepodcenění charakteristických rysů nemoci.

Příznaky onemocnění jsou u každého jedince z hlediska průběhu zcela individuální. Od prvotních otoků měkkých tkání po masivní postup heterotopické osifikace vedoucí až k imobilitě.

V první kapitole je shrnuta historie onemocnění, od prvotních zmínek až po současnou etiologii, patogenezi, charakteristiku, výskyt, a především molekulární podstatu nemoci. Další část je zaměřena na klinické projevy a problémy spojené s onemocněním. Je zde také popsán abnormální vývoj kostry. Následuje kapitola, která se věnuje diagnostice a monitorování nemoci. Nechybí ani popis laboratorních modelů nemoci. V poslední části práce jsou zmíněny léčebné metody pro zmírnění obtíží a léky, které jsou prozatím ve fázi klinického hodnocení.

Cílem této bakalářské práce je shrnout současné poznatky o tomto velmi vzácném onemocnění, které nemocné doslova uvězňuje v jejich vlastním těle.

# 1 FIBRODYSPLASIA OSSIFICANS PROGRESSIVA

## 1.1 Historie nemoci

Prvotní zmínky o nemoci proměňující pojivovou tkáň v kost byly zaznamenány již v 17. a 18. století. Je tedy možné, že tyto jedinci už tenkrát trpěli nemocí dnes známou jako FOP (*Fibrodysplasia ossificans progressiva*) neboli nemocí zkamenělých lidí (*IFOPA – International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association, 2018*).

První detailní případ této vzácné nemoci byl zaznamenán před mnoha lety, a to londýnským lékařem, Johnem Freke, který působil v nemocnici svatého Bartoloměje. V dopise pro The Royal Society of Medicine roku 1736 popsal setkání s chlapcem trpícím otoky na zádech, které vznikaly v okolí všech obratlů. *„Přišel chlapec vypadající na první pohled, jako zdravý 14letý jedinec s prosbou o to, co je třeba učinit, aby byl vyléčen ze značných otoků na zádech, které se začaly objevovat přibližně před 3 lety a na mnoha místech docházelo k jejich nárůstu“* (Kaplan *et al.*, 2008).

Od roku 1736 přispělo k rozpoznání FOP mnoho lékařů. První významný příznak, monofalangismus velkého palce na noze, byl popsán původně jako izolovaná anomálie Fränkelem v roce 1871. V roce 1879 si Helferich zaznamenal důležitou souvislost brachydaktylii palců, která je dalším charakteristickým znakem tohoto onemocnění (McKusick *et al.*, 1972).

V roce 1918 Jules Rosenstrin z nemocnice v San Franciscu napsala *„Člověk se nediví, že nemoc, která je tak matoucí ve svém průběhu od prvopočátku, až po konečný stav, by měla upozornit spekulativního i trpělivě zkoumajícího pozorovatele, aby zvedl zatemňující závoj a vyřešil tuto tajemnou hádanku“* (Rosenstirn *et al.*, 1918).

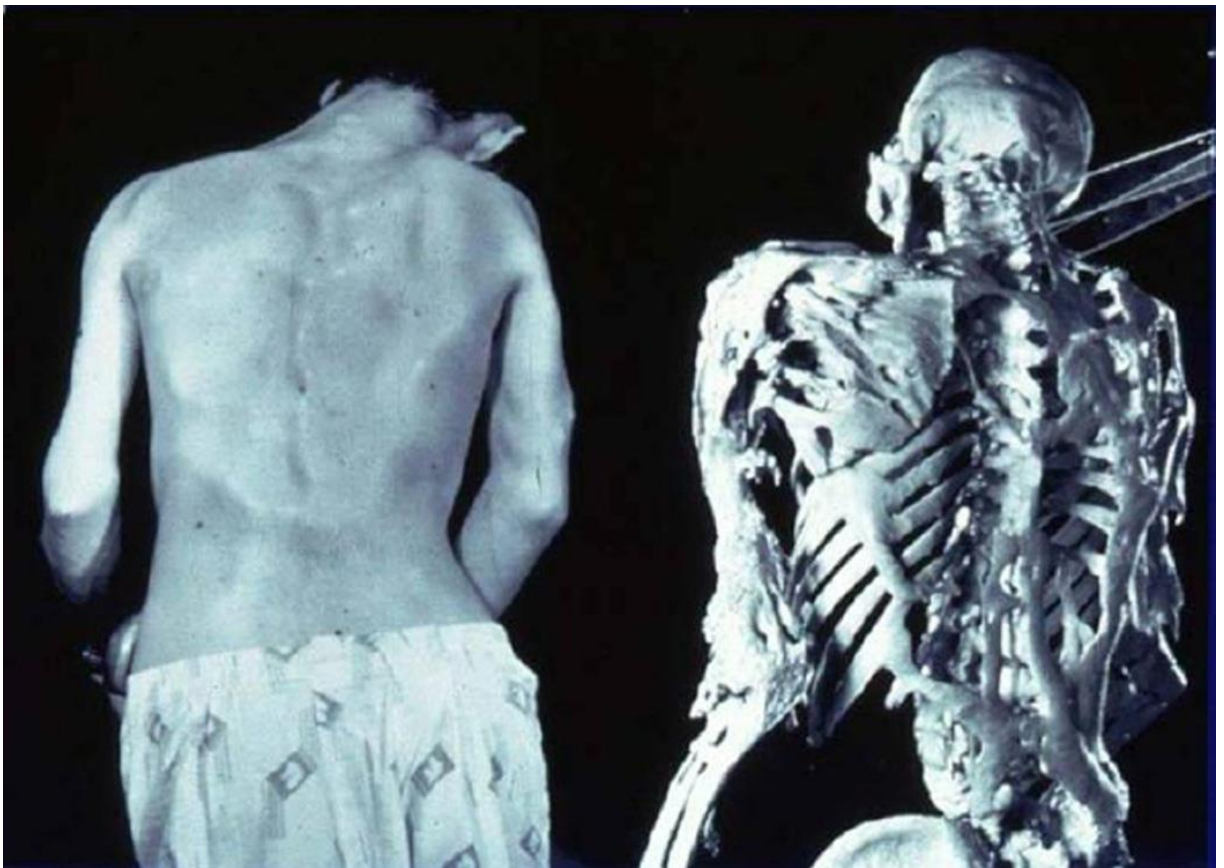
### 1.1.1 Harry Raymond Eastlack

Jedním z nejznámějších pacientů trpících FOP byl Harry R. Eastlack, který se narodil v listopadu 1933 ve Filadelfii a zemřel na pneumonii o necelých 40 let později. Kostra Harryho Eastlacka byla donedávna jedinou kostrou na světě, která dosud poskytovala značný přínos pro lékaře a vědce, kteří se touto nemocí zabývají. V pozdějším věku se právě samotný Eastlack rozhodl své tělo společně se všemi jeho lékařskými záznamy darovat muzeu, aby



lékaři a vědci mohli i v budoucích generacích zkoumat toto vzácné onemocnění. Kostra se tak stala bránou do lékařského světa a součástí řady vědeckých výzev. A ukazuje krutou realitu nemoci, o které se člověk může tímto způsobem na vlastní oči přesvědčit (Kaplan *et al.*, 2013) (viz Obrázek 1).

Běžná lidská kostra se po smrti jedince rozpadá na volné kosti. Dochází k tomu poté, co pojivová tkáň, která během života drží kosti pohromadě, zanikne. Pro vystavení koster v podobě, ve které se nacházeli za života je nutné je znovu sestavit a spojit pomocí lepidel a drátů. U kostry Eastlacka tomu tak ale nebylo. Jeho kostra byla spojena pomocí páسů heterotopických kostí, které byly formovány v důsledku tzv. vzplanutí (*flare-ups*) během atak nemoci. Jeho kostra je tedy téměř spojena do jednoho souvislého celku, který je tvořen dvěma částmi – normotopickou, tvořenou v období embryogeneze a heterotopickou, která se vytvořila v důsledku postnatálního vzplanutí FOP (Kaplan *et al.*, 2013).



Obrázek 1: Harry Raymond Eastlack a jeho kostra, na které lze vidět strnulé držení těla, které je způsobeno ankylozou krku, ramen, loktů a páteře (Převzato od Shafritz *et al.*, 1996).

FOP byla donedávna jednou z nejunikátnějších záhad medicíny. Pacienti trpí bolestivou metamorfózou postupující do progresivní imobility a dochází k celoživotnímu ovlivnění fyzické svobody. Zatímco definitivní vyléčení této nemoci není doposud možné, cíle probíhajících výzkumů v oblasti onemocnění jsou jasně definovány. Stanovit genetické, molekulární a buněčné základy FOP a použít tyto znalosti k zavedení prevence, léčby a v neposlední řadě k úplnému vyléčení nemoci (Kaplan *et al.*, 2008).

## 1.2 Datovaná historie významných událostí ve FOP

- 1692 francouzský lékař Guy Patin přišel do kontaktu s pacientem trpícím FOP, následně toto setkání zaznamenal ve svých spisech
- 1736 britský lékař John Freke podrobně popsal případ dospívajícího pacienta, u něhož se vyskytovaly otoky v oblasti zad
- 1900 nemoc začala být zmiňována jako *myositis ossificans progressiva* tedy jako stav, kdy se sval, postupně mění v kost
- 1970 oficiální úprava názvu onemocnění, a to na *fibrodysplasia ossificans progressiva*
- 1990 první studie FOP provedena doktorem Kaplanem a Zasloffem
- 2006 po 15 letech usilovného výzkumu se výzkumnému týmu FOP podařilo určit jedinou genovou mutaci (jedno písmeno ze šesti miliard v lidském genomu), způsobující neřízený růst kostí při FOP
- 2010 zkoumání neurologických příznaků u FOP doktorem Josephem Kittermanem
- 2013 výzkum FOP se stává mezinárodním a je zkoumán na 25 pracovištích. Hlavní výzkum zaměřen na vzplanutí je prováděn na Pensylvánské univerzitě
- 2014 společnost Clementia Pharmaceuticals Inc. zahajuje II fázi klinického testování palovarotenu u dospělých pacientů s FOP
- 2016 Clementia Pharmaceuticals Inc. ukončilo II fázi klinického testování palovarotenu u dospělých pacientů a zahájilo testování u dětí ve věku 6 až 14 let
- 2017 Mayo Clinic začíná přijímat pacienty pod vedením doktora Roberta Pignola. Vědci z Kjótské univerzity v Japonsku zahajují jako první klinickou studii léku identifikovaného pomocí iPSC buněk pro pacienty s FOP (*IFOPA – International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association, 2022*)

### 1.3 Výskyt nemoci

Statistiky pro Evropu uvádějí, že ve Spojeném království bylo potvrzeno 30 případů mezi přibližným počtem obyvatel činících 49 milionů, s prevalencí výskytu 0,61 % na milion obyvatel. Ve Španělsku se odhaduje výskyt 0,36 % na milion obyvatel (Morales-Piga *et al.*, 2012) Francouzské údaje uvádějí prevalenci tohoto onemocnění na 1,36 nemocného jedince na milion obyvatel. Tyto údaje jsou ve vysoké míře podobné mezinárodním (Baujat *et al.*, 2017).

V současnosti je nejvíce hlášených pacientů ve Spojených státech, kteří představují přibližně 25,6 % všech registrovaných pacientů. Dalším státem v pořadí je Čína, na kterou připadá přibližně 10,8 % registrovaných pacientů. V Brazílii je výskyt okolo 8,4 % registrovaných pacientů. V porovnání s evropskými a americkými pacienty jsou asijské pacienty mladší. I přes to, že je incidence v Číně na nízké úrovni, je vzhledem k vysokému počtu obyvatelstva počet FOP vysoký. Přestože jsou definitivní údaje pro Čínu nejasné, lze pomocí prevalence FOP odhadnout počet potenciálních pacientů. Z hlediska různé úrovně lékařského výzkumu této nemoci není zcela možné všechny pacienty zařadit do statistik (Qi *et al.*, 2017).

Studie, kterou provedl Liljesthröm a kol. ověřovala počet současného výskytu lidí žijících s FOP a jejich věkové zastoupení v populaci (Tabulka 1). Pomocí jejich studie bylo zjištěno 834 celosvětově potvrzených případů nemoci, tedy výskyt všech jedinců, kteří jsou zařazeni do národní, případně mezinárodní organizace FOP. Bylo zjištěno, že přibližná prevalence výskytu činí 0,15 % na milion obyvatel s obrovskou regionální variabilitou. Důvodem takto nízké celosvětové prevalence, a naopak vysoké regionální variability je pravděpodobně nedostatečné povědomí o FOP ve všech státech. Dalším důvodem může být nesprávná diagnóza, případně neschopnost pacientů s FOP zapojit se do mezinárodní FOP komunity, zvláště pokud se nacházejí v odlehlých či nepřístupných oblastech (Liljesthröm *et al.*, 2020).

Tabulka 1: Celosvětové zastoupení jedinců s FOP (Upraveno a převzato od Liljesthröm et al., 2020).

Věk	Počet jedinců s FOP	Procenta
0-9	97	11,6
10-19	194	23,3
20-29	209	25,1
30-39	133	15,9
40-49	89	10,7
50-59	47	5,6
60-69	13	1,6
70-79	4	0,5
Nezařazeno	48	5,8
Celkově	834	100

## 1.4 Charakteristika nemoci

FOP je velmi vzácné genetické onemocnění, u něhož dochází k ektopické tvorbě kostí v oblasti pojivové tkáně (šlachy, vazy a kosterní svaly), která je nedílnou součástí lidského těla. Celosvětový výskyt FOP se pohybuje okolo 1 postiženého jedince na 2 miliony obyvatel a není ovlivněn etnickými, rasovými ani geografickými aspekty (Meng *et al.*, 2022).

U 95 % pacientů se počáteční léze heterotopické osifikace (HO) objevují ve věku 3-5 let, jakmile dojde ke zkostnatění, je tento proces nevratný (Whyte *et al.*, 2012). Podle některých autorů je průměrná délka života u pacientů s FOP 56 let, téměř všichni jsou následně ve třetí dekádě života upoutáni na invalidní vozík s nutností celoživotní podpory při každodenních činnostech (Pignolo *et al.*, 2020). Podle databáze *CEMARA (Centres of Reference for rare diseases)* a *PMSI (medical information system programme)* je průměrný věk pacientů s FOP 25 roků, průměrný věk nástupu onemocnění 7 roků a průměrný věk v době diagnózy 10 roků (Baujat *et al.*, 2017).

Jedním z nejčastějších příznaků FOP je malformace palců u nohou při narození, která je v dnešní době nedílnou součástí včasné diagnostiky. Vlivem těchto nárůstů dochází k progresivní ztrátě pohyblivosti, malformace je doprovázena chronickými bolestivými stavy (Meng *et al.*, 2022).

Toto onemocnění lze charakterizovat třemi rysy:

- Vrozená vada palců u nohy
- HO měkkých pojivových tkání
- Progresivní osteogeneze v charakteristických anatomických vzorcích

Pacienti s onemocněním FOP mají dva skelety a to normotopický, který je postupně tvořen během embryogeneze a heterotopický, vytvářející se po narození (Mahboubi *et al.*, 2001).

Tvorba nových kostí po narození probíhá zpravidla prostřednictvím takzvaných vzplanutí (*flare-ups*), která se projevují lokální zánětlivou reakcí spouštějící chondrogenezi a osteogenezi. Kromě vzplanutí se u pacientů s FOP vyskytuje také určitá míra bazální HO. V průběhu života FOP nejprve postihuje axiální skelet (páteř a hrudník), později zasahuje apendikulární skelet (končetiny), tento průběh je však u každého pacienta individuální. Posléze toto vysoce komplexní onemocnění vede k devastujícím kontrakturám a těžkému postižení. Předčasná smrt je obvykle v důsledku syndromu hrudní insuficience, traumatu a případně také sepse (Eekhoff *et al.*, 2022). Zajímavostí je, že bránice a jazyk jsou od HO ušetřeny, stejně tak i oko, srdeční a hladké svaly (Smilde *et al.*, 2022).

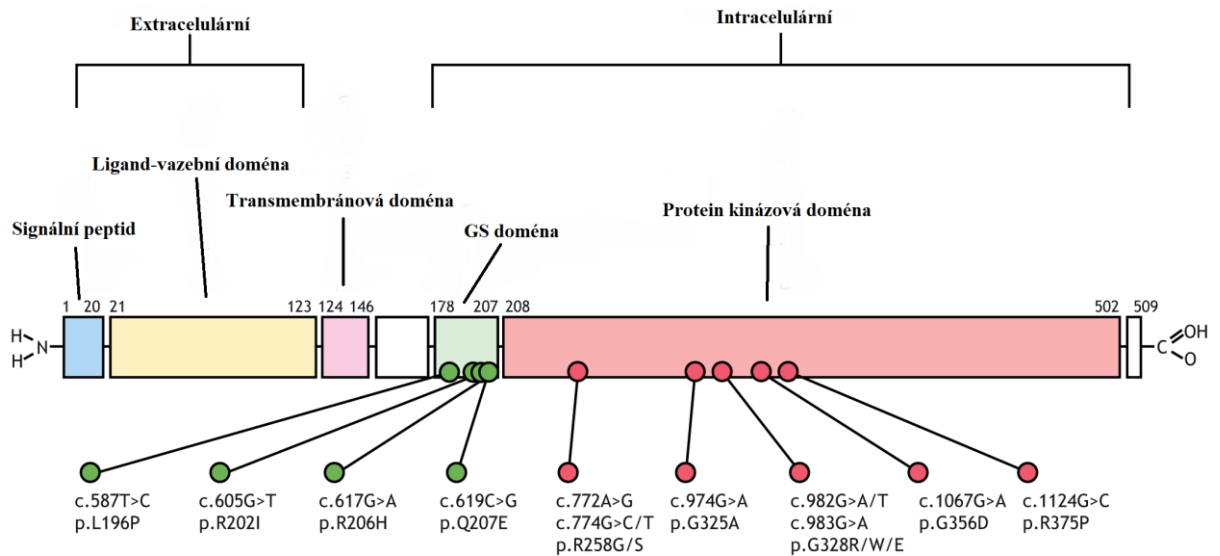
## 1.5 Etiologie nemoci

FOP je typické onemocnění, u kterého dochází k opakované mutaci genu pro receptor ACVR1 (Aktivin A receptoru typu I), který je známý také jako ALK2 (Aktivin receptor-like kinase 2). Tato mutace se nachází na 2. chromozomu a může se vyskytnout sporadicky (tj. bez předchozího výskytu v rodině), nebo může být přenášena z postižených rodičů na potomstvo. Mutace zasahuje signální dráhu BMP (kostní morfogenetické proteiny).

Gen ACVR1/ALK2 kóduje transmembránový serin/threoninový (ser/thr) kinázový receptor ALK2, který se váže spolu s BMP nacházející se v kostní matrix. Tyto BMP indukují vývoj heterotopické kosti v kosterním svalu. Ve většině případů vykazuje FOP podobnou genetickou mutaci spočívající ve změně nukleotidu na pozici 617 (guanin-adenin) v genu ACVR1/ALK2 (viz Obrázek 2).

Výsledkem této změny je substituční mutace v kodonu na pozici 206 (změna argininu za histidin) v rámci proteinu ALK2. Další mutace jsou také zaznamenány v exonech 4 až 7,

kteře jsou součástí genu ACVR1/ALK2. Tato mutace vede ke změně exprese dvou domén ser/thr kinázou a doménou bohatou na glycin/serin (GS). Obě tyto oblasti hrají důležitou roli ve vnitrobuněčné signalizaci (Agrawal *et al.*, 2023).



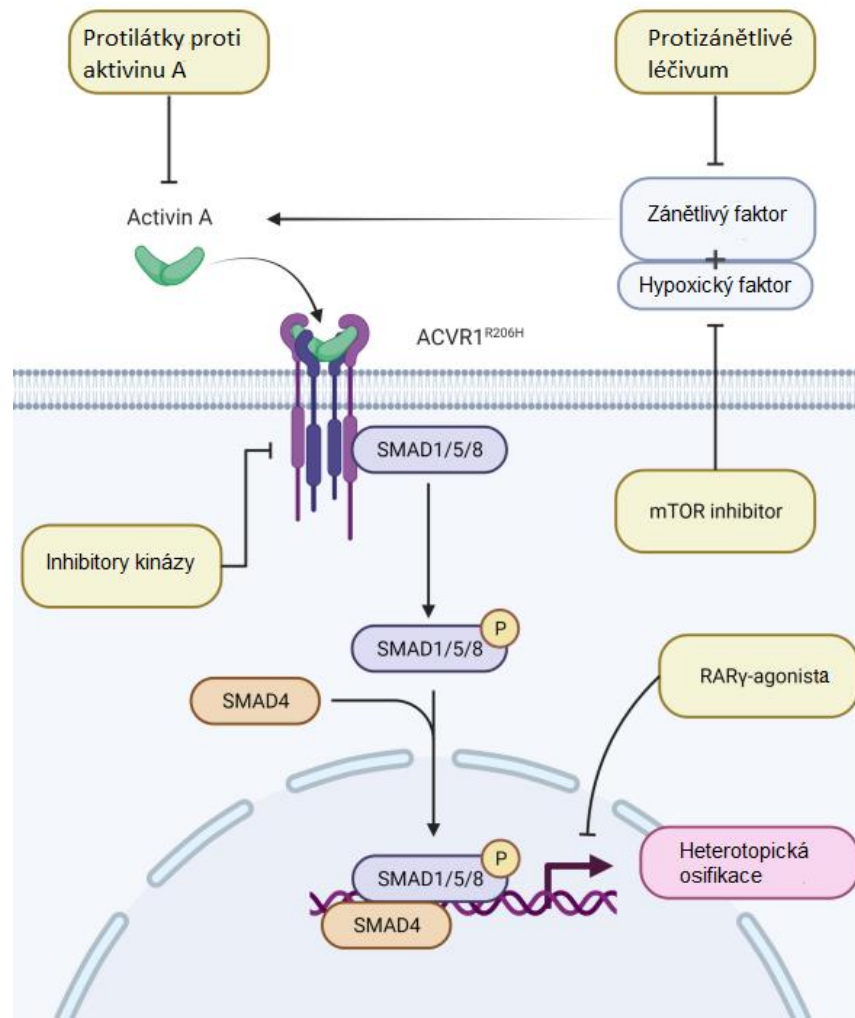
Obrázek 2: Schématické znázornění lidského ACVR1 s vyznačením domén a míst mutací (Upraveno a převzato od Kaliya-Perumal *et al.*, 2020).

