

## REFERATE GENERALE / GENERAL STUDIES

## Aspecte clinico - genetice în distrofinopatii

## Clinical and Genetic Aspects in Dystrophinopathies

Axinia Corcheș<sup>\*1</sup>, Laura Nussbaum<sup>\*2</sup>, Ghizela Kanalaș<sup>3</sup>, Maria Puiu<sup>4</sup>,

## REZUMAT

## Introducere

Distrofinopatiile sunt afecțiuni X-linkate recesive cauzate de deficitul de distrofină, proteină musculară responsabilă de boală.

Cele mai importante distrofinopatii sunt distrofia musculară progresivă Duchenne (DMD) și distrofia musculară progresivă Becker (DMB). În literatura de specialitate sunt descrise și fenotipuri intermediare de DMD cu semne clinice ușoare și DMB cu evoluție severă (outliers).

Există și forme mai puțin severe fără afectarea musculaturii centurilor: miopatie izolată de cvadriceps, miopatii cu afectarea musculaturii inimii-cardiomiopatii dilatative X-linkate, nivel crescut de enzime musculare fără semne clinice, mioglobulinurie cu crampe musculare, femei purtătoare a defectului genetic asimptomate.

## Material și metodă

Prezentăm principalele forme de distrofinopatii, aspecte clinice și paraclinice cu exemplificări de caz și actualizări din literatura de specialitate legate de tratament și reabilitare.

## Concluzii

Distrofinopatiile sunt cele mai frecvente boli musculare genetice cu evoluție rapid progresivă. Este foarte important să le recunoaștem și diagnostica precoce, metodele de intervenție cunoscute în prezent putând influența favorabil ritmul evolutiv și calitatea vieții pacienților afectați.

**Cuvinte cheie:** distrofinopatii, aspecte clinice și genetice, tratament și reabilitare

## ABSTRACT

## Introduction

Dystrophinopathies are X-linked recessive disorders caused by the deficit in dystrophin, the muscle protein responsible for the disease.

The most important dystrophinopathies are Duchenne progressive muscular dystrophy (DMD) and Becker progressive muscular dystrophy (BMD). Intermediate DMD phenotypes are also described in specialist literature, with mild clinical signs and BMD with severe evolution (the so-called "outliers"). There are less severe forms, too, without affecting the muscles of the limb girdles: isolated quadriceps myopathy, myopathies affecting the heart muscle, X-linked dilative cardiomyopathy (XLDCM), elevated levels of muscle enzymes without clinical signs, myoglobinuria with muscle cramps, women who are asymptomatic carriers and pass on the genetic mutation / the defective gene.

## Material and method

We present the main forms of dystrophinopathies, their clinical and paraclinical aspects with case examples and updates from the literature related to treatment and rehabilitation.

## Conclusions

Dystrophinopathies are the most common genetic muscle diseases/disorders with rapidly progressive evolution. It is important to recognize and diagnose them early, while the currently known intervention methods may favourably influence the evolutionary pace and the life quality of the affected patients.

**Keywords:** dystrophinopathies, clinical and genetic aspects, treatment and rehabilitation

<sup>1</sup> Medic Primar Neurologie și Psihiatrie Pediatrică, Șef Secție Clinică Neurologie Pediatrică, Doctor în Medicină, Clinica de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și Adolescentului Timișoara

<sup>2</sup> Șef de Lucrări Disciplina Pedopsihiatrie, Departamentul de Neuroștiințe, Universitatea de Medicină și Farmacie „V. Babeș” Timișoara, Medic primar Psihiatrie Pediatrică, Șef Secție Clinica de Psihiatrie Copii și Adolescenți, Timișoara

<sup>3</sup> Medic Specialist Psihiatrie Pediatrică, Clinica de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și Adolescentului Timișoara

<sup>4</sup> Prof. Univ. Dr. Secția Clinică de Genetică, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Louis Turcanu” Timișoara

\* Autorii – au drepturi egale – prim autori

Autor de corespondență: Dr. Corcheș Axinia  
e-mail: axiniacorches@yahoo.com

<sup>1</sup> PhD Child Neurology and Psychiatry, Head of Department of Clinic of Pediatric Neurology, PhD, Clinic of Neurology and Psychiatry for Children and Adolescents, Timisoara