## 1.6 Patofyziologie nemoci

V posledních letech došlo k značnému rozšíření znalostí o této nemoci, a to zejména díky takzvaným *causative missense mutations* (R206H) v genu ACVR1. Tato autozomálně dominantní *de novo* mutace je zodpovědná přibližně za 97 % všech případů FOP (Hatsell *et al.*, 2015). Přestože se jedná o stejnou mutaci, existují rozdíly mezi věkem nástupu a rychlosti progresu této nemoci, které zatím nemají známou příčinu.

Mutace c.617G>A (p.R206H) je značně nejrozšířenější, přesto však bylo popsáno několik dalších mutací s variantním/atypickým fenotypem, projevující se mírnými až těžšími atypickými rysy, např. cerebrálními abnormalitami a katarakty (šedým zákalem). Oba rysy jsou kódovány genem ACVR1 (Kaplan *et al.*, 2009). Mutace zodpovědná za onemocnění způsobí zesílení funkce genu ACVR1/ALK2, což způsobí zvýšenou citlivost na Aktivin A. Dále dochází k hypersensitivitě na BMP-ligandy a následné chybné signalizaci při absenci stimulace (Hatsell *et al.*, 2015). Stimulace genu ACVR1/ALK2 způsobí fosforylaci Smad1/5/9(8) a následnou aktivaci transkripčních faktorů, které se podílí na tvorbě heterotopické kosti. Celý proces však není doposud zcela pochopen, vyskytuje se u zánětu a také hypoxie, zahrnuje HIF (transkripční faktor indukovaný hypoxií), žírné buňky a několik

zánětlivých faktorů (De Ruiter *et al.*, 2021) (viz Obrázek 3). Na obrázku jsou naznačeny možné strategie léčby, o kterých bude blíže pojednáno dále.



Obrázek 3: Názna patologické cesty, která vede k heterotopické osifikaci a možné strategii léčby (Upraveno a převzato od Smilde *et al.*, 2022).

Neustálé shromažďování dat o této vzácné nemoci naznačuje, že zapojení zánětlivé složky IS (imunitního systému) hraje u FOP rozhodující roli. V brzkých stádiích jsou přítomny především makrofágy, lymfocyty a žírné buňky, vzplanutí se často dostaví po virových infekcích. Aktivaci vrozeného IS podporuje také užívání kortikosteroidů (Pignolo *et al.*, 2011).

## 1.7 Genetické aspekty

Jak již bylo zmíněno, FOP je autozomálně dominantní dědičné onemocnění, u kterého dochází k mutaci genu *ACVR1*. Tento gen dává pokyny pro tvorbu proteinu *ACVR1* a je členem rodiny proteinů nazývaných jako BMP typu I. Protein *ACVR1* je zastoupen v mnoha tkáních lidského těla, mimo jiné i v kosterním svalstvu a chrupavce. S jeho pomocí dochází k řízení růstu, vývoje kostí a svalů a také k nahrazení chrupavky kostí (osifikaci). Za fyziologického stavu probíhá tento kosterní vývoj pouze od narození po období dospělosti (*Medline Plus, 2022*).

Jelikož se jedná o autozomálně dědičné onemocnění, stačí porucha pouze jedné alely daného genu. Řada případů je způsobena také novou, prozatím neprozkoumanou mutací genu a dochází k výskytu nemoci u jedinců, kteří v rodinné anamnéze nemají žádného shodně postiženého příbuzného (*Medline Plus, 2022*). Pouze malé procento představují pacienti, kteří zdědí onemocnění od jednoho z rodičů (*Pignolo et al., 2011*).

## 1.8 Molekulární podstata

### 1.8.1 Základy k receptorům rodiny TGF- $\beta$

Z rodiny TGF- $\beta$  (transformující růstové faktory beta) je dobře známo, že BMPs mají důležitou roli při vývoji kostry, kostí a chrupavek. Rodina TGF- $\beta$  zahrnuje více jak 30 členů, kterými jsou BMPs, aktiviny, růstové a diferenciacní faktory a také samotný TGF- $\beta$ .

Členové TGF- $\beta$  byli zkoumáni pro aktivitu HO *in vivo* pomocí implantace purifikovaných, případně rekombinantních proteinů do kosterních svalů obratlovců. Několik BMPs proteinů, konkrétně BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7 a BMP-9 opravdu vyvolává HO *in vivo* (*Katagiri et al., 2016*).

U BMPs byla objevena unikátní aktivita indikující tvorbu kostí v demineralizované kostní matrix prostřednictvím endochondrální osifikace, kterou je možné vidět u dlouhých kostí během embryonálního vývoje a také při hojení zlomenin. Experimenty zacílené na geny a přirozené genetické poruchy v molekulách související se signalizací BMPs (jako jsou ligandy a receptory), napovídají, že BMPs regulují kromě kosterních tkání také vývoj různých orgánů, kterými jsou kosterní svaly, šlachy, vazy, mozek, oko, srdce, plíce, ledviny, tlusté



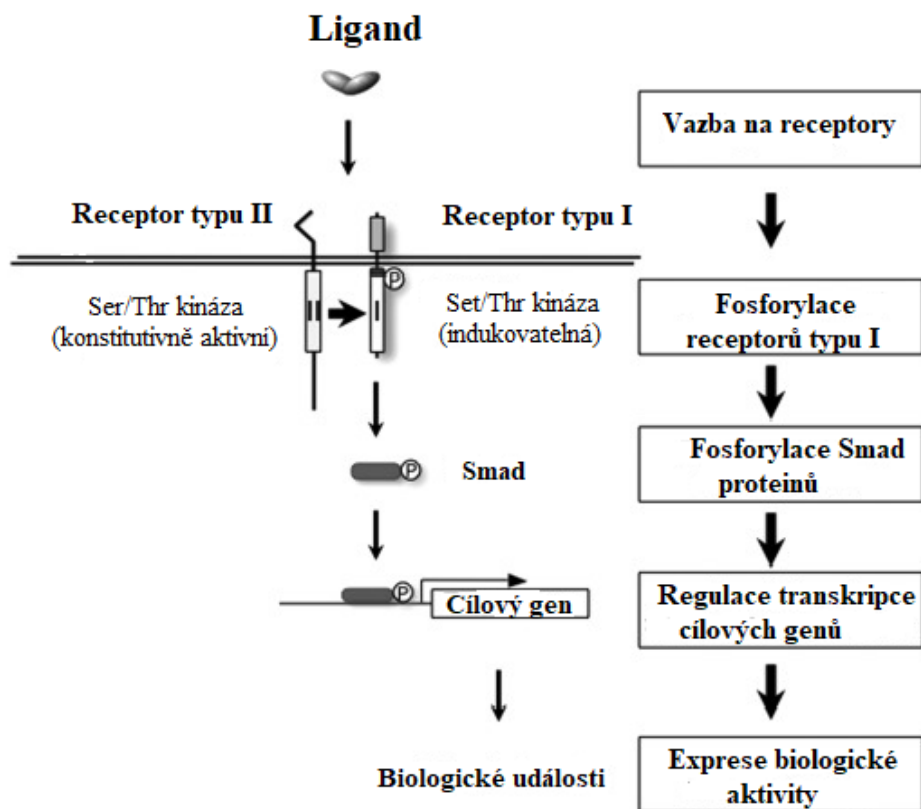
střevo a reprodukční tkáň. Tyto nalezené poznatky mají souvislost s lidskými poruchami ALK2/ACVR1 (Katagiri *et al.*, 2021).

U savců jsou zastoupeny tři typy TGF- $\beta$  a to TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 a TGF- $\beta$ 3. TGF- $\beta$  vyvolávají buněčnou odpověď vazbou na tetramerní receptorový komplex, který je složený ze dvou receptorů TGF- $\beta$  typu I (T $\beta$ RI/ALK5) a dvou receptorů typu II (T $\beta$ RII). T $\beta$ RII transfosforyluje T $\beta$ RI, což následně vede k fosforylaci receptorů Smad (R-Smads), Smad2 a Smad3 (Wu *et al.*, 2016). Tzv. R-Smads (receptorem regulovaný Smad) poté reagují s Co-Smad (common partner Smad), tedy Smad4, a přemísťují se do jádra, kde nabírají kofaktory k regulaci transkripce genů (viz Obrázek 4). Prostřednictvím nedávných studií bylo zjištěno, že TGF- $\beta$  dokáže aktivovat další skupinu R-Smad a to Smad1,5 a 8/9 pomocí vazby na ALK1 (Van der Kraan *et al.*, 2012 a Van den Bosch *et al.*, 2014).

### 1.8.1.1 Receptory typu I a II z rodiny TGF- $\beta$

U lidí je známo dvanáct příbuzných transmembránových kinázových proteinů, mimo jiné i ALK2/ACVR1, jako vazebné receptory pro ligandy rodiny TGF- $\beta$ . Jsou zařazeny do dvou podskupin, receptorů typu I a typu II, podle toho, zda je přítomen typ I nebo nepřítomen typ II charakteristického úseku (doména GS) (Muller *et al.*, 2012; Katagiri *et al.*, 2018). Sedm z dvanácti receptorů (ALK1 až ALK7) obsahuje GS doménu a jsou řazeni jako receptory typu I. Zbýlých pět receptorů (ACVR-IIA, ACVR-IIB, BMPR-II, AMHR-II a T $\beta$ R-II) postrádají GS doménu a jsou řazeni jako receptory typu II (Katagiri *et al.*, 2016 ; Salazar *et al.*, 2016).

Receptory typu I a typu II je možné rozlišit i biochemicky. Kinázová doména receptoru typu I je při nenavázání ligandu neaktivní, receptor typu II je však i bez této vazby nadále aktivní. Bioaktivní ligandy rodiny TGF- $\beta$  jsou dimerní proteiny, každý monomer má dvě vazebná místa pro receptory typu I a typu II (Martinez-Hackert *et al.*, 2021). Aktivní ligand je tedy na buněčné membráně možné zachytit dvěma receptory typu I a dvěma receptory typu II. Receptory typu II fosforylují receptory typu I v cytoplazmatické doméně (viz Obrázek 4). Bylo prokázáno, že receptory typu II fosforylují GS doménu receptorů typu I (Katagiri *et al.*, 2016). Receptory typu II fosforylují několik ser/thr zbytků v doméně GS v reakci na stimulaci ligandem. Aktivita receptorů typu I je aktivována pomocí fosforylace domény GS receptory typu II, díky fosforylaci dochází ke změně struktury uspořádání GS domény. GS má tedy funkci regulačního prvku enzymové aktivity receptorů typu I (Katagiri *et al.*, 2021).



Obrázek 4: Signální transdukce členů rodiny TGF- $\beta$ . Při navázání ligandu na receptory typu I a II, které se nachází na buněčné membráně cílových buněk. Receptor typu II fosforyluje GS doménu receptoru typu I jako substrát a aktivuje receptor typu I. Poté receptor typu I fosforyluje transkripční faktory, jako jsou Smad proteiny. Fosforylované Smad proteiny se přemístí do jádra a naváží se na specifickou sekvenci DNA, a regulují tak transkripci cílového genu (Upraveno a převzato od Fujimoto *et al.*, 2017).

### 1.8.1.2 Role receptorů typu I v ligandem indukované signální transdukci

Ligandy rodiny TGF- $\beta$  jsou součástí spousty biologických dějů, které mají svou roli v embryonálním vývoji, při udržování a regeneraci tkání a také při buněčné smrti. Na základě biologické aktivity HO *in vivo* lze ligandy rozdělit na osteogenní a neosteogenní podskupiny (Katagiri *et al.*, 2013). Osteogenní ligandy jsou vázány na ALK1, ALK2, ALK3 a ALK6 jako receptory typu I a indikují fosforylaci transkripčních faktorů Smad1 a Smad5. Oproti tomu neosteogenní ligandy jsou vázány na ALK4, ALK5 a ALK7 a aktivují Smad2 a Smad3 (Katagiri *et al.*, 2016). Receptory typu II mají rozsáhlou vazebnou kapacitu pro ligandy, narozdíl od receptorů typu I a sdílí jak osteogenní, tak neosteogenní ligandy (Katagiri *et al.*, 2018). Receptory typu I jsou tedy velmi důležité pro ligandy rodiny TGF- $\beta$  z důvodů intracelulární signalizace a biologické aktivity.

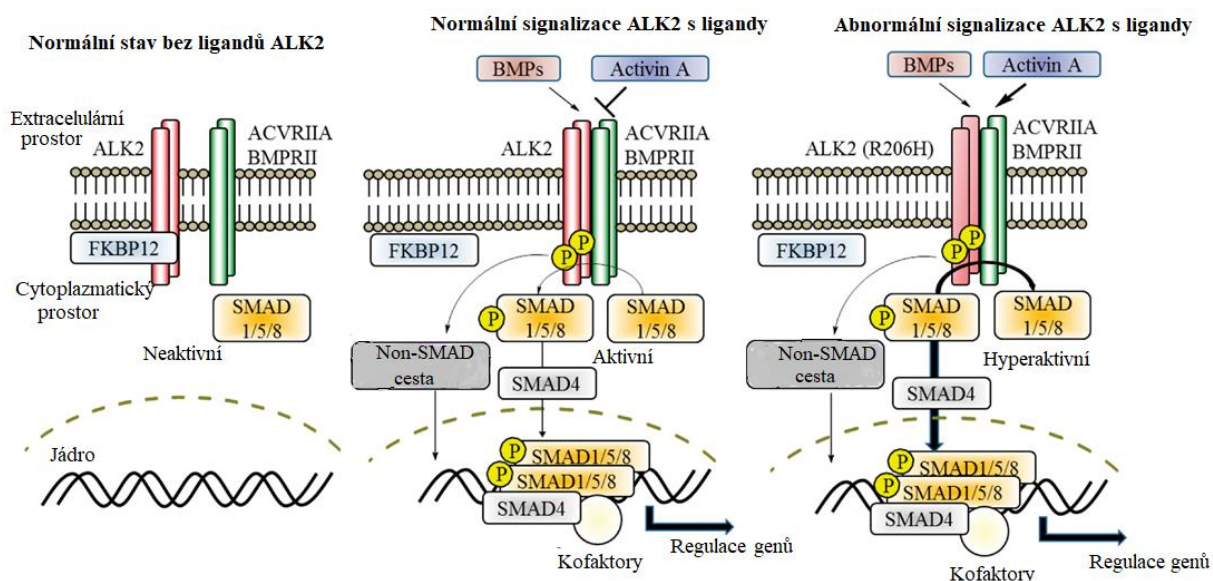
Vzhledem k důležitosti těchto receptorů typu I z rodiny TGF- $\beta$  jsou změny ve struktuře způsobené substitučními mutacemi a/nebo změnou úrovní exprese receptorů ALK2/ACVR1 zaznamenány u patologických stavů a jsou zastoupeny u mnoha kosterních poruch, tedy i u lidí trpících FOP (Katagari *et al.*, 2021).

## 1.8.2 Aktivin A

Aktivin A je dimerní protein patřící do rodiny TGF- $\beta$ . Signalizace aktivinů je tedy zprostředkována postupnými interakcemi se specifickými receptory patřících do rodiny ser/thr kináz a aktivací intracelulárních Smad proteinů. Aktivinové receptory lze rozdělit na dva typy podle jejich molekulové hmotnosti, a to jako receptory typu II (ACVRIIA a ACVRIIB) a receptory typu I (ACVR1, ACVR1B, ACVR1C) (Bloise *et al.*, 2019).

### 1.8.2.1 ACVR1/ALK2

ACVR1 se skládá ze 4 domén, jak je možno vidět na Obrázku 2. Jedná se o ligand-vazebnou doménu, transmembránovou doménu, doménu bohatou na GS a protein-kinázovou doménu. ACVR1 také obsahuje extracelulární N-koncovou doménu pro vazbu ligandu a cytoplazmatickou C-koncovou doménu (Hüning *et al.*, 2014). Protein ACVR1 je ve vhodnou dobu aktivován ligandy. K aktivaci dochází, když se ligandy (např. BMP nebo protein Aktivin A) naváží na receptor, případně proteiny, se kterými vytváří komplex (*MedlinePlus*, 2022). Doména, která je bohatá na GS hraje rozhodující roli pro vazbu a aktivaci signalizace Smad a je vazebným místem pro FKBP12 inhibiční protein, který se naváže na receptor a zabrání chybné aktivaci v nepřítomnosti ligandu (Hüning *et al.*, 2014) (viz Obrázek 5). Díky mutaci v genu ACVR1 vznikají poruchy, při kterých jsou svaly a pojivová tkáň, včetně vazů a šlach v průběhu života nahrazeny kostí. Nadbytečná aktivita receptoru má za následek přerůstání kostí a chrupavky a vznik FOP. Stejné varianty genu ACVR1, které způsobují FOP, se vyskytují i u vzácné rakoviny mozku. Zajímavostí je, že u lidí s FOP nebylo však zaznamenáno zvýšené riziko vzniku rakoviny (*MedlinePlus*, 2022).



Obrázek 5: Schématické znázornění přenosu signálu ALK2 (Upraveno a převzato od Sekimata *et al.*, 2017).

### 1.8.3 BMP a jejich signalizace

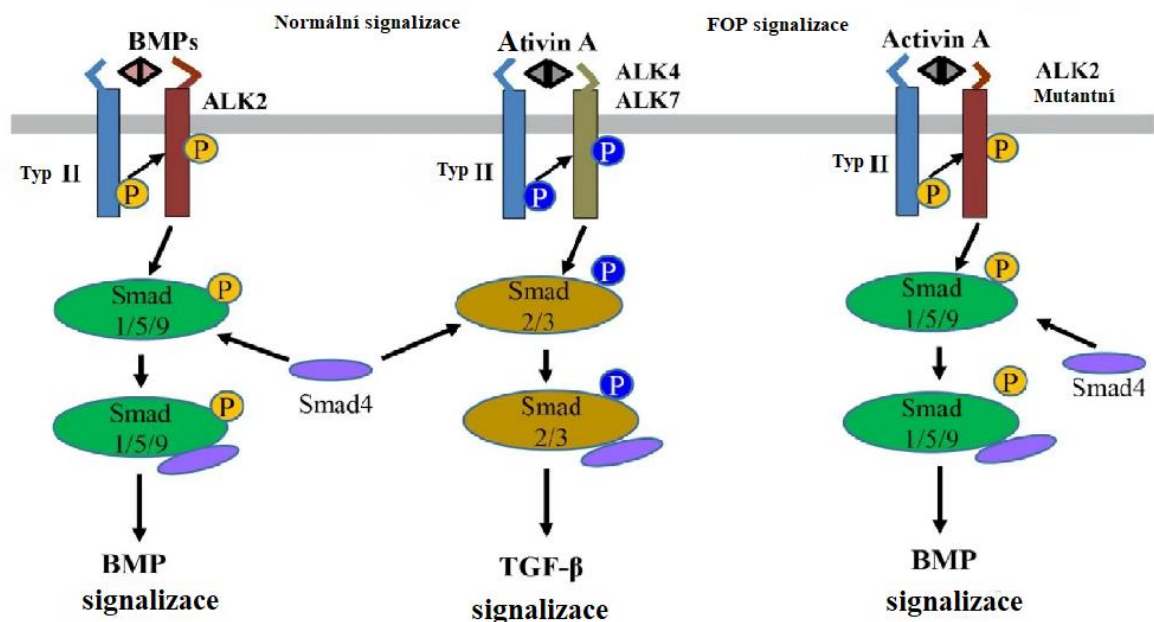
Kostní morfologický protein (také BMPs) je skupinu proteinů hrající důležitou roli v mnoha procesech během embryonálního vývoje: Jsou to jedinečné růstové faktory, které mohou vyvolat HO v měkkých tkáních, jakými jsou i kosterní svaly (Urist *et al.*, 1965). BMP spadají do skupiny TGF- $\beta$  a jsou důležitými faktory pro tvorbu kostí u mnoha obratlovců (Katagiri *et al.*, 2018).

BMP jsou tak nepostradatelnou složkou pro modelování těla a mimo jiné i pro počáteční růst končetin z mezodermy. Dále určují počet a uspořádání kostí v končetinách (Drossopoulou *et al.*, 2000). Tyto počáteční kroky ve vývoji jsou regulovány prostřednictvím komplexních interakcí s transkripčními faktory HOX a dalšími morfogeny, a jsou také důležité pro rozložení aktivity dráhy BMP v embryonálních tkáních. U obratlů, končetin a žebrech, které vznikají prostřednictvím endochondrální osifikace, se tato signalizace nachází v hojně zastoupených oblastech mezenchymálních buněk a řídí expresi chondrogenních genů, včetně hlavního transkripčního faktoru Sox9. Sox9 označuje prekurzory chondrocytů a je nepostradatelný pro produkci extracelulární matrix chrupavky a samotného zrání chondrocytů (Towler *et al.*, 2022).

Ligandy BMP jsou třídou signálních molekul a mají důležitou roli v různých biologických dějích (Gibson *et al.*, 2020). Tyto BMP ligandy mohou v rámci tetramerních komplexů vyvolat uvolnění FKBP12 a fosforylaci GS domény v ALK2 prostřednictvím

receptorů typu II a to receptorem typu IIA (ACVRIIA) a BMPRII. Při vazbě na extracelulární doménu BMP receptorů dochází za pomoci ligandů ke spuštění sekvenční fosforylační dráhy. Receptory BMP typu II aktivují receptory typu I, prostřednictvím fosforylace intracelulární domény, která je bohatá na GS receptoru typu I. Posléze fosforylované receptory typu I dále fosforylují intracelulární Smad1/5/9(8) proteiny, ty pak tvoří proteinový komplex spolu se Co-Smad (Smad4) a non-Smad signální dráhou, včetně dráhy p38 mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK) a jsou transportovány do jádra, kde mají za úkol regulovat procesy transkripce cílových genů BMP (viz Obrázek 5).

Receptory BMP typu I zahrnují čtyři členy, kterými jsou ALK1, ALK2, ALK3, ALK6 a mutovaný ALK2 (ALK2<sup>R206H</sup>), který abnormálně indikuje bazální únik BMP při nepřítomnosti BMP ligandu a také hyperaktivitu v přítomnosti BMP ligandu. Mutovaný ALK2 je možnou příčinou HO u FOP. Díky neustálému zkoumání této nemoci prokázaly nové studie, že Aktivin A abnormálně zprostředkovává signalizaci BMP, která je závislá na Smad1/5/9(8) prostřednictvím mutovaných ALK2 receptorů u FOP. Za normálního stavu přenáší Aktivin A pouze signalizaci TGF- $\beta$  pomocí ALK4 a ALK7 jako receptory typu I prostřednictvím fosforylace Smad2/3 (Sekimata *et al.*, 2020; Xu., 2023) (viz Obrázek 6).



Obrázek 6: Normální signální dráhy BMP/TGF- $\beta$  a abnormální signalizace BMP indukovaná aktivinem A prostřednictvím mutantního ALK2 ve FOP (Upraveno a převzato od Meng *et al.*, 2022).

## 2 KLINICKÉ PROJEVY NEMOCI

Děti narozené s FOP mají normální normotopický skelet, výjimkou jsou malformace palců u nohou. Tato anomálie se vyskytuje při narození u 75 % až 90 % jedinců (Kartal-Kaess *et al.*, 2010). Děti s FOP nejsou na první pohled příliš odlišné od zdravých jedinců a v mnoha případech prožívají bezstarostné dětství bez výrazného omezení pohyblivosti (Shore, 2012). Nástup onemocnění se začne obvykle projevovat okolo pátého roku života, kdy se vytváří bolestivé otoky v měkkých tkáních, které mohou být zaměňovány za nádor, u nichž se předpokládá spojitost vzniku v souvislosti s možným svalovým traumatem. Zprvu jsou léze bolestivé začervenalé, teplé a citlivé na dotek. Po několika týdnech otok ustupuje a dochází ke snížení bolesti, citlivosti a začervenaní. Po vymizení otoku zůstává pacientovi tvrdá léze bez známek citlivosti, tato léze se stává novou oblastí HO (Kaplan *et al.*, 1993). Postup osifikace je specifický, protože probíhá v charakteristických anatomických vzorcích. Zprvu lze léze zpozorovat v dorzální, axiální, kraniální a proximální části těla (směry: dozadu, páteř, hrudník, k hlavě, trupu). V průběhu rozvoje nemoci se tyto progresivní epizody HO objevují i ve ventrální, apendikulární, kaudální a také distální oblasti (směry: dopředu, od hlavy, ke končetinám) (Pignolo *et al.*, 2005). Existují i další klinické projevy, které jsou však zastoupeny mezi pacienty v různé míře. Patří sem oboustranné vrozené malformace haluxu, heterotopická osifikace a zánětlivé otoky měkkých tkání. Tyto tři projevy jsou zastoupeny téměř ve 100 % případů (viz Obrázek 7). Dalšími příznaky mohou být uzlíky na pokožce hlavy a řada dalších kosterních malformací, které zahrnují osteochondromy, spojení krční páteře, krátké a široké krčky kosti stehenní, skoliózu, malformace prstů a v nepatrném zastoupení i anomálie končetin (Kaplan *et al.*, 2021). Pacienty lze rozdělit do tří kategorií, a to na *Classic FOP*, *FOP-plus* a *Variants FOP*.

### 2.1 Jednotlivé klinické projevy

#### 2.1.1 Uzlíky na pokožce hlavy

Tyto uzlíky se běžně vyskytují už v dětském věku a často je lze zpozorovat jako prvotní poporodní nález FOP. Přesto představují jen nepatrnou součást klinických projevů a není na ně kladen tak velký diagnostický význam, i přes to, že jejich vzhled může být pro mnohé jedince alarmující. Uzlíky se mohou vyskytovat samostatně i ve shlucích, jsou

nepohyblivé a jejich velikost se pohybuje mezi velikostí vlašského ořechu až po tenisový míček. Jejich bolestivost při vzniku je u každého pacienta individuální, ne každý pacient tedy pociťuje jejich tvorbu. Jejich vznik a následná redukce je většinou spontánní, případně mohou vzniknout vlivem infekce či úrazu (Kaplan *et al.*, 2021).

Přestože jsou uzlíky jako prvotní nález často opomíjeny, nemělo by tomu tak být. Při jejich nálezů by se měl lékař zaměřit automaticky i na velikost prstů na nohou a tím urychlit případnou diagnózu FOP (Kardile *et al.*, 2012).

### **2.1.2 Kostní deformace**

Viditelné kosterní deformace jsou častým úkazem nemoci, mezi ty nejvíce viditelné patří deformace krční páteře (Shore, 2012). U pacientů dochází k rychlému rozvoji skoliózy a její postupný vývoj způsobí trvalou ztrátu pohyblivosti a poškození páteře. Těžká forma skoliózy má vliv na postavení pánve a trupu těla, dochází k ovlivnění těžiště jedince a zhoršení rovnováhy při stání a sezení (Kaplan *et al.*, 2021). Deformace dolních končetin je častější, než deformace končetin horních (Shore, 2012).

### **2.1.3 Otoky měkkých tkání**

Otoky měkkých tkání mohou vznikat spontánně i po úrazech. Jejich vznik je pro pacienty velmi bolestivý a zahrnuje otoky měkkých pojivových tkání – mimo jiné i kosterní svaly, šlachy, vazy, fascie a aponeurózy. Tyto otoky představují předzvěst vzniku HO (Kaplan *et al.*, 2021).

### **2.1.4 Heterotopická osifikace**

Vznik HO může být spontánní nebo může vyvolán v důsledku prožitého traumatu. Traumatem může být míněno očkování, pád, případně i provedený chirurgický zákrok. Předzvěstí HO jsou opakující se otoky měkkých tkání. Osifikace se může objevit na jakémkoliv místě na těle a omezit pohyblivost jedince. Velmi nepříjemná je následně osifikace v oblasti hlavy, která může zasáhnout krk i čelist. Důsledek toho jsou následné problémy s příjmem potravy a také s mluvou (Akesson *et al.*, 2020).

## 2.2 Druhy FOP

### 2.2.1 Classic FOP

Lidé, u kterých se vyskytuje *Classic FOP* mají dva charakteristické klinické rysy, kterými jsou vrozené vývojové vady palců u nohou a progresivní HO (viz Obrázek 7 A-D). U těchto pacientů je zaznamenána mutace (c.617G>A; p.R206H) v ACVR1. Dále se u pacientů mohou objevovat určité společné znaky, které zahrnují změny osteochondromu v proximální části tibie (Deirmengian *et al.*, 2008), malformace krční páteře, krátké a široké krčky stehenních kostí (viz Obrázek 7 E-H) a poruchy sluchového aparátu (Kaplan *et al.*, 2005).



Obrázek 7: Charakteristické a proměnlivé rysy FOP zaznamenány pomocí fotoaparátu a radiografie (Upraveno a převzato od Kaplan *et al.*, 2009).

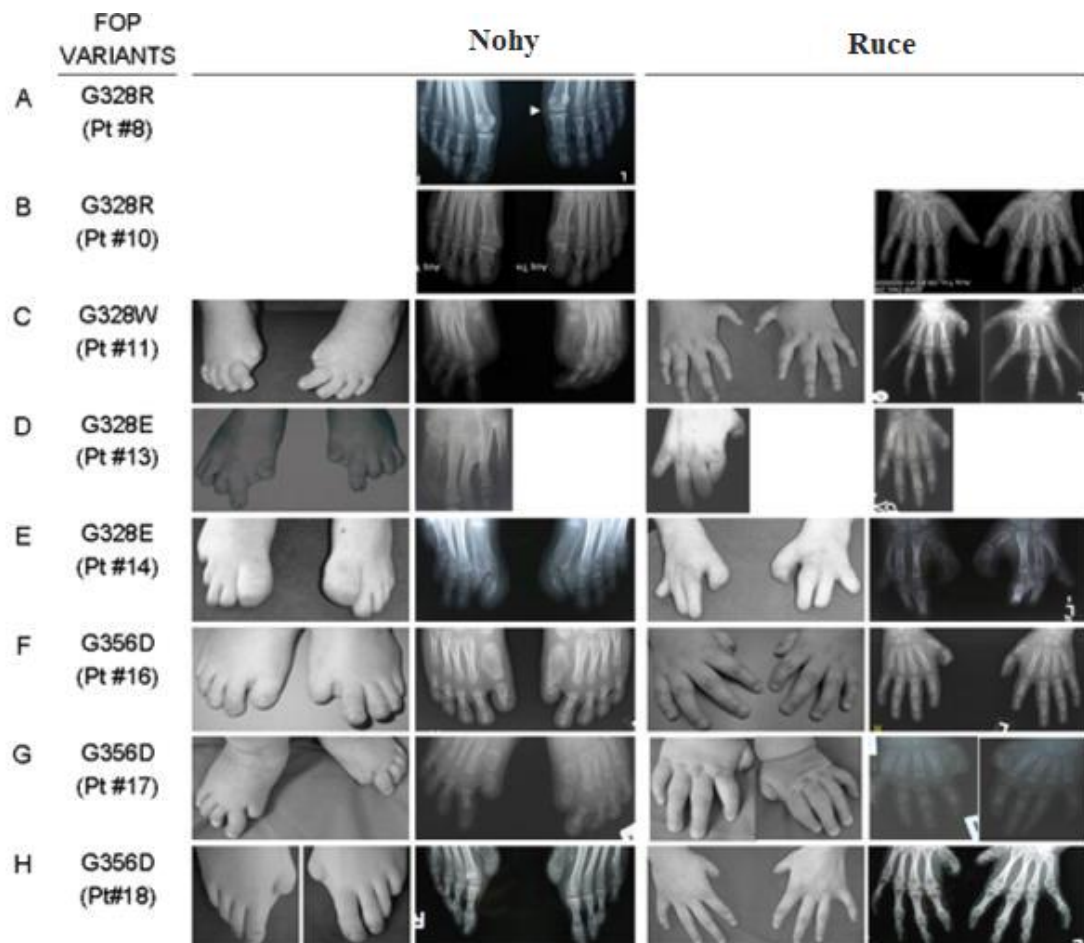


### 2.2.2 FOP-plus

U těchto lidí se vyskytuje *Classic FOP* a spolu s ní ještě alespoň jeden atypický znak (zpomalený růst, řidnutí vlasů nebo mírné kognitivní poruchy). Kromě nejvíce zastoupené mutace, mohou mít pacienti i řadu unikátních *mis-sense* mutací příkladem jsou (c.619C>G; p.Q207E a c.1067G>A; p.G356D).

### 2.2.3 Variant FOP

Tato varianta zahrnuje odchylky v jednom nebo obou klasických znacích nemoci, pacienti mohou mít palec bez morfologických změn, případně nemusí být celé články prstů přítomné (Kaplan *et al.*, 2009) (viz Obrázek 8).



Obrázek 8: Malformace Variant FOP, pacienti trpící heterozygotní mutací nacházející se v kodonu 328 (A-E) a kodonu 356 (F-H), (Upraveno a převzato od Kaplan *et al.*, 2009).

Společným znakem všech pacientů bez rozdílu výskytu *Classic FOP*, *FOP-plus* a *Variant FOP* je progresivní postnatální HO. Přesto, že nástup, rychlost progresu a míra závažnosti HO je různorodá, nachází se u pacientů s *Classic FOP* a *Variants FOP* jistá míra společných znaků závažnosti HO. Ty souvisí s ACVR1 mutacemi, které mají vliv na postnatální indukci diferenciaci chrupavčitých a kostních buněk (Kaplan *et al.*, 2009) (Tabulka 2).

Tabulka 2: Klinické nálezy a zastoupení mutací u typů FOP (Upraveno a převzato od de Brasi *et al.*, 2021).

	<b>Klinické nálezy</b>	<b>ACVR1/ALK2 Mutace</b>
<i>Classic FOP</i>	Vrozené vývojové vady palců na nohou, progresivní HO, proximální mediální tibiální osteochondromy, malformace krční páteře, poruchy sluchu, hyperkalciurie a močové kameny, porucha sluchu, alopecie, neurozobrazovací abnormality	c.617G>A (p.R206H)
<i>FOP-plus</i>	Krátké, široké krčky stehenních kostí, malformace palce	c.617G>A (p.R206H) c.619C>G (p.Q207E)
<i>Variants FOP</i>	Žádné, případně minimální změny na prstech u nohou, zelený zákal u dětí, Marfanův syndrom, kryptochismus	c.617G>A (p.R206H) c.619C>G (p.Q207E) c.605G>T (p.R202I) c.1124G>C (p.R375P)
	Malformace palce, porucha paměti a koncentrace	c.774G>C (p.R258S) c.774G>T (p.R258G)
	Opožděný nástup HO, nepřítomnost malformace palce	c.774G>C (p.R258S) c.974G>C (p.G325A)
	Závažnější malformace prstů oproti <i>Classic FOP</i> , omezená hybnost krku, ramen, hrudníku, loktů, kyčlí a interfalangeálních kloubů	c.1067G>A (p.G356D)

## 2.3 Frekvence klinických příznaků

Mezi nejvíce zastoupené klinické projevy patří abnormální morfologie obratlů, abnormalita první metatarzální kosti, ektopická osifikace ve vazivové a svalové tkáni, omezení pohyblivosti kloubů, zkrácený hallux z důvodu nedovyvinutého palce, ztuhlost páteře (a tedy neschopnost otočit krk a trup) a tvorba podkožních lézí. Mezi méně frekventované příznaky patří alopecie, absence, případně nedostatečné vyvinutí palce u nohy, dále klinodaktylie (malformace středního článku prstu) pátého prstu na ruku a respirační insuficience. V nízké míře se vyskytuje anémie, snížená hmotnost, glaukom, vbočený palec, mentální postižení, záchvaty a srůst kloubů (*Human Phenotype Ontology, 2019*). Existuje pět klinických stádií nemoci (viz Příloha 1) (Pignolo *et al.*, 2018).

## 2.4 Problémy spojené s nemocí

Problémy sluchového aparátu spojené s bolestivostí a ztrátou sluchu jsou častým problémem, který se vyskytuje mezi pacienty (Pignolo *et al.*, 2020). Kontrola nedoslýchavosti by měla být u dětí prováděna alespoň jednou za dva roky. V případě prokázání snížené schopnosti sluchu jsou doporučena ke zmírnění obtíží naslouchátka (Pignolo *et al.*, 2011). Mezi velmi frekventované problémy je řazena porucha spánku a také jeho kvalita, která se následně odráží i na psychice pacientů. Pacienty často trápí obtíže dechu, kašel a s nimi spojené infekce dýchacích cest. Dále se vyskytují bolesti v oblasti dutiny břišní a gastrointestinální obtíže spojené s refluxem a nevolností (Pignolo *et al.*, 2020). Otoky končetin jsou dalším z řady mnoha komplikací, které jsou mezi pacienty zastoupeny ve velké míře, především během akutního vzplanutí FOP (Kaplan *et al.*, 1993). V pozdějším stádiu nemoci, kdy jsou pacienti omezeni v hybnosti, je zvýšené riziko pádů, chybná manipulace s nemocným může mít za následek vznik zlomeniny (Akeson *et al.*, 2020). Zlomenina může vzniknout jak u normotického, tak i u heterotopického skeletu. V případě vzniku zlomeniny u heterotopické kosti dochází k rychlému hojení. Vznikne-li zlomenina v části normotického skeletu, je zapotřebí důkladná péče stejná jako u zdravých jedinců, tedy zafixovat porušenou kost do sádry (Kaplan *et al.*, 2021).

### 2.4.1 Kardiorespirační dysfunkce u FOP

U pacientů se může rozvinout syndrom hrudní insuficience, který představuje života ohrožující stav, neboť dochází k deformaci hrudní stěny a tím i k narušení normálního dýchání a roztažení plic. Studie, kterou provedl Kou a kol., zaznamenala, že pacienti s FOP, u kterých se vyskytuje mutace ACVR1(R206H) a přesahují věk 18 let mají zvýšený výskyt nescifických srdečních poruch. Přestože srdeční dysfunkce není považována za hlavní komplikaci nemoci, jejich studie zaznamenala drobné změny na elektrokardiografu a změny ve struktuře srdce u některých pacientů (Kou *et al.*, 2020). Konkrétní mechanismy zůstávají prozatím nejasné, přesto studie ukázala, že je ACVR1/ALK2 nepostradatelnou složkou nutnou pro normální vývoj srdce (Thomas *et al.*, 2014).

Pacienti s FOP mají podobné respirační problémy, jako pacienti po poranění míchy v oblasti krku. Velmi důležitá je tedy prevence. Pacienti se zpravidla rodí již s vrozenou vadou kostovertebrálních kloubů, které omezují správné fungování hrudníku, a to ještě před samotným nástupem HO. Proto by měl být pacient ihned po vyslechnutí diagnózy FOP poučen o dechových cvičeních, i přes to, že se u něj prozatím komplikace nevyskytly a přispět již preventivně ke zlepšení funkce plic (Kaplan *et al.*, 2021).

Předčasná úmrtí v důsledku kardiorespiračních komplikací, které způsobují pneumonie nebo syndrom hrudní insuficience jsou zaznamenána v hojně míře. Valná část pacientů, která je před smrtí v důsledku kardiorespiračního selhání hospitalizována má zvýšené hladiny oxidu uhličitého v arteriální krvi (Kaplan *et al.*, 2010).

Přestože je střední délka pacientů s tímto onemocněním snížena, existují velké rozdíly v délce života, a to i mezi jednotlivci se stejným typem mutací receptoru ACVR1/ALK2. Je tedy možné, že jiné geny v signální dráze BMP nebo jiné dráze mohou pozměnit zvýšený signální výstup mutantního receptoru a mít tak zodpovědnost za různorodost délky života u těchto pacientů (Kaplan *et al.*, 2010).

### 2.4.2 Neurologická dysfunkce

Kromě srdečních abnormalit jsou neurologické poruchy další nedostatečně probádanou oblastí, která v zásadě nemá vliv na strukturu kostry. Z tohoto důvodu Kitterman a kol. vypracovali dotazník týkající se neurologických příznaků, který vyplnilo 168 pacientů ze třiceti zemí ve věku od 1,5 do 68 let. 51 % respondentů potvrdilo, že trpí alespoň jedním

chronicko neurologickým příznakem. U žen se s přibývajícím věkem neurologické příznaky zhoršovaly, u mužů tomu bylo naopak.

Nejvíce si pacienti stěžovali na silné bolesti hlavy, ženy trpěly bolestivostí čtyřikrát více než muži. Ve srovnání s běžnou populací však nebyly hodnoty výrazně odlišné (Kitterman *et al.*, 2012).

Neuropatická bolest, vznikající po poranění nervů a nervových buněk, které jsou nezbytné pro přenos signálu do míchy, mozku a zpětně do celého těla (Costigan *et al.*, 2009) byla u pacientů s FOP oproti zdravé populaci výrazně zvýšená, především u žen. Pacienti si nejvíce stěžovali na bolesti nohou a chodidel. Dalšími sensorickými poruchami, na které si pacienti stěžovali, byly pocity necitlivosti, brnění a abnormální vnímání tepla a chladu (Kitterman *et al.*, 2012).

Jiné neurologické příznaky, jakými jsou záchvaty, poruchy pohybu a poranění mozku a míchy nebyly mezi pacienty zaznamenány. Závěry průzkumu poukazují na rozdíl vnímání bolesti mezi pohlavími včetně hormonálních, sociokulturních, psychologických a genetických faktorů. Neurologické příznaky mají tedy pravděpodobně souvislost s dysregulací signalizace BMP v centrálním a periferním nervovém systému (Kitterman *et al.*, 2012).

Pro objasnění těchto neobvyklých neurologických příznaků byly použity dva myší modely s dysregulovanou signalizací BMP významné pro FOP, zkoumány byly z důvodu potencionální patologie CNS (centrální nervové soustavy) za pomoci neinvazivní MRI (magnetické rezonance), histologie a imunohistochemických metod. U jednoho modelu byl nadměrně exprimován BMP4 v přítomnosti kontroly neuronově specifického promotoru enolázy, druhý model byl *knock-in* s *classic* FOP mutací v ACVR1. Zpětně byly vyšetřeny MRI snímky čtyř pacientů s FOP. Demyelinizační léze a fokální zánětlivé změny CNS byly u myších modelů zaznamenány, u *wild-type* kontrol ke změně nedošlo. Léze v bílé hmotě CNS měl každý ze čtyř vyšetřovaných pacientů. Je tedy možné, že dysregulovaná signalizace BMP poškozují běžnou homeostázu cílových tkání, a tedy také samotnou CNS. Fokální demyelinizace se může projevit následnými neurologickými příznaky, které jsou u pacientů často pozorovány (Kan *et al.*, 2012).