<sup>2</sup> Senior Lecturer Pedopsychiatry Discipline, Neurosciences Department, University of Medicine and Pharmacy “V. Babeș” Timișoara, Senior clinician Pediatric Psychiatry, Head of the Clinic of Child and Adolescent Psychiatry, Timișoara

<sup>3</sup> MD Pediatric Psychiatry, Clinic of Neurology and Psychiatry for Children and Adolescents, Timisoara

<sup>4</sup> Prof. PhD Head of the Genetics Department, Children's Emergency Clinical Hospital "Louis Turcanu" Timisoara

\* The Authors – have equal rights – principal authors

Correspondence author: MD Corcheș Axinia  
e-mail: axiniacorches@yahoo.com

## Introducere

Distrofinopatiile sunt afecțiuni X-linkate recesive cauzate de deficitul de distrofină, proteina musculară responsabilă de boală.

Cele mai importante distrofinopatii sunt distrofia musculară progresivă Duchenne(DMD) și distrofia musculară progresivă Becker(DMB). În literatura de specialitate sunt descrise și fenotipuri intermediare de DMD cu semne clinice ușoare și DMB cu evoluție severă (outliers).

Există și forme mai puțin severe fără afectarea musculaturii centurilor: miopatie izolată de cvadriiceps, miopatii cu afectarea musculaturii inimii-cardiomiopatii dilatative X-linkate, nivel crescut de enzime musculare fără semne clinice, mioglobulinurie cu crampe musculare, femei purtatoare a defectului genetic asimptomatice.

Heterogenitatea tabloului clinic și a evoluției a determinat un spectru foarte larg de fenotipuri. Cel mai sever fenotip este reprezentat de DMD, DMB, distrofia musculară progresivă cu fenotip intermediar (DMP), cu afectare primară a mușchiului scheletic și cardiomiopatia dilatativă X-linkată, cu afectare semnificativă primară a musculaturii inimii.[1]

## DISTROFIA MUSCULARĂ PROGRESIVĂ DUCHENNE

### Definiție:

DMP reprezintă fenotipul sever al deficitului de distrofină.

### Istoric:

Prima descriere a bolii datează din anul 1868. Neurofiziologul Guillaume Benjamin Duchenne prezintă boala ca o paralizie musculară pseudohipertrofică asociată cu depozite de țesut conjunctiv și adipoase. În 1886 Gowers a descris semnul care îi poartă numele și a remarcat transmiterea bolii de către mamă. În 1891 Erb a descris modificările histologice ale bolii. În anul 1986 mai mulți cercetători americani ( Monaco A.P. și Kunkel L.M. ) au descoperit defectul genetic în DMD, iar în anul 1987 Hoffman identifică însăși proteina deficitară, distrofina. Odată cu descoperirea distrofinei, clasificarea distrofiilor musculare progresive se bazează pe deficitul proteic cu condiția ca acesta să poată fi determinat.

### Epidemiologie:

DMD este cea mai frecventă distrofie musculară progresivă a copilului cu o incidență de 1/3000 nou născuți de sex masculin[2].

### Genetică:

Gena, distrofina, este una dintre cele mai lungi gene ale genomului uman și constă din 79 exoni; transmiterea bolii este recesivă X-linkată.

Locusul genetic : banda 21 a brațului scurt, p al cromozomului X(Xp21.2).

Distrofina este o proteină structurală mare, respectiv 427kDa, care intră în compoziția membranei musculare, dar este prezentă și în alte țesuturi: creier, retină, rinichi.

### Mutații

Deleții sau duplicații: majoritatea localizate la nivelul porțiunii 3, la capătul N-terminal sau în domeniul bastonaș(rod), implicând mai mulți exoni. Se pot produce și două mutații într-o genă.

Punctiforme( 73% din pacienții care nu au deleții sau duplicații)- localizate de-a lungul întregii gene, majoritatea distal de exonul 55, multe dintre ele la nivelul unor situsuri reglatoare ale matisării sau expresiei genei. Sunt de tipul: nonsens, cu deplasarea cadrului de citire, cu sens greșit(rare). Pot determina DMD sau DMB.