## 2.5 Prevence vzniku vzplanutí a ovlivnění života

Předcházení poranění měkkých tkání je u pacientů velmi důležité, především v útlém věku. U dětí se doporučuje snížení fyzické aktivity, aby nedocházelo k možnému vzniku zranění (Pignolo *et al.*, 2011). V posledních letech se začalo obecně doporučovat používání helem u dětí, jako prevence poranění a následného vzniku vzplanutí nemoci (Rocha da Costa *et al.*, 2023).

Při návštěvě zubního lékaře je nutná zvýšená opatrnost, neboť i při běžném ošetření může dojít k poranění měkkých tkání a trvalé ankyloze. Především při použití injekcí pro lokální znecitlivění tkáně (Luchetti *et al.*, 1996). Proto je nutné každou návštěvu lékaře pečlivě naplánovat a následně zvolit vhodné léčebné postupy. Obecně se u pacientů nedoporučují jakékoliv chirurgické zákroky, které by mohly způsobit *flare-ups* a následný vznik HO. Fujihara se svým týmem lékařů zaznamenali případ tří pacientů, u kterých byla provedena extrakce zubu z důvodu paradentózy a perikoronitidy. I když se nejednalo o akutní stav, byla zde pravděpodobnost, že by mohlo dojít ke zhoršení zánětu při neadekvátní dentální hygieně a tím zvýšit riziko vzniku *flare-ups* a HO. I přes tyto obavy extrakce proběhla a následné hojení rány bylo bez obtíží a k vzniku HO nedošlo (Fujihara *et al.*, 2022).

Prevence zranění může být dosaženo pomocí snížení aktivity a zabezpečení domácnosti: Zajistit podpůrná madla, především jsou-li v domácnosti schody, odstranit koberec a prahy u dveří, které by v pozdějším stádiu nemoci, kdy je pacient na vozíku omezovaly jeho pohyb. Vhodné jsou také zdravotnické pomůcky, jakými jsou chodítka, případně berle, které zlepšují stabilitu chůze a tím i samotnou rovnováhu.

I přes veškerá opatření není možné, aby se pacienti vyvarovali všem pádům a nelze jejich fyzickou svobodu zcela omezit. Dojde-li k pádu a následnému poranění hlavy, je nutné neprodleně vyhledat lékařskou pomoc (Kaplan *et al.*, 2021).

Komplikace, se kterou se mohou potkat jak pacienti s FOP, tak i samotný lékařský personál je celková anestezie. Ta je u těchto pacientů velice nebezpečná. Je nezbytné se řídit pokyny a postupy, které byly pro toto onemocnění vytvořeny (Kaplan *et al.*, 2021). Nadměrné roztažení čelisti při intubaci může vést k traumatu a posléze způsobit vzplanutí nemoci. Obecně u starších pacientů, u kterých je již čelistní kloub ankyloidní a není tedy možnost dostatečně otevřít ústa je orální intubace neproveditelná. U pacientů s FOP je obecně

doporučeno provádět anestezii prostřednictvím nazální intubace, a to za bdělého stavu jen pod lehkou sedací (Kaplan *et al.*, 2021).

Kvalita života s FOP je v mnohém ovlivněna sníženou mobilitou a také bolestmi. Studie provedená Ortiz-Agapito a kol., která zahrnovala 8 dospělých pacientů s FOP, zaznamenala velmi nízkou úroveň kvality života. Zejména u pacientů na invalidním vozíku a těch, kteří jsou odkázaní na pomoc druhých, a to jak při péči o sebe, tak i při transportu. S přibývajícím věkem pacientů dochází ke snížení fyzické svobody. Nelze říci, že by bylo možné považovat tyto jedince za nezávislé na pomoci druhých. Bolest je dalším aspektem, který zhoršuje kvalitu života u pacientů s FOP, jak v aktivní fázi onemocnění, tak také po vymizení příznaků. Přestože onemocnění činí pacienty téměř nehybné a způsobuje bolestné stavy, vykazují pacienti dobré emocionální zdraví, nižší hodnoty byly zaznamenány jen u vyšetření duševního zdraví. Velmi zajímavá je i skutečnost, že žádný pacient z jejich studie nepodstupoval psychologickou nebo psychiatrickou léčbu ve snaze vyrovnat se svým onemocněním (Ortiz-Agapito *et al.*, 2015).

Vhodné je také užívání různých vitamínových doplňků, u pacientů je častý hlavně nedostatek vitamínu D, zejména pokud tráví čas z důvodu imobility ve vnitřních prostorách. Stejně tak by se měl podávat i vápník, o kterém jsou ale vedeny mylné domněnky, že by jeho užívání mohlo vést k zhoršení HO (Kaplan *et al.*, 2021).

V pozdějším stádiu, kdy nemoc plně zasahuje do činností každodenního života, je důležité, aby pacienti prožívali co možná nejvíce komfortní a plnohodnotný život. To však přináší řadu komplikací, neboť oblékání, péče o tělo, koupání a pohyblivost, stejně tak i vzdělání a vykonávání povolání jsou v mnohém omezeny (Levy *et al.*, 2005). Stejně tomu je i v oblasti osobního života, který je u těchto pacientů značně zkomplikovaný.

### **2.5.1 Rehabilitační péče**

S postupem nemoci dochází k přibývání heterotopické kosti, což má za následek omezení pohybu, a nakonec vede k téměř úplné nehybnosti. Rehabilitační péče je tedy důležitou složkou pro zachování pohybu, podporu nezávislosti a umožnění aktivit v každodenním životě. Je žádoucí, aby se na optimálním rehabilitačním plánu podílelo co nejvíce odborníků. Rehabilitační postupy a zákroky je možné obecně rozdělit na obnovující a kompenzační. Obnovující rehabilitace slouží ke znovuosvojení dovedností a schopností, které

byly ztraceny po prodělání úrazu a nepoužívání končetin v případě chorobného procesu. Kompenzační rehabilitace slouží k nahrazení již osvojených dovedností, které není možno stejným způsobem nadále používat (Levy *et al.*, 2005).

U onemocnění FOP jsou téměř všechny postupy a zákroky kompenzační. Ergoterapeutické zásahy jsou proto nezbytné, tím, jak nemoc postupně narušuje hybnost pacienta je zapotřebí přistoupit k alternativním metodám pro vykonávání dané každodenní činnosti. Takovými příklady může být oblékání, toaleta, koupání a péče o tělo, kdy existuje řada doporučení a zdravotnických pomůcek, které tyto činnosti v mnohém napomohou usnadnit (Levy *et al.*, 2005).

Některé rehabilitační léčebné postupy lze provádět i v domácích podmínkách. Vodní terapie umožňuje pacientům provést rozsah pohybu, kardiopulmonální a odporové cvičení v relativně bezpečném prostředí s nízkou zátěží (Levy *et al.*, 2005). Teplá voda umožní pacientům relaxovat a zmírnit bolest (Rocha da Costa *et al.*, 2023).

Iontoforéza spočívá v zavádění lokálně aplikovaných fyziologicky aktivních iontů, kterými jsou například kyselina octová a steroidy, přes pokožku prostřednictvím kontinuálního stejnosměrného proudu. Neoficiální zprávy poukazují na to, že iontoforéza kyselinou octovou může pomoci s částečnou obnovou rozsahu pohybu temporomandibulárního kloubu u FOP (Levy *et al.*, 2005).

## 2.5.2 Vzdělávání a práce

Dokud nedojde k progresivní ztrátě pohyblivosti, musí pacienti počítat s tím, že na ně mohou být kladeny nároky jako na zdravé jedince. Pacienti jsou v důsledku progresu nemoci nutni přizpůsobovat zaměstnání aktuálnímu zdravotnímu stavu. Ve škole mají pacienti s FOP možnost individuálního vzdělávacího plánu. Děti mohou navštěvovat logopeda a další řadu odborníků, kteří jim pomohou se začleněním do kolektivu. V případě potřeby jim je přidělen třídní asistent (Levy *et al.*, 2005). FOP neovlivňuje inteligenci ani kognitivní schopnosti pacientů s *classic* FOP, mnozí si ve škole vedou velmi dobře a dále rozvíjí své studijní úspěchy nebo mají úspěšnou kariéru. U pacientů s variantními formami FOP se oproti pacientům s klasickou formou vyskytují poruchy učení a určitá míra neurologických odlišností (IFOPA – *International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association*, 2017).



### 2.5.3 Těhotenství

Rozhodnutí pořídit si dítě je jedním z nejdůležitějších a nejzávažnějších životních rozhodnutí, které může jednotlivec i pár s FOP učinit. Jelikož je FOP dědičné onemocnění, každá žena i muž mohou svou mutaci předat potomkovi. Pokud má pacient FOP, existuje 50 % pravděpodobnost zdědění onemocnění. Především u žen je nutno zvážit rizika spojená s těhotenstvím. Mimo běžných rizik, se kterými se může setkat každá žena během těhotenství, mají ženy s FOP další rizika, která musí být pečlivě zvážena. Přestože je těhotenství u FOP vzácné, není vyloučeno, že žena s FOP donosí v pořádku dítě (Mugulu *et al.*, 2012).

Těhotenství a následný porod představuje řadu života ohrožujících komplikací, které mohou nastat jak pro matku, tak i pro samotného potomka. FOP má vliv na dýchání již v druhé polovině těhotenství a omezuje tak pohyb hrudníku. Stává se tak v důsledku vývojových anomálií a progresivní HO v oblasti hrudních svalů a břišní stěny (Kaplan *et al.*, 2021).

Přestože je velmi málo údajů o těhotenství žen s FOP, jedním z počátečních rizik těhotenství je potrat, případně riziko předčasného porodu. Dalším rizikem, které představuje komplikace, je tromboembolie (Mugulu *et al.*, 2012). Kromě rizik pro matku s FOP představuje těhotenství i zvýšené riziko pro samotný plod, u kterého je 50 % riziko nedonošenosti, nedostatečného prostoru v děloze a komplikace z případně nutné celkové anestezie. Jedním z typických rizik u těhotných žen s FOP je vzplanutí během těhotenství (Kaplan *et al.*, 2021).

Pokud dojde k narození dítěte s onemocněním FOP, je zde života ohrožující riziko jak pro matku, tak i pro samotné dítě. Dále je třeba také myslet na samotné schopnosti matky v péči o svého potomka, které jsou díky jejímu onemocnění omezeny (Kaplan *et al.*, 2021).

## 3 VÝVOJ KOSTRY U FOP

### 3.1 Kostra

Kostra dospělého člověka zahrnuje 213 kostí, přičemž kosti sezamské, tedy drobné kosti ve šlachách v tomto počtu nejsou zahrnuty. Každá kost prochází během života pravidelnou modelací, která jí napomáhá k přizpůsobení se měnícím se biomechanickým silám a remodelací, při které je odstraňována stará mikrodestrukčně poškozená kost. Následně nahrazena novou, mechanicky odolnější kostí, která napomáhá zachovat pevnost (Clarke *et al.*, 2008).

### 3.2 Kost

Kost plní mechanickou a homeostatickou funkci, slouží k ochraně vnitřních orgánů, umožňuje pohyb a přenášení zátěže a je také domovem kostní dřeně a zásobárnou pro udržení homeostázy vápníku (Chan *et al.*, 2002). Jde o strukturu skládající se z anorganických a organických minerálních krystalů, extracelulární organické matrix, buněk, lipidů a vody (Boskey *et al.*, 2010). Tvorba kosti, nebo-li osteogeneze, případně osifikace, je několikastupňový proces, jehož cílem je tvorba zralé mineralizované kosti prostřednictvím diferenciací progenitorových buněk (Gilbert *et al.*, 2000).

Kost je tedy mineralizovaná pojivová tkáň vznikající pomocí důkladně připravené šablony skeletu v období embryogeneze. Klouby, které umožňují pohyb a pružnost jsou ponechány nemineralizované. Zásah do tohoto několikastupňového procesu může mít za následek buď zvýšení či snížení počtu kostí nebo změny jejich původního tvaru a uspořádání (Towler *et al.*, 2022).

### 3.3 Osifikace

Existují dva typy osifikace, a to intramembranózní a endochondrální, přičemž oba tyto typy jsou časově a prostorově regulovány (Setiawati *et al.*, 2019). Osifikace začíná prostřednictvím kondenzace mezenchymálních buněk, které se diferencují v chrupavčité prekurzory, a vytvářejí předlohu pro následnou diferenciaci osteoblastů a mineralizovanou kost (Towler *et al.*, 2022).

Při normální endochondrální osifikaci se kost vytváří z kousků hyalinní chrupavky, která postupně podléhá změnám, dochází k její degradaci a postupnému nahrazování kostní tkání. U intramembranózní kosti jsou mezenchymální buňky diferenciovány z preosteoblastů na osteoblasty. Tento samotný proces vede ke změnám, které je možné morfologicky rozlišit do několika oblastí:

- Zóna normální chrupavky, kde je hyalinní chrupavka bez viditelných změn
- Oblast serózní chrupavky, kde probíhá dělení chondrocytů a tvoření paralelních sloupců zploštělých buněk
- Zóna hypertrofické chrupavky, zde se vyskytují chondrocyty a ukládají se zde lipidy a glykogen
- Zóna kalcifikované chrupavky, kde dochází k odumírání chondrocytů a k mineralizaci chrupavky
- Zóna osifikace, kde krevní kapiláry vychází z periostu a prochází skrz dutiny po odumřelých chondrocytech

Diferenciace osteoprogeniterních buněk probíhá v osteoblastech, ty vytvářejí souvislou vrstvu na zbytku kalcifikované matrix chrupavky. Zde osteoblasty ukládají kostní matrix, dochází ke kalcifikaci a k následnému zachycení buňky, která se mění v osteocyt (Shapiro *et al.*, 2008).

Enochondrální osifikace je proces, během kterého dochází k formování mnoha kosterních prvků, jakými jsou např. obratle nebo kosti končetin. Tento proces přetrvává po dobu fetálního a postnatálního období do úplné kosterní zralosti (Campbell, 2020).

Intramembranózní osifikace je proces, během kterého vznikají ploché kosti lebky, většina kostí obličeje, dolní čelist nebo i klíční kost. Kost je tvořena přímo z diferenciováných kondenzovaných mezenchymálních buněk (Towler *et al.*, 2022).

Za normálních okolností je tvorba kosti omezena na prenatální vývoj a na postnatální opravu skeletu (Dey *et al.*, 2017). K vytvoření kosti mimo fyziologické pole působnosti může dojít v důsledku reakce na těžká traumata či při přítomnosti specifické genetické mutace, jako je tomu u FOP. Mimoskeletální kostní uspořádání nebo HO mohou být vytvořeny prostřednictvím endochondrální a intramembranózní osifikace. Při změně obvyklých mechanismů dochází k HO, která ovlivňuje tkáňovou homeostázu a umožní diferenciaci

buněk v chrupavku, případně v kost v oblasti měkkých pojivových tkáních, tedy ve svalech, šlachách nebo v tuku (Towler *et al.*, 2022).

### 3.3.1 Anomálie normotického skeletu

Zatímco pro FOP je nejvíce charakteristická malformace palců u nohou, která je obvykle prvním viditelným příznakem onemocnění, vyskytují se i další vývojové vady. Velmi častým příznakem jsou již zmiňované anomálie krční páteře. Ztuhlost v oblasti krku je u většiny pacientů časným nálezem, který může předcházet vzniku HO. V důsledku ztuhlosti krční páteře mají jedinci již v dětském věku problémy s plazením. Charakteristické anomálie krční páteře, při kterých dochází k významným změnám v postavení držení těla, jsou způsobeny spojením faset mezi obratly C2 a C7. Přestože se krční páteř velmi často stává ankyloidní již v raném věku jedince, i při nepatrném pohybu může dojít k bolestivosti (Schaffer *et al.*, 2005).

### 3.3.2 Vývoj embryonálního skeletu

O prenatálních účincích ACVR1 působících na lidskou kostru toho prozatím není mnoho známo, nicméně díky použití ultrazvuku lze pozorovat typický fenotyp FOP u palce na noze (Maftai *et al.*, 2015). Tyto deformace jsou nejnáze pozorovatelnými kosterními vadami. Anomálie jsou zapříčiněny mutací ACVR1<sup>R206H</sup> již během embryonálního vývoje a je tedy možné je pozorovat i u novorozenců s FOP. Klíčovou roli při tvorbě a diferenciaci mezenchymálních buněčných kondenzací, které jsou prekurzory kosterních elementů, hraje signalizace BMP. Zajímavostí je i to, že palec u nohy je jedním z posledních kosterních prvků, které jsou formovány během embryogeneze (Shore, 2012).

Díky geneticky upraveným myším modelům, které exprimují ACVR1<sup>R206H</sup> je možné napodobit malformaci prstů a poskytnout tak předlohu pro vývoj kostry, což není možné pouhým klinickým pozorováním zjistit. Myší *knock-in* model s mozaikovou expresí ACVR1<sup>R206H</sup> dokáže velmi dobře napodobit klíčové rysy FOP včetně malformace palce na zadní končetině a HO (Chakkalakal *et al.*, 2012). Pomocí myšího modelu od Chakkalakala a kol. se podařilo zjistit, že zárodečný přenos mutace FOP je u univerzálního *knock-in* modelu embryonálně latentní. K tomu byla použita podmíněná *knock-in* myš, která exprimovala ACVR1<sup>R206H/+</sup> v mezenchymálních kmenových buňkách u končetiny a byl pozorován vliv

mutace na kosterní vývoj (Chakkalakal *et al.*, 2016). Po narození bylo možné u myši ACVR1<sup>R206H/+</sup> zaznamenat deformace prstů a končetin a následně rozvoj HO po několika dnech od narození (Chakkalakal *et al.*, 2012; Chakkalakal *et al.*, 2016).

### 3.4 Heterotopická osifikace

HO je tvorba kosti mimo kosterní systém. Tento patologický proces se může vyskytnout v místech, jako je kůže, podkoží, kosterní svalstvo a vazivová tkáň přiléhající ke kloubům. Kost se může vytvářet podél stěn cév a ve vazech (Boström *et al.*, 1993). Tento patologický proces by neměl být zaměňován s metastatickou kalcifikací, která se vyskytuje u hyperkalcémie a také s dystrofickou kalcifikací vyskytující se při chorobných změnách tkání, které vznikají v důsledku nádorového bujení (Shehab *et al.*, 2002).

Příležitostně se kost může vytvářet i v intraabdominálních místech, jakými je např. mezenterium. V patogenezi heterotopické kosti jsou nezbytné čtyři faktory. Prvotně musí existovat událost, která HO vyvolá. Tou bývá obvykle úraz, jehož výsledkem je hematoma. Trauma sestává z několika natržených svalových, případně kolagenních vláken. Druhým faktorem je existující signál z místa poranění, tímto signálem dochází pravděpodobně k vylučování proteinu buňkami poraněné tkáně. Dále musí existovat zásoba mezenchymálních buněk, u nichž není genetický aparát plně funkční. Při vhodném signálu dochází k aktivaci genů, které kódují syntézu osteoidu a chondroidu a způsobí diferenciaci mezenchymových buněk v osteoblasty nebo chondroblasty. K heterotopické tvorbě kosti může dojít na kterémkoliv místě v těle, kde se tyto nekompletní mezenchymální buňky nacházejí. Mezi tato místa patří kosterní sval, perivaskulární tkáň a fibrózní tkáň. Posledním faktorem je nutná existence vhodného prostředí, příznivého pro pokračování tvorby heterotopické kosti (McCarthy *et al.*, 2005).

HO je možno rozdělit na získanou a dědičnou. Získaná HO je způsobena poškozením nervového a kosterního svalstva, dědičná HO se týká FOP a POH (progresivní kostní heteroplazie). FOP je způsobeno genetickými mutacemi v genu ACVR1, zahrnuje endochondrální osifikaci a následně dochází ke vzniku ektopické kosti (Hino *et al.*, 2015). Oproti tomu POH je zapříčiněna ztrátou funkce genu GNAS a zahrnuje tvorbu kosti prostřednictvím intramembranózní osifikace (Xu Ruoshi *et al.*, 2018).

Zahájení tvorby ektopické kosti v blízkosti místa poranění je vyvoláno poškozením kosterního svalstva, tvorba ektopické kosti mimo místo poranění je vyvolána poraněním nervového systému (Huang *et al.*, 2020).

Jako odpověď na těžké trauma vzniká v měkkých tkáních adaptivní hypoxie mikroprostředí a ta následně iniciuje vznik HO (Agrawal *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016). V místě poranění dochází k nástupu velkého množství zánětlivých buněk a k uvolnění cytokinů souvisejících s ektopickou osifikací. Ty podporují proliferaci chondrocytů, mineralizaci extracelulární matrix chrupavky a diferenciaci osteoblastů, až nakonec dojde k nahrazení chrupavkovčité tkáně ektopickou kostí. (Lin *et al.*, 2010; Peterson *et al.*, 2014).

Tkáňové biopsie u pacientů s FOP ukázaly, že v počátečních stádiích HO dochází v místě vzniku k velkému proniknutí buněk imunitního systému a následně ke značné fibroproliferaci buněk, nejprve chondrocytů, poté osteoblastů (Gannon *et al.*, 2001). Tyto stádia heterotopické endochondrální osifikace se vyskytují také u ACVR1 *knock-in* myších modelů (Chakkalakal *et al.*, 2012; Convente *et al.*, 2018).

### 3.4.1 Hypoxie a HO

Nezbytným prvkem pro organismus je kyslík, který je základním zdrojem energie pro buněčný metabolismus a udržování biologických aktivit organismu. Je transportován krví po celém těle (Zhang *et al.*, 2017). I za fyziologického stavu se hypoxie nachází v mnoha tkáních lidského těla. Příčinou hypoxického mikroprostředí je ucpání systolických cév v důsledku uvolnění zánětlivých mediátorů, jejichž uvolnění je způsobeno těžkými traumaty. Následkem traumatu dochází k poruše prokrvení tkání a k nedostatečnému transportu kyslíku do celého těla (Eltzschig *et al.*, 2011). Účinnost hypoxie zprostředkovávají mechanismy závislé/nezávislé na HIF (hypoxii indukovaný faktor). Dráha, která není závislá na HIF způsobuje změny především ve fosforylaci proteinů. Jelikož je HIF transkripční faktor, tak dráha, která je závislá na HIF, reguluje expresi navazujících genů a tím reguluje i další biologické procesy v organismu (Bensaid *et al.*, 2019).

Molekulární reakce na hypoxii je řízena prostřednictvím rodiny heterodimerů HIF. Z rodiny HIF proteinů rozeznáváme transkripční faktory skládající se z podjednotek HIF-1 $\alpha$  a

HIF-1 $\beta$ . Beta podjednotky jsou konstitutivně exprimovány a jsou stabilní. Alfa podjednotky jsou citlivé na kyslík a při hypoxii jsou cíleně degradovány (Marxen *et al.*, 2004).

Vzplanutí FOP je úzce spjato se zánětem (Kaplan *et al.*, 2008), který je známou příčinou tkáňové hypoxie (Eltzschig *et al.*, 2011).

U traumatu vyvolaného HO dochází u pacientů s FOP k hypoxii. Ta ovlivňuje především receptor typu 1 ACVR1 (mutantní). Studie provedené (Dizon *et al.*, 2011; Tseng *et al.*, 2010) ukázaly, že pomocí hypoxie dochází ke stimulaci kyslíkových sensorů. Následkem tohoto procesu se zvýší regulace HIF-1 $\alpha$ , dochází k endocytóze a k inhibici degradace receptorů proteinových kináz, které se nachází na povrchu buněk. Tyto účinky vedou k zadržení většího množství mutantního ACVR1 (mACVR1) na buněčné membráně, což má za následek prodloužení aktivace BMP a zvýšení jejich účinku.

Studie, kterou provedl Wang a kol., ověřovala hypotézu zánětlivého mikroprostředí časných lézí u FOP (zda je toto prostředí hypotoxické). Dalším předpokladem hypotézy byla detekce molekulárního kyslíku během hypoxie, která může ovlivnit BMP u FOP tím, že stimuluje retenci mutantního ACVR1. Pro ověření hypotézy byly hodnoceny časné myší a lidské léze FOP pro důkaz tkáňové hypoxie a stabilizace HIF-1 $\alpha$ . Následně byl zkoumán vliv hypoxie na aktivitu ACVR1 (R206H). Jejich studie ukázala, že buňky z lézí FOP v lidském a myším modelu prokazují výrazný nedostatek kyslíku, tedy že hypoxie spouští molekulární alarm, který je řízený proteinem HIF-1 $\alpha$ . Zajímavostí je, že HIF-1 $\alpha$  zesiluje zmutovanou signalizaci BMP v buňkách, kde není dostatek kyslíku a dochází tak ke stimulaci HO, což vede k abnormální metamorfóze svalů a k jejich následné přeměně na kost. Když tým vědců vyřadil buněčný alarm HIF-1 $\alpha$ , signalizace BMP v lidských kostních progenitorových buňkách FOP byla obnovena na úroveň srovnatelnou s buňkami v normálním kyslíku. Tato úprava snížila rozvoj HO a z ní vyplývající postižení u myšího modelu s FOP (Wang *et al.*, 2016).

### 3.4.2 *Flare-ups* ve FOP

Vzplanutí neboli *flare-ups* jsou způsobeny lokalizovanými zánětlivými otoky měkkých tkání: Tyto otoky jsou pro většinu pacientů velmi bolestivé a mnohdy způsobují ztrátu pohyblivosti kloubů, hlavně v závislosti na místě a rozsahu vzplanutí. Projevují se ztuhlostí, teplem a zarudnutím místa zánětu. Jsou zaznamenány případy, kdy došlo ke

vzplanutí bez známých příčin, přesto ale převažují případy, kdy je vzplanutí způsobeno fyzickým traumatem. Tím se rozumí drobné úrazy, virová onemocnění, přetěžování a protahování. U většiny pacientů dochází ke vzplanutí během dvou dnů od projevu prvních symptomů. V průzkumné studii provedené Pignolem a jeho týmem byla intramuskulární imunizace identifikována jako příčina okamžitého vzplanutí u 25 % případů, následkem toho došlo k tvorbě kosti u 84 % respondentů (Pignolo *et al.*, 2016).

Jak již bylo dříve zmíněno i drobná traumata, ke kterým může dojít v průběhu zubních výkonů nebo neodborné venepunkce mohou způsobit vzplanutí (Connor *et al.*, 1982). Procedury způsobující zátěž, jakými jsou biopsie zduřených měkkých tkání a chirurgické odstranění heterotopické kosti nejsou u pacientů s FOP doporučeny. V důsledku odstranění heterotopické kosti dochází k rychlému a velice bolestivému růstu nové kosti. Ze zjištěných údajů od pacientů vzplanutí odeznívají do 8 týdnů od prvotních projevů, výjimkou jsou oblasti zad a kyčlí, kde tato vzplanutí mohou být přítomna i delší dobu (Pignolo *et al.*, 2016). Malé procento pacientů s FOP zaznamená úplné vymizení příznaků bez jakékoliv ztráty pohyblivosti, přesto pouze 50 % vzplanutí způsobí HO (Kannu *et al.*, 2021).



## 4 DIAGNOSTICKÉ METODY A MONITORING NEMOCI

Přestože lze diagnózu FOP stanovit na základě 2 klinických příznaků, kterými jsou malformace palců a progresivní HO (Kitterman *et al.*, 2005), je v dnešní době dbáno hlavně na stanovení diagnózy pomocí zjištění DNA sekvence, která definitivně potvrdí diagnózu.

Včasná diagnostika je klíčovým faktorem pro odhalení této vzácné nemoci. Díky malé prevalenci nemoci ji však lékaři často opomíjejí. Více jak 90 % pacientů si zpočátku vyslechne chybnou diagnózu (Qi, *et al.*, 2017). Poté, co lékař stanoví chybnou diagnózu, je pacient mnohdy poslán na chirurgický zákrok, kde je mu v domněnání zlepšení kvality života odstraněna ektopická kost. Následkem invazivního zákroku je u pacienta vyvoláno trauma a dochází k rapidnímu zhoršení tvorby HO v místě chirurgického zákroku (Smilde *et al.*, 2022). Děti podstupují zbytečně biopsie, které jim zhoršují mobilitu. Nebezpečná může být hlavně biopsie v oblasti krku, zad a čelisti, kde může dojít k rychlému rozvoji HO. Následně dochází k deformaci páteře, hrudní insuficienci a k progresivní ankylóze čelistního kloubu. Pacienti mají poté omezenou hybnost čelisti a příjem potravy se začne stávat velmi obtížný (Pignolo *et al.*, 2013).

### 4.1 Rentgenové vyšetření (RTG)

Rentgenové vyšetření je základní diagnostická metoda, která dokáže odhalit malformace a osifikace měkkých tkání. Tato metoda bývá často využita jako první z důvodu nízkých nákladů, dostupnosti a dobré průkaznosti kostních abnormalit (Piotto *et al.*, 2021). Pomocí RTG snímků je následně možné pozorovat změny ve struktuře kostry lidského těla a také rozsah tvorby ektopické kosti u již diagnostikovaných pacientů (Al-Salmi *et al.*, 2014).

Nevýhodou RTG vyšetření je neschopnost odhalit léze v počátečním stádiu vzplanutí, ještě před tím, než dojde k samotné HO (Piotto *et al.*, 2021).

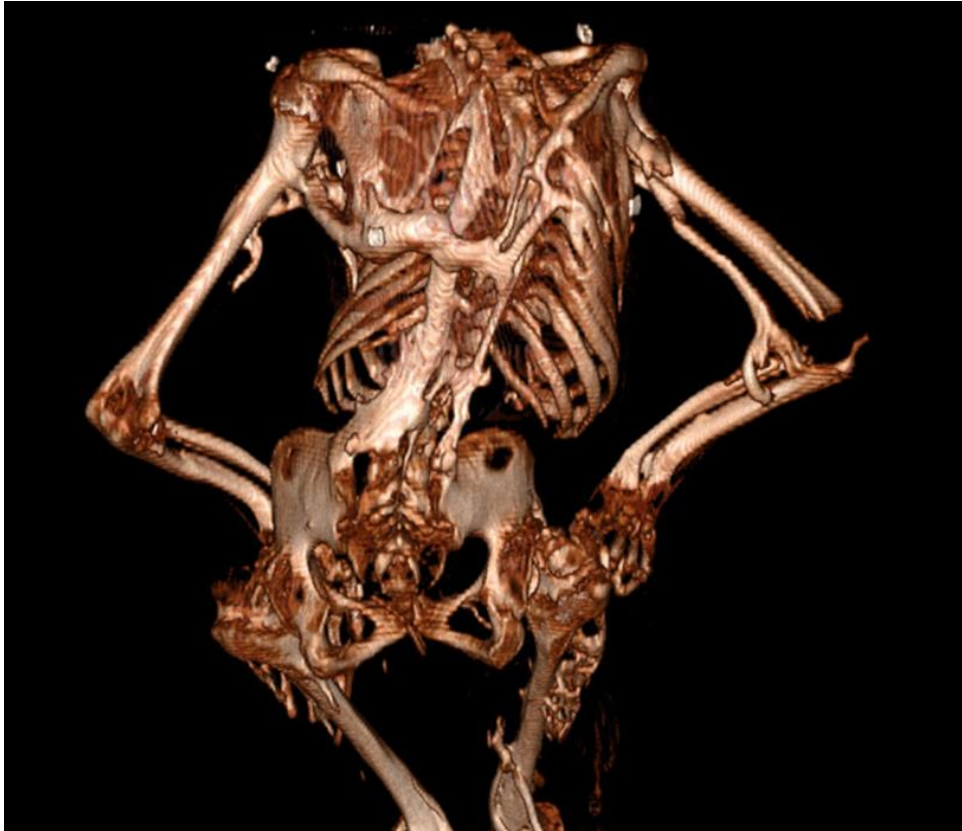
### 4.2 Magnetická rezonance (MRI)

Přestože se MRI k časně diagnostice FOP rutinně nepoužívá, stala se velmi dobrým pomocníkem monitorování průběhu nemoci, jelikož dokáže odhalit otoky měkkých tkání, edémy a také včasné detekovat léze, které ostatní přístrojová technika neodhalí (Al

Mukaddam *et al.*, 2018). Při vyšetření je pacient položen na speciální lůžko a zavezen do kruhového tunelu, kde je vystaven působení magnetického pole (National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering, 2013). Velkou nevýhodou je nutnost sedace, případně podání celkové anestezie, pacient se totiž nesmí po dobu vyšetření pohnout. Další nevýhodou je i tvar samotného přístroje, vezmeme-li v potaz progresi nemoci, a tedy i celkovou změnu postavení těla, pro pacienty může být obtížné se vejít do přístroje (Al Mukaddam *et al.*, 2018). Komplikací vyšetření může být i stísněný prostor, do kterého jsou pacienti během vyšetření vkládáni, obzvláště trpí-li klaustrofobií (Piotto *et al.*, 2021).

### **4.3 Počítačová tomografie (CT)**

Počítačová tomografie poskytuje oproti MRI kvalitnější rozlišení postavení kostí, a tedy i lepší přehled v progresi formování HO (Piotto *et al.*, 2021) (viz Obrázek 9). Princip spočívá v otáčení rentgenových paprsků kolem osy těla. Vzniklý obraz je převeden do počítače a tvoří řezy tkání (*National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering*, 2022). Výhodou je také schopnost rekonstrukce trojrozměrného obrazu (Piotto *et al.*, 2021), samotné vyšetření bývá oproti MRI rychlejší a pacienti ho obecně lépe tolerují. Nevýhodou tohoto vyšetření je neschopnost odhalit kost, která se teprve vytváří a není dostatečně kalcifikována. Při CT se využívá ionizujícímu záření, které je pro organismus škodlivé (Al Mukaddam *et al.*, 2018).



Obrázek 9: Zobrazení kostry FOP pomocí CT, kde je možné vidět výraznou osifikaci a nepřírozené postavení těla (Smilde *et al.*, 2022).

#### 4.4 Zobrazení v nukleární medicíně

Scintigrafie skeletu je užitečnou volbou pro lokalizaci HO ještě před tím, než je možné detekovat změny pomocí rentgenu. Třífázová scintigrafie skeletu s použitím radionuklidu technicium-99m methylen-difosfonátu ( $^{99m}\text{Tc-MDP}$ ) dokáže zobrazit HO až 4-6 týdnů předtím, než je osifikace viditelná na RTG (Drane, 1984). Přesto využití scintigrafie v časné diagnostice vzplanutí FOP nebylo doposud dostatečně probádáno. V nedávno provedené studii za použití  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  nedošlo u aktivních příznaků vzplanutí (fokální bolest, otok) k zachycení radionuklidu před samotným vznikem HO. Scintigrafie skeletu pomocí  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  se tedy nejeví jako dostatečně citlivá metoda pro stanovení časného vzplanutí nemoci (Zhang *et al.*, 2013).

## 4.5 Pozitronová emisní tomografie – počítačová tomografie (PET-CT)

Toto vyšetření umožňuje funkční (PET) a morfologické (CT) zobrazení vzplanutí. Za použití fluorodeoxyglukózy (FDG) v PET/CT je možné prokázat zvýšené vychytávání FDG. To poukazuje na metabolickou aktivitu v osifikujících i neosifikujících lézích. Toto vyšetření by mohlo přispět k včasné diagnóze spolu s RTG (Kulwin *et al.*, 2009).

S použitím [<sup>18</sup>F] fluoridu sodného (NaF), které je dalším využívaným radiofarmakem, je možné identifikovat míru osifikace během vzplanutí a odhalit asymptomatické chronické stádium FOP (Botman *et al.*, 2020).

Přestože jsou scintigrafie a PET/CT schopné identifikovat vzplanutí nemoci, není doposud známá jejich schopnost předpovědět formování HO a sledovat tak samotný průběh nemoci (Mukaddam *et al.*, 2018).

## 4.6 Ultrasonografie

Ultrasonografie je elektronická technologie využívající odrazu vysokofrekvenčních zvukových pulzů pro vytvoření obrazu (Whitworth *et al.*, 2015).

Vyšetření pomocí ultrazvuku nevystavuje pacienty možnému ionizujícímu záření, je široce dostupné, levné a jeho použití je relativně rychlé a pro pacienty dobře snesitelné. Díky tomuto vyšetření dokáže lékař pozorovat zóny kalcifikace ještě před jejich objevením na rentgenových snímcích a také hodnotit zánětlivé fáze otoků měkkých tkání při časném vzplanutí (Lee *et al.*, 2016).

Za pomoci ultrazvukové techniky je možné podat pacientům injekce do podkoží a sledovat tak průnik jehly do tkání. Díky této technice se pacienti mohou vyhnout možným nežádoucím účinkům, a tedy i následnému vzniku osifikace (Schober *et al.*, 2009). Malformace palců dolních končetin, které jsou typické pro toto onemocnění je díky ultrazvuku možné zpozorovat již v děloze matky (Maftai *et al.*, 2015).

## 4.7 Histopatologie

Histopatologické vyšetření je další z řady diagnostických metod, nejvíce však zatěžuje pacienta z důvodu možného vzplanutí nemoci v místě odběru bioptického vzorku (Tian *et al.*, 2018). Histopatologické nálezy zobrazující počáteční stadia časných lézí FOP obsahují intenzivní mononukleární buňky, monocyty, makrofágy, žírné buňky a B- a T- lymfocyty. Po prodělání zánětlivé fáze následuje intenzivní fibroproliferativní fáze spojená s angiogenezí a neovaskularitou (Pignolo *et al.*, 2013). Tyto nálezy jsou viditelné u odebraných bioptických vzorků při stanovování diagnózy (Tian *et al.*, 2018; Mwende *et al.*, 2021).

## 4.8 Laboratorní testy

Velkou nevýhodou, a tedy i komplikací pro správné stanovení diagnózy jsou laboratorní vyšetření, které bývají bez klinických změn a nepřinášejí často podstatné informace o možném onemocnění. Laboratorní krevní testy: močovina, elektrolyty, kreatinin, jaterní enzymy, C-reaktivní protein a parathormon bývají v rozmezí normálních hodnot, aktivita alkalické fosfatázy v séru a rychlost sedimentace erytrocytů (ESR) mohou vykazovat zvýšené hodnoty, zejména během vzplanutí nemoci (Pignolo *et al.* 2013; Tian *et al.*, 2018; Mwende *et al.*, 2021; Elamin *et al.*, 2022).

Přestože se C-reaktivní protein jeví jako specifitější test oproti ESR pro monitorování zánětlivé fáze HO po poranění míchy, u FOP nebyly tyto poznatky studovány. Hladiny fibroblastového růstového faktoru v moči mohou vykazovat v průběhu vzplanutí zvýšené hodnoty a shodují se s časnými fibroproliferativními lézemi, které je možno vidět po histopatologickém vyšetření (Pignolo *et al.*, 2013). Zvýšený počet osteoprogeniterních buněk byl zaznamenán během počátečních vzplanutí nemoci. Doposud však nebyly identifikovány spolehlivé biomarkery, které by napomohly k diagnóze (Kaplan *et al.*, 2021).

#### 4.8.1 Monitorování vzorků krve

Vzorky krve odebrané u pacientů, u kterých již byla stanovena diagnóza FOP, vykazují zvýšené hodnoty prozánětlivých interleukinů, a to i přes nepřítomnost vzplanutí nemoci. Je tedy velmi pravděpodobné, že jedinci s FOP jsou v neustálém prozánětlivém stavu. Monocyty získané od pacientů vykazovaly při stimulaci lipopolysacharidem prodlouženou a zvýšenou sekreci cytokinů, chemokinů a prodlouženou aktivaci nukleárního faktoru NF- $\kappa$ B. Přesto, že bylo zkoumáno značné množství zánětlivých, chondrogenních a osteogenních kostních markerů, není doposud možné prokázat jejich souvislost s aktivitou onemocnění a zcela předpovědět vznik HO (de Ruitter *et al.*, 2021).

She a kol. ověřovali hladinu osteokalcinu v souvislosti s úmrtností pacientů s FOP. Zjistili, že hladina osteokalcinu v séru má negativní prognózu především u pacientů do 18 let. Jejich studie naznačuje, že sérová hladina osteokalcinu, je možným prediktorem úmrtnosti u pacientů s FOP. Osteokalcin je nekolagenní bílkovina v kosti, je používána převážně jako biomarker tvorby kosti a její hodnoty se mění s věkem (She *et al.*, 2020).

Pignolo a kol. provedli identifikaci několika biomarkerů, které mají úzkou souvislost s onemocněním a vzplanutím, a to jak u chronických prozánětlivých, tak akutních zánětlivých stavů. Zaznamenali, že adiponektin (podílející se na hypoxii, zánětu a HO) a tenascin-C (endogenní aktivátor vrozené imunitní signalizace prostřednictvím cesty TLR4 a substrátu pro kalikrein-7) korelovaly s genotypem FOP, kalikrein-7 koreloval pouze s akutním vzplanutím nemoci. Jejich studie naznačuje, že kalikrein-7 vykazuje snížené hodnoty při akutním vzplanutí, a tedy to, že prozánětlivá aktivita TLR4 je možná hyperaktivována při akutním stavu vzplanutí, který se překrývá s chronickým zánětlivým stavem (Pignolo *et al.*, 2022).

Nedávná klinická a laboratorní pozorování jasně poukazují na vrozený imunitní systém, který vyvolává vzplanutí v důsledku dysregulace signalizace BMP ve FOP. Wang a kol. zjistili, že zánětlivé podněty aktivují expresi TLR (*toll-like receptor*) v progeniterových buňkách pojivové tkáně, a že signalizace TLR4 zesiluje signalizaci dráhy BMP prostřednictvím mechanismů závislých i nezávislých na ligandu. Podstatné je, že ECSIT (evolučně konzervovaný signální meziprodukt v toll dráze) začleňuje TLR4 do poškozené signalizace s dysregulovanou signalizací ACVR1 u progeniterových buněk pojivové tkáně ve FOP. Tím poskytuje kritické zapojení do buněčné autonomní intergrace signálů o poškození z

vrozeného imunitního systému, který má dysregulované signální odezvy prostřednictvím signální dráhy BMP (Wang *et al.*, 2018).

#### **4.8.2 Monitorování vzorků slin**

Odběr slin je neinvazivní metodou zisku biologického materiálu od pacientů s FOP, který nezatěžuje pacienty tak moc, jako odběr krve a nezpůsobuje případná rizika, která s ním jsou spojena.

Nedávné studie ukázaly, že sliny obsahují řadu molekulárních analytů, které mohou být užitečným ukazatelem lokálních a systémových poruch. Studie provedená Sung Hsieh a kol. ověřovala slinné cytokiny pro diagnostiku traumatem vyvolané a genetické HO. Jejich myší model nevykazoval výrazně zvýšené hodnoty prozánětlivých cytokinů v souvislosti s tvorbou ektopické kosti. Pouze hladina MCP-1 (monocytární chemotaktický protein-1) vykazovala zvýšené hodnoty 1 týden po tenotomii (přerušení šlachy) po popálení oproti myším, které byly pouze popálené. MCP-1 je indukovatelný prozánětlivý chemokin, který stimuluje chemotaxi monocytů a dalších zánětlivých buněk do místa poranění. I přes malé množství biologického materiálu ukázala tato studie jedinečné lokální a systémové zánětlivé stavy spojené s tvorbou HO (Sung Hsieh *et al.*, 2017).

## 5 MODEL Y NEMOCI

V posledních letech došlo díky usilovnému zkoumání k identifikaci možných terapeutických cílů, které sezaměřují jak na onemocnění, tak i na samotný vznik HO.