În DMD 65% din pacienți au deleții, iar în DMB 55-85% au deleții sau duplicații.

O treime din cazuri apar ca mutații noi. 1/3 din cazurile severe provin din mutații noi (regula lui Haldane).

### Corelații genotip-fenotip:

Delețiile la nivel E45-47 sau E48 care afectează domeniul bastonaș, determină DMB cu fenotip moderat.

Delețiile N-terminale determină un fenotip Beker mai sever.

Delețiile C- terminale sau la nivelul regiunii bogate în cisteină determină DMD severă deoarece afectează legarea distrofinei la distroglican, cu pierderea consecutivă a complexului distroglican-sarcoglican.

Deleția E1 și a promotorului determină fenotip mai blând, cu sau fără cardiomiopatie severă.

Delețiile treimii proximale ale domeniului bastonaș (E13-17) determină crampe și mialgie. La examenul anatomopatologic distrofina apare normală.

Absența distrofinei determină un fenotip sever și reducerea sarcoglicanilor și a altor proteine asociate distrofinei. Distrofina este crescută în citoplasmă.

Mutațiile la nivelul capătului C-terminal duc la tablouri clinice severe.

Heterozigoții: femeile sunt purtătoare asimptomatice. O situație particulară o prezintă gemenii monoziagoți de sex feminin cu fenotip diferit (unul simptomatic, unul normal). E posibil ca la momentul separării celor doi ziagoți, unul dintre ei să fi primit mai multe celule în care a fost inactivat cromozomul normal, ceea ce determină dezvoltarea ulterioară a unui fenotip mai sever.

### Tabloul clinic:

#### Debut

Debutul clinic este insidios. Se situează în jurul vârstei de 3-5 ani, deși boala există de la naștere. Se constată întârziere a achizițiilor motorii pe etape de vârstă. Dacă au achiziționat mersul, manifestarea de debut constă în dificultăți de alergare. Acești copii sunt descriși de părinți mai puțin activi decât ceilalți copii de vârsta lor, au dificultăți la urcatul treptelor scării, săritul pe un picior, au mers legănat, cu tendință la cădere și au dificultăți la ridicarea din poziția șezând. Literatura de specialitate descrie la debut și întârzierea vorbirii. Ulterior apare mersul digitigrad prin retractia tendonului lui Achile.

### Descrierea simptomelor pe aparate și sisteme

#### 1. Afectarea musculară

Mersul este balant, cu hiperlordoză lombară și abdomen extins anterior.

#### Deficitul muscular:

- Reprezintă simptomul de debut, cu distribuție proximală și simetrică, membrele inferioare fiind afectate înaintea membrilor superioare;

- Primii mușchi afectați la membrele inferioare sunt: mușchiul ileopsoas, mușchii fesieri, urmând cei din loja tibială anterioară, marele adductor și mai rar, mușchii gracilis și sartorius;

- Afectarea musculaturii paravertebrale și lombosacrale duce la o postură caracteristică, lordotică și cu abdomenul extins în față în poziția de ortostatism;

- Deficitul bilateral al mușchilor extensori ai genunchilor și coapselor determină tulburări de echilibru și dificultăți la urcatul scării, ridicatul de pe scaun, sau ridicarea din poziția aplecat;

- Deficitul bilateral al mușchiului fesier mediu determină mersul legănat.

*Semnul Gowers* este patognomonic în distrofiile musculare progresive și constă în ridicarea în or-

tostatism prin cățărarea pe propriul corp, cu sprijin pe genunchi. Copilul își fixează un picior în poziție posterioară, se apleacă în față pentru sprijin pe ambele mâini, face extensia brațelor prin care își împinge trunchiul în sus apoi continuă mișcarea de ridicare cu balansarea corpului prin cățărare și sprijin al mâinilor pe coapse. Semnul Gowers apare când este instalată o slăbiciune pronunțată a centurii pelvine, în special a mușchiului marele gluteal. Incidența maximă este în jurul vârstei de 5-6 ani și este prezent înainte de 8 ani. [1](Fig. 1).