Onemocnění FOP je pro vědce velmi komplikované, hlavně z hlediska odběru živé tkáně pro účely studie mechanismů nemoci. I drobné trauma, případně infekce, může způsobit otok tkáně a následný vznik HO. Dalším problémem je také doposud neúplná znalost typů progenitorových buněk vyskytujících se ve FOP.

V současné době jsou pro studium FOP modelů využívány především myší buňky, *knockout* myši a indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC) (Qi *et al.*, 2017; de Ruiter *et al.*, 2021).

Tyto zvířecí a buněčné modely lidských genetických onemocnění mají obecně zásadní roli pro ověření přesných genetických příčin daných nemocí. Dále mají nepostradatelný význam pro pochopení buněčných a molekulárních mechanismů patologických stavů a jsou obzvláště důležité pro prevenci nemoci a léčebné strategie (Kaplan *et al.*, 2012).

Ještě před samotným objevením mutací v ACVR1 u pacientů s FOP byla zaznamenána odlišná signalizační aktivita BMP u těchto jedinců (Gannon *et al.*, 1997; Viridi *et al.*, 1999).

Poté, co došlo k objevení samotného genu ACVR1, který zapříčiňuje vznik FOP, byly vyvinuty modely *in vitro*. V těchto modelech byly ALK2<sup>R206H</sup> a další méně časté mutantní receptory nadměrně exprimovány, a to jak stabilně, tak přechodně. Díky těmto experimentům bylo prokázáno, že mutace v intracelulární GS doméně, případně kinázové doméně ALK2 způsobí, že je receptor nezávislý na ligandu a je konstitutivně aktivní (Ventura *et al.*, 2021).

Pro zkoumání chybných mechanismů ACVR1/ALK2 si vědci zvolili různé buněčné modely, ve všech výsledcích však nedosáhli stejného závěru. Za pomoci vektorů obsahujících ACVR1/ALK2, které byly transfektovány do buněk U-2OS, MC3T3-E1 a C2C12, byly hladiny exprese Smad1/5/8(9) odlišné. Navíc je kromě procesu transfekce možné, že i typ buňky může za rozdíly v expresi odpovídat (Qi *et al.*, 2017).



## 5.1 Myší modely

Pro studijní modely jsou používány myši, u kterých je knockoutovaný gen ACVR1/ALK2, přičemž většina myší má fenotyp FOP (*Chakkalakal et al.*, 2016). Důvodem vyřazení genu u myší jsou aktivační mutace ALK2, které jsou pro ně smrtelné během embryonálního vývoje (*de Rooter et al.*, 2021).

Díky tomu, že se u pacientů s FOP vyskytuje endochondrální osifikace se vědci rozhodli zaměřit své studie na buňky podobné chondrocytům. Diferenciace myších embryonálních fibroblastů na chondrocyty ukázala, že ACVR1/ALK2 je klíčovým faktorem chondrogenese. Embryonální fibroblasty, které mají původ z myších mezenchymálních buněk, lze získat z hlavy a končetin myších embryí. Buněčná linie chondrocytů potkana (ATDC5) exprimující BMP byla za použití luciferázy využita pro screening léčiv. Za použití diferenciačního média se mohou buňky při kultivaci přeměnit ve zralé chondrocyty. Poté se dle intenzity fluorescence rozlišují léčiva, která dokáží snížit odpověď na gen ACVR1/ALK2 (*Qi et al.*, 2017).

Přestože myší buňky a samotné myši udělaly velký pokrok v pozorování nemoci, nedokáží dopodrobna splnit experimentální potřeby výzkumu. Je tomu z důvodu určitých mezidruhových rozdílů, které mezi sebou lidé a myši mají (*Hatsell et al.*, 2015).

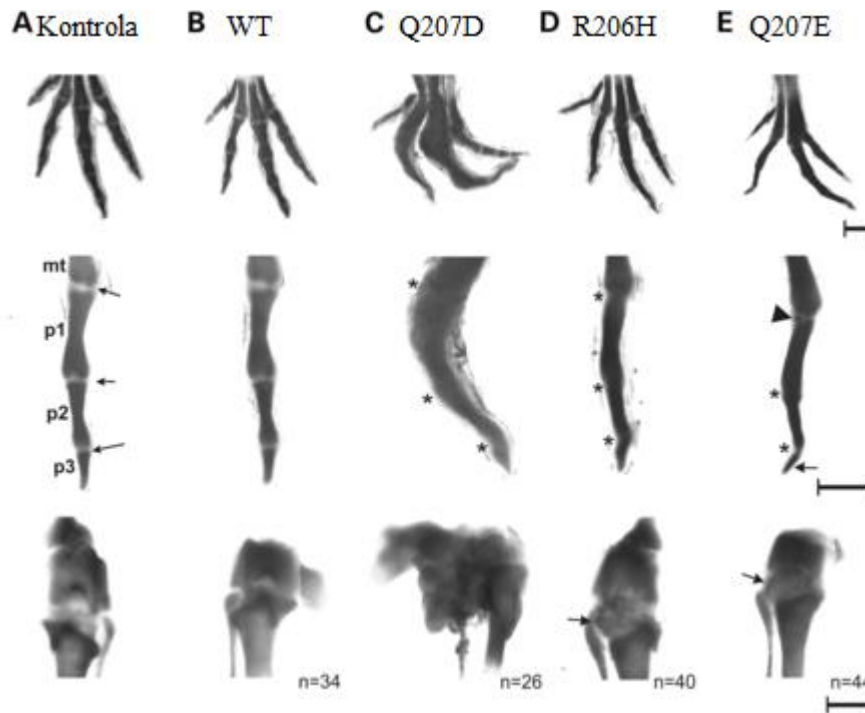
## 5.2 Model ovocné mušky

Od objevení genu ACVR1 se vědci zaměřili na výzkum ovocných mušek a jejich roli ve tvorbě tetramerních komplexů BMP receptorů. Pomocí modelu s klasickou mutací R206H bylo možné prokázat nadměrnou aktivaci signalizace BMP, která je závislá na receptoru typu II prostřednictvím ALK2<sup>R206H</sup> a nezávislá na ligandu (*LaBonty et al.*, 2018).

## 5.3 Kuřecí modely

Poté, co došlo k identifikaci FOP pacientů s variantní mutací ACVR1<sup>Q207E</sup>, u kterých byl pouze klasický fenotyp, se vědci rozhodli studovat tuto mutaci spolu s klasickou ACVR1<sup>R206H</sup> a uměle vytvořenou ACVR1<sup>Q207D</sup> mutací, která zatím nebyla u lidí zjištěna. Následně byl zkoumán jejich vliv na vývoj končetin. Tyto tři mutace se nachází v těsné blízkosti GS domény ACVR1. Nadměrná exprese ALK2<sup>Q207E</sup> a ALK2<sup>R206H</sup> v končetinách

kuřat vedla k fenotypu podobnému FOP. U modelů došlo ke spojení kostí v kloubu a k vytvoření celistvé kosti, stejně jako k tvorbě ektopické chrupavky. Nadměrná exprese  $ALK2^{Q207D}$  výrazně ovlivnila fenotypy podobné FOP a vedla k závažným malformacím skeletu a masivní tvorbě ektopických lézí (Haupt *et al.*, 2014) (viz Obrázek 10).



Obrázek 10: Znárodnění změn končetin a kolen vlivem mutací (C-E) (Upraveno a převzato od Haupt *et al.*, 2014).

## 5.4 Model Dánia pruhovaného

U tohoto modelu ryb byl během embryonálního vývoje zkoumán mechanismus, kterým mutantní receptory  $ALK2$  zvyšují BMP fosforylovanou  $Smad1/5/8(9)$  signalizaci (de Rooter *et al.*, 2021). LaBonty a kol. vytvořili transgenní model exprimující  $ACVR1^{Q204D}$ , který byl indukovan tepelným šokem. Výsledkem bylo vytvoření řady fenotypů FOP s HO. Ryby měly srostlé obratle, malformace pánevních ploutví a abnormální prohnutí páteře (LaBonty *et al.*, 2018).

## 5.5 Buněčné modely

Takahashi a kol. dokázali v roce 2006 reprogramovat somatické buňky pomocí rekombinantního faktoru a získat tak iPSC (Takahashi *et al.*, 2006). Tato technika otevřela

nové možnosti a metody pro studium biologických charakteristik řady nemocí. iPSC jsou somatické buňky přeprogramované nadměrnou expresí čtyř transkripčních faktorů – Oct4 (octamer-binding protein 4), Sox2 (Sry-box transkripton factor 2), Klf4 (Krüppel-like factor 4) a c-Myc (Myc proto-oncogene) (Takahashi *et al.*, 2006).

iPSC mají řadu výhod, neboť jsou schopné sebeobnovy a dokáží velmi rychle růst. Díky pokusům *in vitro* je možné vzhledem k rychlému růstu získat velké množství potřebných buněk pro studium. Další výhodou je jejich schopnost diferenciaci ve specifické buňky. Takto lze získat buňky i v různých stádiích diferenciaci. Velkou výhodou je, že je iPSC možné získat ze somatických buněk a vyvarovat se tak etickým problémům, které jsou ve výzkumu při používání embryí (Qi *et al.*, 2017).

Jak již bylo na začátku kapitoly zmíněno, dostupnost lidských buněčných modelů je značně omezena díky komplikacím při odběru vzorků od pacientů a doposud neúplné znalosti typů progenitorových buněk souvisejících s FOP.

Přesto se díky studii Micha a kol. podařilo získat kožní fibroblasty od pacientů, aniž by došlo po odběru ke komplikacím. Kožní fibroblasty jsou pro studium nemoci vhodnější, než zvířecí modely, hlavně z důvodu mezidruhových rozdílů. Pro účely studie se podařilo odebrat 3 mm kousek kůže, který byl poté macerován a kultivován. Následně byla studována role TGFβ v osifikaci vyvolanou vzplanutím. K tomu jim pomohl *in vitro* model kožních fibroblastů získaných od pacientů. Pro vyvolání osteogenní transdiferenciaci růstovým faktorem bylo použito médium na bázi lyzátu krevních destiček. Lyzát z krevních destiček je bohatým zdrojem růstových faktorů včetně TGFβ a BMP. Jejich výsledky ukázaly, že fibroblasty pacientů s FOP měly výrazně zvýšenou regulaci fosforylovaného Smad1/5/8(9) a tedy i zvýšenou signalizaci BMP (Micha *et al.*, 2016).

Nedávné výzkumy také ukázaly, že endotelové buňky (EC) odvozené z lidských kmenových buněk (ihPSC) získaných od pacientů s FOP vykazují zvýšenou aktivitu aktivinu A. Díky pojivové tkáni získané ze zubů bylo také možné zkoumat vliv mutací FOP na signalizaci BMP a chondrogenní/osteogenní diferenciaci (Ventura *et al.*, 2021; de Ruiter *et al.*, 2021).

V současnosti tedy existuje řada *in vitro* a *in vivo* modelů, které toto onemocnění zkoumají. Doposud však zůstává záhadou, na kolik jsou tyto modely shodné s patofyziologií

u lidí a jak dobře tyto modely dokáží řešit různé složitosti fenotypu FOP (de Ruiter *et al.*, 2021).

## 6 LÉČBA

V první řadě je nutné mít na paměti, že doposud neexistuje lék, který by způsobil vyléčení této vzácné choroby. Podstatná je snaha o možná co největší předcházení poranění a zhoršení zdravotního stavu, dále je zásadní také symptomatická léčba pro zmírnění obtíží. U léčiv, která jsou pacientům podávána, jak během vzplanutí nemoci, tak i ve fázích klinického hodnocení, je však nutné mít na paměti, pouze perorální podání, neboť injekce by mohli negativně ovlivnit stav pacienta.

Doposud však neexistuje dostatek informací o farmakologické léčbě u pacientů s FOP, zde je zaznamenáno několik možností, jak léčit příznaky vzplanutí a léky, které jsou zatím ve fázi klinického hodnocení.

### 6.1 Symptomatická léčba vzplanutí nemoci

Kortikosteroidy jsou léky první volby při počátku vzplanutí. Pacientovi jsou po dobu čtyř dnů podávány vysoké dávky kortikosteroidů, a to již během 24 hodin aktivních příznaků vzplanutí. Díky tomuto včasnému podání může dojít ke zmírnění zánětu a otoku tkání. Při používání kortikosteroidů je však nutno brát v potaz jejich použití pouze na vzplanutí velkých kloubů, čelisti a podčelistní oblasti. Obecně není doporučeno užívat kortikosteroidy ve stavech, kdy jsou zasažena záda, krk, případně i trup. Důvodem je dlouhé trvání opakujících se výskytů vzplanutí, kdy není možno určit, v jaké době k prvotním vzplanutím došlo. Obvyklá dávka kortikosteroidů jsou 2 mg 1 kg váhy jedince denně podávané v jedné dávce.

Dále je možné po dobu vzplanutí užívat NSAID (nesteroidní protizánětlivé léky) případně inhibitory COX-2 (cyklooxygenáza-2) (Pignolo *et al.*, 2011). Tyto léky dokáží zmírnit zánět a bolest, nedokáží však zamezit vzniku HO.

Dalšími léky, které je možné u pacientů s FOP aplikovat, jsou inhibitory žírných buněk. Jelikož dochází k náhlému rozvoji vzplanutí, je patrné, že má vliv i zapojení zánětlivých složek a nadměrná odpověď na poranění tkáně. A tedy, že je zde potencionální role žírných buněk a jejich mediátorů v šíření zánětu (Pignolo *et al.*, 2011). Kromolyn jako

inhibitor žírných buněk se jeví bezpečně a účinně při zmírnění HO u myšího modelu FOP při poranění (Brennan *et al.*, 2018).

Bisfosfonáty jsou další skupinou léků, které jsou však pouze ojediněle používány u pacientů, necitlivých na účinky kortikosteroidy (Kaplan *et al.*, 2021).

Je tedy velmi důležité vyvinout lék, který zamezí chybné aktivaci mutace ACVR1/ALK2. S ohledem na různá stadia HO u pacientů je nutné zvážit i vhodná léčebná zacílení (viz Obrázek 11).

## 6.2 Vývoj léků pro FOP

V posledních letech bylo díky usilovnému zkoumání nemoci testováno několik léčiv, které byly zařazeny do fází klinického hodnocení. Obecně existují čtyři fáze klinického hodnocení:

- První fáze: v této fázi je lék podán zdravým dobrovolníkům následně se sleduje jeho bezpečnost a princip fungování v lidském organismu
- Druhá fáze: lék je poprvé podán malému počtu nemocných pacientů, následně se sleduje jeho působení na onemocnění, zjišťuje se vhodná léčebná dávka a v neposlední řadě i samotná bezpečnost léčiva
- Třetí fáze: početná skupina nemocných pacientů užívá lék, sleduje se jeho vliv na onemocnění a také bezpečnost léčiva
- Schválení léku: ještě před samotným postoupením léčiva do poslední čtvrté fáze je nutné jeho schválení. Všechna nashromážděná data jsou přezkoumána příslušnými orgány, které se zabývají schvalováním léčebných přípravků. V případě, že je lék schválen, může ho lékař předepsat pacientům
- Čtvrtá fáze: poté, co je lék schválen, provádějí vědci dlouhodobé studie mezi různými skupinami lidí a sledují jeho účinnost a bezpečnost (Pignolo *et al.*, 2023)

V této práci jsou však zmíněny pouze čtyři léčiva, která se momentálně nachází ve druhé, případně třetí fázi klinického hodnocení a o kterých se nejvíce mluví v souvislosti s daným onemocněním (viz Obrázek 11). Nutné je také zmínit, že prozatím nebyl žádný lék zařazen do testování čtvrté fáze.

### 6.2.1 Saracitinib

Saracitinib je inhibitor kinázy, který byl původně vyroben pro léčbu nádorů. Tento inhibitor ALK2 se jeví jako potenciální lék pro onemocnění FOP, nyní se nachází ve druhé fázi klinického hodnocení (Xu, 2023).

### 6.2.2 Rapamycin

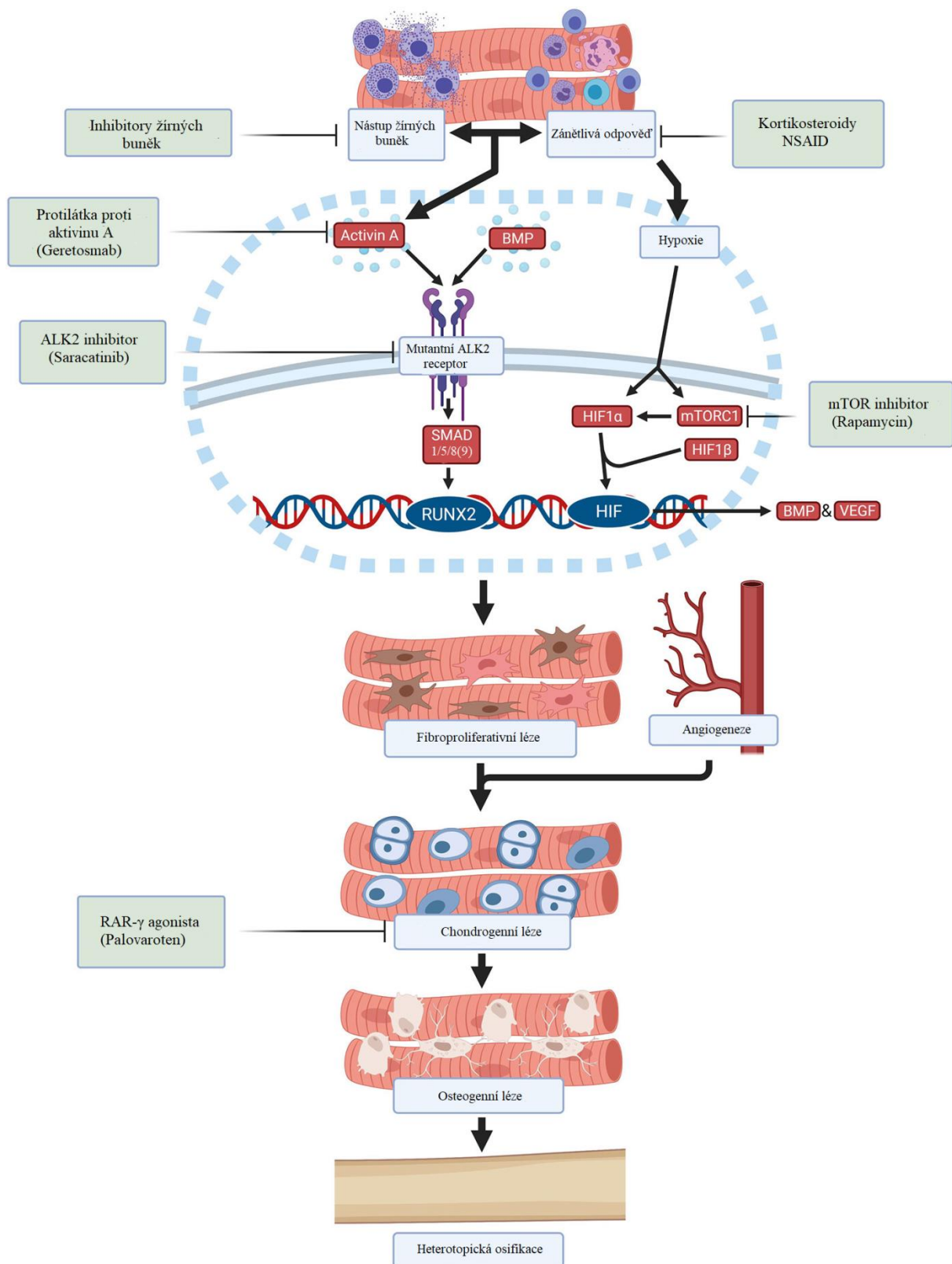
Rapamycin známý také pod názvem Sirolimus je látka potlačující imunitní odpověď, která je běžně užívána jako prevence rejekce transplantátu. V nedávné době byl mTOR (mammalian target of rapamycin) objeven jako zásadní faktor hypoxie a zánětlivých fází HO. Mimo imunoregulační funkce je signalizace mTOR nezbytná pro chondrogenezi a osteogenezi (de Ruiter et al., 2021). Nedávno se lék nacházel ve II/III fázi testování, bohužel zatím nedošlo ke zveřejnění nových výsledků studie (Xu, 2023).

### 6.2.3 Palovaroten

Palovaroten je druh léku nazývaných jako retinoidy. Retinoidy jsou deriváty vitamínu A, ten má v těle spoustu důležitých funkcí, mimo jiné se podílí na růstu kostí, zraku a na funkci IS. Nyní se studium tohoto léčiva nachází ve třetí fázi klinického hodnocení. Studie, kterou provedl Pignolo a kol. hodnotila pacienty, kteří mají *classic* FOP a užívali Palovaroten po dobu necelých dvou let v rámci klinické studie. Vědci za použití RTG a CT sledovali nárůst kostí mimo jejich fyziologické pole působnosti. Jejich výsledky studie zaznamenaly zhruba o 60 % snížení nárůstu nové kosti. Lék tedy přináší naději pro pacienty s FOP (Pignolo et al., 2023).

### 6.2.4 REGN2477(Garetosmab)

Garetosmab je protilátka proti aktivinu A, u tohoto léku byla nedávno ukončena druhá fáze testování, kdy byla zkoumána jeho bezpečnost, tolerance organismem a jeho působení na zvýšenou tvorbu kostí u dospělých pacientů s FOP. Výsledky poukazují, že Garetosmab dokáže potlačit tvorbu nových lézí HO, nedokáže však potlačit již postupující růst u existujících HO. Oficiální závěry studie nebyly prozatím publikovány. Před časem byla oznámena třetí fáze testování léku (Di Rocco et al., 2023).



Obrázek 11 Schématický přehled léčiv a zkoumaných látek, které se v současnosti používají a jejich zacílení (Upraveno a převzato od de Ruiter et al., 2021), VEGF (Vaskulární endotelový růstový faktor).

## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá současnými znalostmi o onemocnění *Fibrodysplasia ossificans progressiva*. Jedná se o velmi vzácné a závažné onemocnění, které významným způsobem zasahuje do kvality života pacienta a také zkracuje délku jejich života. K samotnému onemocnění v práci bylo přistupováno komplexně, výše zmíněné kapitoly popisují molekulární podstatu nemoci, klinické projevy, diagnostiku a modely nemoci, které se staly velkým přínosem pro studium tohoto onemocnění.

Závěrečná kapitola zahrnuje terapeutické možnosti léčby nemoci. Zmíněna jsou terapeutika pro zmírnění obtíží, ale také léky ve fázích klinického hodnocení, které vychází z prozatím dosažených objevů o tomto onemocnění. Do dnešních dní však nebyl nalezen efektivní lék, který by zamezil progresi nemoci. Řada potenciálních terapeutických léčiv, jakými jsou například Palovaroten, Rapamycin, Garetosmab a Saracantib jsou prozatím ve fázi výzkumu a nejsou prozatím definitivně schválena pro léčbu onemocnění. Z tohoto důvodu je důležitá neustálá výzkumná práce pro definitivní pochopení onemocnění a zavedení optimální léčebné strategie, která by pro samotné pacienty byla velice přínosná.



## 8 POUŽITÁ LITERATURA

ACVR1 gene. *Medline Plus* [online]. 2022 [cit. 2023-04-11]. Dostupné z:

<https://medlineplus.gov/genetics/gene/acvr1/#references>

AGARWAL, Shailesh, Shawn LODER, Cameron BROWNLEY et al., 2016. Inhibition of Hif1 $\alpha$  prevents both trauma-induced and genetic heterotopic ossification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **113**(3) [cit. 2023-06-15]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1515397113

AGRAWAL, Udit a Vivek TIWARI, © 2023. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. In:

StatPearls [online]. StatPearls Publishing [cit. 2023-04-12]. Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576373/>

AL MUKADDAM, Mona, Chamith S. RAJAPAKSE, Robert J. PIGNOLO et al., 2018. Imaging assessment of fibrodysplasia ossificans progressiva: Qualitative, quantitative and questionable. *Bone* [online]. **109**, 147-152 [cit. 2023-04-20]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2017.08.011

AL-SALMI, Ishaq, Sameer RANIGA, Aymen AL-HADIDI et al., 2014. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva - Radiological Findings: A Case Report. *Oman Medical Journal* [online]. **29**(5), 368-370 [cit. 2023-04-17]. ISSN 1999768X. Dostupné z: doi:10.5001/omj.2014.97

BAUJAT, Geneviève, Rémy CHOQUET, Stéphane BOUÉE et al., 2017. Prevalence of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) in France: an estimate based on a record linkage of two national databases. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. **12**(1), 123 [cit. 2023-02-28]. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/s13023-017-0674-5

BENSAID, Samir, Claudine FABRE, Julie FOURNEAU et al., 2019. Impact of different methods of induction of cellular hypoxia: focus on protein homeostasis signaling pathways and morphology of C2C12 skeletal muscle cells differentiated into myotubes. *Journal of Physiology and Biochemistry* [online]. **75**(3), 367-377 [cit. 2023-02-28]. ISSN 1138-7548. Dostupné z: doi:10.1007/s13105-019-00687-3

BOSKEY, A.L. a R. COLEMAN, 2010. Aging and Bone. *Journal of Dental Research* [online]. **89**(12), 1333-1348 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0022-0345. Dostupné z: doi:10.1177/0022034510377791

BOSTRÖM, K, K E WATSON, S HORN et al., 1993. Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **91**(4), 1800-1809 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI116391

BOTMAN, Esmée, Bernd P TEUNISSEN, Pieter RAIJMAKERS et al., 2020. Diagnostic Value of Magnetic Resonance Imaging in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *JBMR Plus* [online]. **4**(6) [cit. 2023-04-20]. ISSN 2473-4039. Dostupné z: doi:10.1002/jbm4.10363

BRENNAN, Tracy A., Carter M. LINDBORG, Christian R. BERGBAUER et al., 2018. Mast cell inhibition as a therapeutic approach in fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). *Bone* [online]. **109**, 259-266 [cit. 2023-05-22]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2017.08.023

CLARKE, Bart, 2008. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* [online]. **3**(Supplement\_3), S131-S139 [cit. 2023-04-12]. ISSN 1555-9041. Dostupné z: doi:10.2215/CJN.04151206

Computed Tomography (CT), 2022. National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering [online]. [cit. 2023-04-21]. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/computed-tomography-ct>

CONVENTE, Michael R, Salin A CHAKKALAKAL, EnJun YANG et al., 2018. Depletion of Mast Cells and Macrophages Impairs Heterotopic Ossification in an Acvr1 R206H Mouse Model of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **33**(2), 269-282 [cit. 2023-04-01]. ISSN 08840431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.3304

COSTIGAN, Michael, Joachim SCHOLZ, Clifford J. WOOLF et al., 2009. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Annual Review of Neuroscience* [online]. **32**(1), 1-32 [cit. 2023-03-27]. ISSN 0147-006X. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.neuro.051508.135531

DE RUITER, Ruben D., Bernard J. SMILDE, Gerard PALS et al., 2021. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: What Have We Achieved and Where Are We Now? Follow-up to the

- 2015 Lorentz Workshop. *Frontiers in Endocrinology* [online]. **12** [cit. 2023-04-12]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: doi:10.3389/fendo.2021.732728
- DEIRMENGIAN, Gregory K., Nader M. HEBELA, Michael O'CONNELL et al., 2008. Proximal Tibial Osteochondromas in Patients with Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *The Journal of Bone & Joint Surgery* [online]. **90**(2), 366-374 [cit. 2023-03-09]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/JBJS.G.00774
- DEY, Devaveena, Benjamin M. WHEATLEY, David CHOLOK et al., 2017. The traumatic bone: trauma-induced heterotopic ossification. *Translational Research* [online]. **186**, 95-111 [cit. 2023-03-30]. ISSN 19315244. Dostupné z: doi:10.1016/j.trsl.2017.06.004
- DI ROCCO, Maja, Eduardo FORLEO-NETO, Robert PIGNOLO et al., 2023. Garetosmab, an inhibitor of activin A, reduces heterotopic ossification and flare-ups in adults with fibrodysplasia ossificans progressiva: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *MedRxiv* [online]. [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: doi:10.1101/2023.01.11.23284254
- DIZON, Maria L.V., Tensing MAA, John A. KESSLER et al., 2011. The bone morphogenetic protein antagonist noggin protects white matter after perinatal hypoxia-ischemia. *Neurobiology of Disease* [online]. **42**(3), 318-326 [cit. 2023-05-08]. ISSN 09699961. Dostupné z: doi:10.1016/j.nbd.2011.01.023
- DRANE, WE, 1984. Myositis ossificans and the three-phase bone scan. *American Journal of Roentgenology* [online]. **142**(1), 179-180 [cit. 2023-06-15]. ISSN 0361-803X. Dostupné z: doi:10.2214/ajr.142.1.179
- DROSSOPOULOU, G., K. E. LEWIS, J. J. SANZ-EZQUERRO et al., 2000. A model for anteroposterior patterning of the vertebrate limb based on sequential long- and short-range Shh signalling and Bmp signalling. *Development* [online]. **127**(7), 1337-1348 [cit. 2023-04-11]. ISSN 0950-1991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.127.7.1337
- EEKHOFF, Elisabeth M.W., Ruben D. DE RUITER, Bernard J. SMILDE et al., 2022. Gene Therapy for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: Feasibility and Obstacles. *Human Gene Therapy* [online]. **33**(15-16), 782-788 [cit. 2023-04-12]. ISSN 1043-0342. Dostupné z: doi:10.1089/hum.2022.023

- ELAMIN, Mohamed, Ashraf ALMUTASIM IBRAHIM, Abdalla OMER et al., 2022. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: A Report of Four Cases. *Cureus* [online]. **14**(3) [cit. 2023-04-21]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.23392
- ELTZSCHIG, Holger K. Peter CARMELIET et al., 2011. Hypoxia and Inflammation. *New England Journal of Medicine* [online]. **364**(7), 656-665 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra0910283
- FUJIHARA, Yuko, Yoshiyuki MORI Hideto SAJIO et al., 2022. Long term dental outcomes in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva: a report of three cases of tooth extraction. *Quintessence International* [online]. **53**(8), 712-720 [cit. 2023-03-23]. Dostupné z: doi:10.3290/j.qi.b3094989.
- GANNON, Francis H, Frederick S KAPLAN, Elizabeth OLMSTED et al., 1997. Bone morphogenetic protein in early fibromatous lesions of fibrodysplasia ossificans progressiva. *Human Pathology* [online]. **28**(3), 339-343 [cit. 2023-05-19]. ISSN 00468177. Dostupné z: doi:10.1016/S0046-8177(97)90133-7
- GANNON, Francis H., David GLASER, Robert CARON et al., 2001. Mast cell involvement in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Human Pathology* [online]. **32**(8), 842-848 [cit. 2023-04-01]. ISSN 00468177. Dostupné z: doi:10.1053/hupa.2001.26464
- GILBERT, Scott F., 2000. Osteogenesis: The Development of Bones. In: *Developmental Biology*. 6th edition. [online]. Sunderland (MA): Sinauer Associates [cit. 2023-04-12]. ISBN 0-87893-243-7. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10056/>
- GIPSON, Gregory R., Erich J. GOEBEL, Kaitlin N. HART et al., 2020. Structural perspective of BMP ligands and signaling. *Bone* [online]. **140** [cit. 2023-04-11]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2020.115549
- HATSELL, Sarah J., Vincent IDONE, Dana M. Alessi WOLKEN et al., 2015. ACVR1 R206H receptor mutation causes fibrodysplasia ossificans progressiva by imparting responsiveness to activin A. *Science Translational Medicine* [online]. **7**(303) [cit. 2023-04-12]. ISSN 1946-6234. Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.aac4358
- HAUPT, Julia, Alexandra DEICHSEL, Katja STANGE et al., 2014. ACVR1 p.Q207E causes classic fibrodysplasia ossificans progressiva and is functionally distinct from the engineered

constitutively active ACVR1 p.Q207D variant. *Human Molecular Genetics* [online]. **23**(20), 5364-5377 [cit. 2023-05-19]. ISSN 0964-6906. Dostupné z: doi:10.1093/hmg/ddu255

HINO, Kyosuke, Makoto IKEYA, Kazuhiko HORIGOME et al., 2015. Neofunction of ACVR1 in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **112**(50), 15438-15443 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1510540112

HUANG, Yifei, Xinyi WANG Hui LIN et al., 2020. The hypoxic microenvironment: a driving force for heterotopic ossification progression. *Cell Communication and Signaling* [online]. **18**(1), 1-10 [cit. 2023-03-22]. ISSN 1478-811X. Dostupné z: doi:10.1186/s12964-020-0509-1

HÜNING, Irina Gabriele GILLESSEN-KAESBACH et al., 2014. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: Clinical Course, Genetic Mutations and Genotype-Phenotype Correlation. *Molecular Syndromology* [online]. **5**(5), 201-211 [cit. 2023-04-01]. ISSN 1661-8769. Dostupné z: doi:10.1159/000365770

CHAKKALAKAL, Salin A, Deyu ZHANG, Andria L CULBERT et al., 2012. An Acvr1 R206H knock-in mouse has fibrodysplasia ossificans progressiva. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **27**(8), 1746-1756 [cit. 2023-03-29]. ISSN 08840431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.1637

CHAKKALAKAL, Salin A, Kenta UCHIBE, Michael R CONVENTE et al., 2016. Palovarotene Inhibits Heterotopic Ossification and Maintains Limb Mobility and Growth in Mice With the Human ACVR1 R206H Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) Mutation. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **31**(9), 1666-1675 [cit. 2023-03-29]. ISSN 0884-0431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.2820

CHAN, George K. Gustavo DUQUE et al., 2002. Age-Related Bone Loss: Old Bone, New Facts. *Gerontology* [online]. **48**(2), 62-71 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0304-324X. Dostupné z: doi:10.1159/000048929.

IFOPA - International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association: History of FOP, 2018. IFOPA - International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association [online]. [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: [https://www.ifopa.org/history\\_of\\_fop](https://www.ifopa.org/history_of_fop)

- KAN, Lixin, Joseph A. KITTERMAN, Daniele PROCISSI et al., 2012. CNS demyelination in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Journal of Neurology* [online]. **259**(12), 2644-2655 [cit. 2023-03-28]. ISSN 0340-5354. Dostupné z: doi:10.1007/s00415-012-6563-x
- KANNU, Peter a Charles E. LEVY, 2021. Improving the Diagnosis of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *The Journal of Pediatrics* [online]. **232**, S3-S8 [cit. 2023-04-01]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2021.02.036
- KAPLAN, Frederick S, Michael A ZASLOFF, Joseph A KITTERMAN et al., 2010. Early Mortality and Cardiorespiratory Failure in Patients with Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* [online]. **92**(3), 686-691 [cit. 2023-03-22]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/JBJS.I.00705
- KAPLAN, Frederick S., 2013. The skeleton in the closet. *Gene* [online]. **528**(1), 7-11 [cit. 2023-04-12]. ISSN 03781119. Dostupné z: doi:10.1016/j.gene.2013.06.022
- KAPLAN, Frederick S., David L. GLASER, Eileen M. SHORE et al., 2005. The Phenotype of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism* [online]. **3**(3-4), 183-188 [cit. 2023-03-09]. ISSN 1534-8644. Dostupné z: doi:10.1385/BMM:3:3-4:183
- KAPLAN, Frederick S., J.A. TABAS, F.H. GANNON et al., 1993. The histopathology of fibrodysplasia ossificans progressiva. An endochondral process. *The Journal of Bone & Joint Surgery* [online]. **75**(2), 220-230 [cit. 2023-02-27]. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-199302000-00009.
- KAPLAN, Frederick S., Martine LE MERRER, David L. GLASER et al., 2008. Fibrodysplasia ossificans progressiva. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* [online]. **22**(1), 191-205 [cit. 2023-04-12]. ISSN 15216942. Dostupné z: doi:10.1016/j.berh.2007.11.007
- KAPLAN, Frederick S., Meiqi XU, Petra SEEMANN et al., 2009. Classic and atypical fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) phenotypes are caused by mutations in the bone morphogenetic protein (BMP) type I receptor ACVR1. *Human Mutation* [online]. **30**(3), 379-390 [cit. 2023-04-12]. ISSN 10597794. Dostupné z: doi:10.1002/humu.20868
- KAPLAN, Frederick S., Mona Al. MUKADDAM, Genevieve BAUJAT et al., 2021. THE MEDICAL MANAGEMENT OF FIBRODYSPLASIA OSSIFICANS PROGRESSIVA:

CURRENT TREATMENT CONSIDERATIONS: Proc Intl Clin Council FOP [online]. 2. 1-127 [cit. 2023-03-15]. Dostupné z: <https://www.fopfriends.co.uk/wp-content/uploads/2021/04/icc-guidelines-april-2021.pdf>

KAPLAN, Frederick S., Qi SHEN Vitali LOUNEV et al., 2008. Skeletal metamorphosis in fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). *Journal of Bone and Mineral Metabolism* [online]. **26**(6), 521-530 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0914-8779. Dostupné z: doi:10.1007/s00774-008-0879-8

KAPLAN, Frederick S., Salin A. CHAKKALAKAL, Eileen M. SHORE et al., 2012. Fibrodysplasia ossificans progressiva: mechanisms and models of skeletal metamorphosis. *Disease Models & Mechanisms* [online]. **5**(6), 756-762 [cit. 2023-06-06]. ISSN 1754-8411. Dostupné z: doi:10.1242/dmm.010280

KARDILE, Mayur, Sidhartha NAYAK, Nagaraja H S, Abani Kanta MISHRA et al., 2012. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva in a Four year Old Child. *Journal of orthopaedic case reports* [online]. 2(2), 17-20 [cit. 2023-03-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4719173/>

KARTAL-KAESS, Mutlu, Eileen M. SHORE, Meiqi XU et al., 2010. Fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP): watch the great toes!. *European Journal of Pediatrics* [online]. **169**(11), 1417-1421 [cit. 2023-02-27]. ISSN 0340-6199. Dostupné z: doi:10.1007/s00431-010-1232-5

KATAGIRI, Takenobu a Sho TSUKAMOTO, 2013. The unique activity of bone morphogenetic proteins in bone: a critical role of the Smad signaling pathway. *Bchm* [online]. **394**(6), 703-714 [cit. 2023-03-30]. ISSN 1437-4315. Dostupné z: doi:10.1515/hsz-2012-0310

KATAGIRI, Takenobu a Tetsuro WATABE, 2016. Bone Morphogenetic Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. **8**(6) [cit. 2023-02-27]. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a021899

KATAGIRI, Takenobu, Sho TSUKAMOTO, Mai KURATANI et al., 2021. Accumulated Knowledge of Activin Receptor-Like Kinase 2 (ALK2)/Activin A Receptor, Type 1 (ACVR1) as a Target for Human Disorders. *Biomedicines* [online]. **9**(7) [cit. 2023-03-30]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines9070736

- KATAGIRI, Takenobu, Sho TSUKAMOTO, Yutaka NAKACHI et al., 2018. Discovery of Heterotopic Bone-Inducing Activity in Hard Tissues and the TGF- $\beta$  Superfamily. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **19**(11), 1846-1859 [cit. 2023-03-30]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19113586
- KITTERMAN, Joseph A., Jonathan B. STROBER, Lixin KAN et al., 2012. Neurological symptoms in individuals with fibrodysplasia ossificans progressiva. *Journal of Neurology* [online]. **259**(12), 2636-2643 [cit. 2023-03-27]. ISSN 0340-5354. Dostupné z: doi:10.1007/s00415-012-6562-y
- KITTERMAN, Joseph A., Sharon KANTANIE David M. ROCKE et al., 2005. Iatrogenic Harm Caused by Diagnostic Errors in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Pediatrics* [online]. **116**(5), e654-e661 [cit. 2023-02-27]. ISSN 0031-4005. Dostupné z: doi:10.1542/peds.2005-0469
- KOU, Samuel, Carmen DE CUNTO, Geneviève BAUJAT et al., 2020. Patients with ACVR1R206H mutations have an increased prevalence of cardiac conduction abnormalities on electrocardiogram in a natural history study of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. **15**(1), 193 [cit. 2023-03-22]. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/s13023-020-01465-x
- KULWIN, Robert a Larry A. BINKOVITZ, 2009. PET/CT of fibrodysplasia ossificans progressiva. *Pediatric Radiology* [online]. **39**(9), 991-994 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0301-0449. Dostupné z: doi:10.1007/s00247-009-1281-y
- LABONTY, Melissa a Pamela C. YELICK, 2018. Animal models of fibrodysplasia ossificans progressiva. *Developmental Dynamics* [online]. **247**(2), 279-288 [cit. 2023-05-19]. ISSN 1058-8388. Dostupné z: doi:10.1002/dvdy.24606
- LEE, Kyung Ryeol, So Young PARK, Wook JIN et al., 2016. MR imaging and ultrasonography findings of early myositis ossificans: a case report. *Skeletal Radiology* [online]. **45**(10), 1413-1417 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0364-2348. Dostupné z: doi:10.1007/s00256-016-2441-4
- LEVY, Charles E., Theresa Frasca BERNER, Roxanna BENDIXEN et al., 2005. Rehabilitation for Individuals With Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Clinical Reviews*



*in Bone and Mineral Metabolism* [online]. **3**(3-4), 251-256 [cit. 2023-03-22]. ISSN 1534-8644. Dostupné z: doi:10.1385/BMM:3:3-4:251

LILJESTHRÖM, Moira, Robert PIGNOLO, Frederick KAPLAN et al., 2020. Epidemiology of the Global Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) Community. *Journal of Rare Diseases Research & Treatment* [online]. **5**(2), 31-36 [cit. 2023-02-28]. ISSN 25729411. Dostupné z: doi:10.29245/2572-9411/2020/2.1196

LIN, Lin, Qi SHEN, Tao XUE et al., 2010. Heterotopic ossification induced by Achilles tenotomy via endochondral bone formation: Expression of bone and cartilage related genes. *Bone* [online]. **46**(2), 425-431 [cit. 2023-03-22]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2009.08.057

LUCHETTI, Wayne, Randolph B. COHEN, Gregory V. HAHN et al., 1996. Severe restriction in jaw movement after routine injection of local anesthetic in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* [online]. **81**(1), 21-25 [cit. 2023-03-23]. ISSN 10792104. Dostupné z: doi:10.1016/s1079-2104(96)80141-7

MAFTEI, Catalina, Françoise RYPENS, Isabelle THIFFAULT et al., 2015. Fibrodysplasia ossificans progressiva: bilateral hallux valgus on ultrasound a clue for the first prenatal diagnosis for this condition-clinical report and review of the literature. *Prenatal Diagnosis* [online]. **35**(3), 305-307 [cit. 2023-06-15]. ISSN 01973851. Dostupné z: doi:10.1002/pd.4518

Magnetic Resonance Imaging (MRI), 2013. National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering [online]. [cit. 2023-04-21]. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri>

MAHBOUBI, S., David L. GLASER, Eileen M. SHORE et al., 2001. Fibrodysplasia ossificans progressiva. *Pediatric Radiology* [online]. **31**(5), 307-314 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0301-0449. Dostupné z: doi:10.1007/s002470100447

MARTINEZ-HACKERT, Erik, Anders SUNDAN, Toril HOLIEN et al., 2021. Receptor binding competition: A paradigm for regulating TGF- $\beta$  family action. *Cytokine & Growth Factor Reviews* [online]. **57**, 39-54 [cit. 2023-03-30]. ISSN 13596101. Dostupné z: doi:10.1016/j.cytogfr.2020.09.003

- MARXSEN, Jan H., Petra STENGEL, Kathrin DOEGE et al., 2004. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) promotes its degradation by induction of HIF- $\alpha$ -prolyl-4-hydroxylases. *Biochemical Journal* [online]. **381**(3), 761-767 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0264-6021. Dostupné z: doi:10.1042/BJ20040620
- MCCARTHY, E. F. a M. SUNDARAM, 2005. Heterotopic ossification: a review. *Skeletal Radiology* [online]. **34**(10), 609-619 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0364-2348. Dostupné z: doi:10.1007/s00256-005-0958-z
- MCKUSICK, Victor Almon, 1972. *Heritable disorders of connective tissue* [online]. Mosby [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: doi:10.1016/j.gene.2013.06.022
- MENG, Xinmiao, Haotian WAN, Jijun HAO et al., 2022. Recent progress in drug development for fibrodysplasia ossificans progressiva. *Molecular and Cellular Biochemistry* [online]. **477**(10), 2327-2334 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0300-8177. Dostupné z: doi:10.1007/s11010-022-04446-9
- MICHA, Dimitra, Elise VOERMANS, Marelise E.W. EEKHOFF et al., 2016. Inhibition of TGF $\beta$  signaling decreases osteogenic differentiation of fibrodysplasia ossificans progressiva fibroblasts in a novel in vitro model of the disease. *Bone* [online]. **84**, 169-180 [cit. 2023-05-22]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2016.01.004
- MORALES-PIGA, A., J. BACHILLER-CORRAL, M.J. TRUJILLO-TIEBAS et al., 2012. Fibrodysplasia ossificans progressiva in Spain: epidemiological, clinical, and genetic aspects. *Bone* [online]. **51**(4), 748-755 [cit. 2023-02-28]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2012.07.002
- MUELLER, Thomas D. a Joachim NICKEL, 2012. Promiscuity and specificity in BMP receptor activation. *FEBS Letters* [online]. **586**(14), 1846-1859 [cit. 2023-03-30]. ISSN 00145793. Dostupné z: doi:10.1016/j.febslet.2012.02.043
- MUGLU, Javaid A, Aditya GARG, T PANDIARAJAN et al., 2012. Pregnancy in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Obstetric Medicine* [online]. **5**(1), 35-38 [cit. 2023-04-06]. ISSN 1753-495X. Dostupné z: doi:10.1258/om.2011.110042
- MWENDE, Aura, Athul KOOLYATH, Pauline SAMIA et al., 2021. A Case of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva in Kenya. *International Journal of Rare Diseases &*

*Disorders* [online]. **4**(2) [cit. 2023-04-21]. ISSN 26434571. Dostupné z: doi:10.23937/2643-4571/1710033

ORTIZ-AGAPITO, Fernando a Douglas COLMENARES-BONILLA, 2015. Quality of life of patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. *Journal of Children's Orthopaedics* [online]. **9**(6), 489-493 [cit. 2023-04-01]. ISSN 1863-2521. Dostupné z: doi:10.1007/s11832-015-0704-6

PETERSON, Jonathan R., Sara DE LA ROSA, Hongli SUN et al., 2014. Burn Injury Enhances Bone Formation in Heterotopic Ossification Model. *Annals of Surgery* [online]. **259**(5), 993-998 [cit. 2023-03-22]. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/SLA.0b013e318291da85

PIGNOLO, Robert J, Edward C HSIAO, Mona Al MUKADDAM et al., 2023. The effects of palovarotene in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva: a plain language summary. *Future Rare Diseases* [online]. **3**(1) [cit. 2023-06-06]. ISSN 2399-5262. Dostupné z: doi:10.2217/frd-2022-0015

PIGNOLO, Robert J, Eileen M SHORE, Frederick S KAPLAN et al., 2011. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: Clinical and Genetic Aspects. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. **6**(1), 1-6 [cit. 2023-04-12]. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-6-80

PIGNOLO, Robert J, Christopher BEDFORD-GAY, Moira LILJESTHRÖM et al., 2016. The Natural History of Flare-Ups in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP): A Comprehensive Global Assessment. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **31**(3), 650-656 [cit. 2023-04-01]. ISSN 08840431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.2728

PIGNOLO, Robert J. a Frederick S. KAPLAN, 2018. Clinical staging of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP). *Bone* [online]. **109**, 111-114 [cit. 2023-03-10]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2017.09.014

PIGNOLO, Robert J., Eileen M. SHORE Frederick S. KAPLAN et al., 2013. Fibrodysplasia ossificans progressiva: diagnosis, management, and therapeutic horizons. *Pediatr Endocrinol Rev.* [online]. 437–448 [cit. 2023-02-27]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995352/>

- PIGNOLO, Robert J., Kin CHEUNG, Sammi KILE et al., 2020. Self-reported baseline phenotypes from the International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) Association Global Registry. *Bone* [online]. **134** [cit. 2023-02-27]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2020.115274
- PIGNOLO, Robert J., Robin K. SUDA, Frederick S. KAPLAN et al., 2005. The Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Lesion. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism* [online]. **3**(3-4), 195-200 [cit. 2023-03-15]. ISSN 1534-8644. Dostupné z: doi:10.1385/BMM:3:3-4:195
- PIGNOLO, Robert J, Ruth MCCARRICK-WALMSLEY, Haitao WANG et al., 2022. Plasma-Soluble Biomarkers for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva ( FOP ) Reflect Acute and Chronic Inflammatory States. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **37**(3), 475-483 [cit. 2023-04-25]. ISSN 0884-0431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.4492
- PIOTTO, Lino a Ajay TARANATH, 2021. Fibrodysplasia ossificans progressiva: Diagnosis with ultrasound. *Australasian Journal of Ultrasound in Medicine* [online]. **24**(3), 173-177 [cit. 2023-04-17]. ISSN 1836-6864. Dostupné z: doi:10.1002/ajum.12245
- QI, Zijuan, Jing LUAN, Xiaoyan ZHOU et al., 2017. Fibrodysplasia ossificans progressiva: Basic understanding and experimental models. *Intractable & Rare Diseases Research* [online]. **6**(4), 242-248 [cit. 2023-02-28]. ISSN 2186-361X. Dostupné z: doi:10.5582/irdr.2017.01055
- ROCHA DA COSTA, Thadeu, Thomas HELFENSTEIN, Ana Alice OLIVEIRA AMARAL et al., 2023. Rehabilitation in fibrodysplasia ossificans progressive - experience Report. *International Physical Medicine & Rehabilitation Journal* [online]. **8**(1), 95-98 [cit. 2023-04-05]. ISSN 25749838. Dostupné z: doi:10.15406/ipmrj.2023.08.00340
- ROLIAN, Campbell, 2020. Endochondral ossification and the evolution of limb proportions. *WIREs Developmental Biology* [online]. **9**(4) [cit. 2023-02-27]. ISSN 1759-7684. Dostupné z: doi:10.1002/wdev.373
- ROSENSTIRN, JULIUS, 1918. A CONTRIBUTION TO THE STUDY OF MYOSITIS OSSIFICANS PROGRESSIVA. *Annals of Surgery* [online]. **68**(6), 591-637 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/00000658-191812000-00005

- SALAZAR, Valerie S., Laura W. GAMER, Vicki ROSEN et al., 2016. BMP signalling in skeletal development, disease and repair. *Nature Reviews Endocrinology* [online]. 12(4), 203-221 [cit. 2023-03-30]. ISSN 1759-5029. Dostupné z: doi:10.1038/nrendo.2016.12
- SETIAWATI, Rosy a Paulus RAHARDJO, 2019. Bone Development and Growth. In: YANG, Haisheng, ed. *Osteogenesis and Bone Regeneration* [online]. IntechOpen, 2019-4-24, s. 1 [cit. 2023-04-12]. ISBN 978-1-78985-767-2. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/330944846\\_Bone\\_Development\\_and\\_Growth](https://www.researchgate.net/publication/330944846_Bone_Development_and_Growth)
- SHAFRITZ, Adam B., Eileen M. SHORE, Francis H. GANNON et al., 1996. Overexpression of an Osteogenic Morphogen in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *New England Journal of Medicine* [online]. 335(8), 555-561 [cit. 2023-04-24]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199608223350804
- SHAPIRO, Frederic, 2008. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *European Cells and Materials* [online]. 15, 53-76 [cit. 2023-02-28]. ISSN 1473-2262. Dostupné z: doi:10.22203/ecm.v015a05.
- SHEHAB, Dia, Abdelhamid H. ELGAZZAR, B. David COLLIER et al., 2002. Heterotopic ossification. *The Journal of Nuclear Medicine* [online]. 43(3), 346-353 [cit. 2023-04-12]. Dostupné z: <https://jnm.snmjournals.org/content/43/3/346.long>
- SHORE, Eileen M. a Frederick S. KAPLAN, 2010. Inherited human diseases of heterotopic bone formation. *Nature Reviews Rheumatology* [online]. 6(9), 518-527 [cit. 2023-04-12]. ISSN 1759-4790. Dostupné z: doi:10.1038/nrrheum.2010.122
- SHORE, Eileen M., 2012. Fibrodysplasia ossificans progressiva: a human genetic disorder of extraskelatal bone formation, or-how does one tissue become another?. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology* [online]. 1(1), 153-165 [cit. 2023-02-27]. ISSN 17597684. Dostupné z: doi:10.1002/wdev.9.
- SCHAFFER, Alyssa A., Frederick S. KAPLAN, Michael R. TRACY et al., 2005. Developmental Anomalies of the Cervical Spine in Patients With Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Are Distinctly Different From Those in Patients With Klippel-Feil Syndrome. *Spine* [online]. 30(12), 1379-1385 [cit. 2023-04-12]. ISSN 0362-2436. Dostupné z: doi:10.1097/01.brs.0000166619.22832.2c

SCHOBER, Patrick, Ralf KRAGE, Deirdre THÖNE et al., 2009. Ultrasound-Guided Ankle Block in Stone Man Disease, Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Anesthesia & Analgesia* [online]. **109**(3), 988-990 [cit. 2023-04-17]. ISSN 0003-2999. Dostupné z: doi:10.1213/ane.0b013e3181ac1093

SMILDE, Bernard, Esmée BOTMAN, Ruben DE RUITER et al., 2022. Monitoring and Management of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: Current Perspectives. *Orthopedic Research and Reviews* [online]. **14**, 113-120 [cit. 2023-02-27]. ISSN 1179-1462. Dostupné z: doi:10.2147/ORR.S337491

SUNG HSIEH, Hsiao Hsin, Michael T. CHUNG, Ronald M. ALLEN et al., 2017. Evaluation of Salivary Cytokines for Diagnosis of both Trauma-Induced and Genetic Heterotopic Ossification. *Frontiers in Endocrinology* [online]. **8**(74) [cit. 2023-05-18]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: doi:10.3389/fendo.2017.00074

TAKAHASHI, Kazutoshi a Shinya YAMANAKA, 2006. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* [online]. **126**(4), 663-676 [cit. 2023-05-22]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2006.07.024

The Human Phenotype Ontology, 2019. The Human Phenotype Ontology [online]. [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: <https://hpo.jax.org/app/browse/disease/ORPHA:337>

THOMAS, Penny S., Sudha RAJDERKAR, Jamie LANE et al., 2014. AcvR1-mediated BMP signaling in second heart field is required for arterial pole development: Implications for myocardial differentiation and regional identity. *Developmental Biology* [online]. **390**(2), 191-207 [cit. 2023-03-22]. ISSN 00121606. Dostupné z: doi:10.1016/j.ydbio.2014.03.008

TIAN, Shengjie, Jianhua ZHU, Yaogang LU et al., 2018. Difficult diagnosis and genetic analysis of fibrodysplasia ossificans progressiva: a case report. *BMC Medical Genetics* [online]. **19**(1), 1-5 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1471-2350. Dostupné z: doi:10.1186/s12881-018-0543-7

TOWLER, Oscar Will a Eileen M. SHORE, 2022. BMP signaling and skeletal development in fibrodysplasia ossificans progressiva ( FOP ). *Developmental Dynamics* [online]. **251**(1), 144-157 [cit. 2022-09-27]. ISSN 1058-8388. Dostupné z: doi:10.1002/dvdy.387

- TSENG, Wen-Pei, Shu-Ning YANG, Chih-Ho LAI et al., 2010. Hypoxia induces BMP-2 expression via ILK, Akt, mTOR, and HIF-1 pathways in osteoblasts. *Journal of Cellular Physiology* [online]. **223**(3), 810–818 [cit. 2023-02-28]. ISSN 00219541. Dostupné z: doi:10.1002/jcp.22104
- URIST, Marshall R., 1965. Bone: Formation by Autoinduction. *Science* [online]. 150(3698), 893-899 [cit. 2023-02-27]. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/1717499>
- VAN DEN BOSCH, Martijn H., Arjen B. BLOM, Peter L. VAN LENT et al., 2014. Canonical Wnt signaling skews TGF- $\beta$  signaling in chondrocytes towards signaling via ALK1 and Smad 1/5/8. *Cellular Signalling* [online]. **26**(5), 951-958 [cit. 2023-03-30]. ISSN 08986568. Dostupné z: doi:10.1016/j.cellsig.2014.01.021
- VAN DER KRAAN, Peter M., Marie-José GOUMANS, Esmeralda BLANEY DAVIDSON et al., 2012. Age-dependent alteration of TGF- $\beta$  signalling in osteoarthritis. *Cell and Tissue Research* [online]. **347**(1), 257-265 [cit. 2023-03-30]. ISSN 0302-766X. Dostupné z: doi:10.1007/s00441-011-1194-6
- VIRDI, A. S., E. M. SHORE, R. O. C. OREFFO et al., 1999. Phenotypic and Molecular Heterogeneity in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Calcified Tissue International* [online]. **65**(3), 250-255 [cit. 2023-05-19]. ISSN 0171-967X. Dostupné z: doi:10.1007/s002239900693
- WANG, Haitao, Carter LINDBORG, Vitali LOUNEV et al., 2016. Cellular Hypoxia Promotes Heterotopic Ossification by Amplifying BMP Signaling. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **31**(9), 1652-1665 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0884-0431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.2848
- WANG, Haitao, Edward M. BEHRENS, Robert J. PIGNOLO et al., 2018. ECSIT links TLR and BMP signaling in FOP connective tissue progenitor cells. *Bone* [online]. 109, 201-209 [cit. 2023-04-25]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2017.12.024
- WHITWORTH, Melissa, Leanne BRICKER, Clare MULLAN et al., 2015. Ultrasound for fetal assessment in early pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. **2015**(7) [cit. 2023-04-17]. ISSN 14651858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD007058.pub3

- WHYTE, Michael P, Deborah WENKERT, Jennifer L DEMERTZIS et al., 2012. Fibrodysplasia ossificans progressiva: Middle-age onset of heterotopic ossification from a unique missense mutation (c.974G > C, p.G325A) in ACVR1. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **27**(3), 729-737 [cit. 2023-04-12]. ISSN 08840431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.1473
- WU, Mengrui, Guiqian CHEN, Yi-Ping LI et al., 2016. TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Research* [online]. **4**(1), 1-21 [cit. 2023-03-30]. ISSN 2095-6231. Dostupné z: doi:10.1038/boneres.2016.9
- XU, Annie, 2023. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: Molecular Mechanism, Drug Development and Current Clinical Trials. *Int J Biomed Sc* [online]. 19(1), 18-25 [cit. 2023-02-27]. Dostupné z: <http://ijbs.org/VOL/ar978/ar978.pdf>
- XU, Ruoshi, Jiajie HU, Xuedong ZHOU, Yingzi YANG et al., 2018. Heterotopic ossification: Mechanistic insights and clinical challenges. *Bone* [online]. **109**, 134-142 [cit. 2023-03-22]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2017.08.025
- ZHANG, Huaifa a Jake E. BARRALET, 2017. Mimicking oxygen delivery and waste removal functions of blood. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. **122**, 84-104 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2017.02.001
- ZHANG, Wei, Keqin ZHANG, Lige SONG et al., 2013. The phenotype and genotype of fibrodysplasia ossificans progressiva in China: A report of 72 cases. *Bone* [online]. **57**(2), 386-391 [cit. 2023-04-20]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2013.09.002



## 9 ZDROJE OBRÁZKŮ A TABULEK

DE BRASI, Daniele, Francesca ORLANDO, Valeria GAETA et al., 2021. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: A Challenging Diagnosis. In: Genes [online]. [cit. 2023-03-14]. ISSN 2073-4425. Dostupné z: 10.3390/genes12081187

DE RUITER, Ruben D., Bernard J. SMILDE, Gerard PALS et al., 2021. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: What Have We Achieved and Where Are We Now? Follow-up to the 2015 Lorentz Workshop. In: Frontiers in Endocrinology [online]. [cit. 2023-06-06]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: 10.3389/fendo.2021.732728

FUJIMOTO, Mai, Naoto SUDA, Takenobu KATAGIRI et al., 2017. Molecular mechanisms for activation of mutant activin receptor-like kinase 2 in fibrodysplasia ossificans progressiva. In: Journal of Oral Biosciences [online]. s. 121-126 [cit. 2023-05-07]. ISSN 13490079. Dostupné z: 10.1016/j.job.2017.03.004

HAUPT, Julia, Alexandra DEICHSEL, Katja STANGE et al., 2014. ACVR1 p.Q207E causes classic fibrodysplasia ossificans progressiva and is functionally distinct from the engineered constitutively active ACVR1 p.Q207D variant. In: Human Molecular Genetics [online]. s. 5364-5377 [cit. 2023-06-23]. ISSN 0964-6906. Dostupné z: doi:10.1093/hmg/ddu255

KALIYA-PERUMAL, Arun-Kumar, Tom J. CARNEY, Philip W. INGHAM et al., 2020. Fibrodysplasia ossificans progressiva: current concepts from bench to bedside. In: Disease Models & Mechanisms [online]. [cit. 2023-05-05]. ISSN 1754-8411. Dostupné z: doi:10.1242/dmm.046441

KAPLAN, Frederick S., Meiqi XU, Petra SEEMANN et al., 2009. Classic and atypical fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) phenotypes are caused by mutations in the bone morphogenetic protein (BMP) type I receptor ACVR1. In: Human Mutation [online]. s. 379-390 [cit. 2023-03-09]. ISSN 10597794. Dostupné z: 10.1002/humu.20868

LILJESTHRÖM, Moira, Robert PIGNOLO, Frederick KAPLAN et al., 2020. Epidemiology of the Global Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) Community. In: Journal of Rare Diseases Research & Treatment [online]. s. 31-36 [cit. 2023-06-23]. ISSN 25729411. Dostupné z: doi:10.29245/2572-9411/2020/2.1196

MENG, Xinmiao, Haotian WANG, Jijun HAO et al., 2022. Recent progress in drug development for fibrodysplasia ossificans progressiva: BMP signaling and FOP. In: SpringerLink [online]. [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: 10.1007/s11010-022-04446-9

SEKIMATA, Katsuhiko, Tomohiro SATO, Naoki SAKAI et al., 2020. ALK2: A Therapeutic Target for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva and Diffuse Intrinsic Pontine Glioma. In: Chemical and Pharmaceutical Bulletin [online]. s. 194-200 [cit. 2023-05-07]. ISSN 0009-2363. Dostupné z: 10.1248/cpb.c19-00882

SHAFRITZ, Adam B., Eileen M. SHORE, Francis H. GANNON et al., 1996. Overexpression of an Osteogenic Morphogen in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. In: New England Journal of Medicine [online]. s. 555-561 [cit. 2023-06-23]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199608223350804

SMILDE, Bernard, Esmée BOTMAN, Ruben DE RUITER et al., 2022. Monitoring and Management of Fibrodysplasia Ossificans Progressiva: Current Perspectives. In: Orthopedic Research and Reviews [online]. s. 113-120 [cit. 2023-03-14]. ISSN 1179-1462. Dostupné z: 10.2147/ORR.S337491

**Příloha 1:** Zaznamenání pěti klinických stádií nemoci (Upraveno a převzato z Pignolo *et al.*, 2018).

	<b>Časně/mírné</b>	<b>Středně těžké</b>	<b>Pozdní/závažné</b>	<b>Těžké</b>	<b>Konečné stadium</b>
Flare-ups	Bez přítomnosti flare-ups, případně omezena na pokožku hlavy, krk a záda	Historie flare-ups omezená na axiální oblasti a horní část těla	Historie flare-ups na jakémkoliv místě	Historie flare-ups na jakémkoliv místě	Historie flare-ups na jakémkoliv místě
Zasažené oblasti těla	Krk, záda, horní končetiny	Krk, záda, hrudník, horní a dolní končetiny	Krk, záda, hrudník, horní a dolní končetiny, čelist	Krk, záda, hrudník, horní a dolní končetiny, čelist, zápěstí a kotníky	Ankylóza většiny nebo všech kloubů
Hrudní insuficience		Omezení hrudního rozšíření	Nepoddajnost hrudní stěny, bez hrudní expanze, brániční dýchání	Symptomatický hrudní syndrom nedostatečnosti (plicní hypertenze a pravostranné srdeční selhání)	Symptomatický hrudní syndrom nedostatečnosti (plicní hypertenze a pravostranné srdeční selhání)
Komplikace				Pneumonie, proleženiny	Opakující se respirační infekce
Další komplikace v každodenním životě	Žádná, případně minimální pomoc pacientovi z důvodu mírného kloubního omezení nebo fyzického zpoždění vývojových milníků	Vyžadována částečná pomoc	Vyžadována asistence u většiny činností	Vyžadována asistence u všech každodenních činností	Vyžadována asistence u všech každodenních činností
Stav pacientů	Neovlivněno, nelze vyhodnotit z důvodu nízkého věku	Chodí, na delší vzdálenosti použití invalidního vozíku	Procházky za pomoci asistenčního zařízení případně invalidního vozíku	Na invalidním vozíku	Většinou upoutání na lůžko
Věk	≤ 4	5–18	19–24	≥ 24	≥ 28