- Mușchii centurii scapulare și ai membrilor superioare sunt afectați după cei ai centurii pelvine: partea inferioară a mușchilor pectorali, latissimus dorsi, bicepsul și brahioradialul;

- Deficitul mușchilor flexori ai gâtului este prezent în toate fazele bolii, deși trece de obicei neobservat. În poziția de decubit dorsal, în stadii precoce, pacienții cu DMD nu își pot ridica antigravitațional, capul. Acest semn diferențiază pacienții cu DMD de cei cu fenotipuri moderate și cei cu DMB, care cel puțin în fazele precoce nu au modificată forța musculară a flexorilor gâtului;

- Nu sunt afectați mușchii oculari, bulbari, extensori ai gâtului, mușchii mici ai mâinii;

- Musculatura facială este afectată în fazele avansate ale bolii;



Figura 1. Semn Gowers la un pacient din colecția Clinicii de Neurologie Pediatrică a Spitalului de Urgență „Louis Țurcanu”, Timișoara.

**Reflexele osteotendinoase(ROT):**

ROT sunt prezente la debutul bolii, cu diminuare lentă până la dispariție, pe măsură ce fibrele musculare se deteriorează. Ultimele sunt abolite ROT ahiliene și stiloradiale. Reflexul rotulian diminuează sau dispare precoce în evoluție.

**Modificări ale volumului muscular:**

Hipertrofia musculară este evidentă în special la nivelul moleților, cu fermitate la palpate, mai frecventă la nivelul mușchiului triceps sural. Mai poate fi prezentă la nivelul mușchilor vastul lateral și deltoid, într-o proporție mai mică [3]. Se poate observa de la vârsta de 8 luni, și devine evidentă clinic după vârsta de 3-4 ani. Hipertrofia musculară este de fapt o pseudohipertrofie consecutivă fibrozei musculare (Fig. 2). Uneori se observă și hipertrofia limbii[1].



**Figura 2. Hipertrofie de molețe la un pacient cu DMD (din colecția Clinicii de Neurologie Pediatrică a Spitalului Clinic de Urgență „Louis Țurcanu” Timișoara).**

Atrofiile musculare sunt evidente proximal la debut și au tendință de generalizare odată cu pierderea mersului.

**Semne asociate:***Contracturi musculare*

- Contracturile musculare apar datorită menținerii membrilor într-o anumită poziție și a lipsei de echilibru între mușchii agoniști și antagoniști;
- Contracturile musculare duc la retracții musculotendinoase cu apariția de atitudini vicioase;

- Picioarele sunt în varus equin, iar mersul devine digitigrad, precoce, în faza ambulatorie, prin scurtarea mușchilor gastrocnemieni;

- Slăbiciunea centurii pelvine apare precoce, cu rotirea anterioară a umerilor, plasarea posterioară a umerilor pentru menținerea centrului de greutate perpendicular pe linia umerilor, umerilor și gleznelor; datorită forței ce acționează la nivelul mușchiului gastrocnemian se produce retracția tendonului lui Achile;

- Retracții ale tensorului fasciei lata cu hiperlordoză și în paralel contracturi ale gleznelor cu debut în jurul vârstei de 5-6 ani, apoi ale umerilor și genunchilor;

- Contracturile musculare determină postura caracteristică copilului cu DMD, cu hiperlordoză lombară cu flexia coapselor pe abdomen, flexia gambelor pe coapse, flexia genunchilor și flexie plantară.

Între 6-10 ani, 70% din pacienții cu DMD prezintă contracturi la nivelul tendonului Ahilian, benzilor ileotibiale și articulațiilor șoldului, determinând mersul pe vârfuri și limitarea flexiei coapselor[4].

La vârsta de 8 ani apar contracturi la nivelul genunchilor, extensorilor gleznei și coapselor și se corelează cu deteriorarea mersului. Contracturile la nivelul umerilor apar târziu în evoluție.

*Scolioza*

Apare la 80-90% dintre pacienți după pierderea locomoției datorită deficitului muscular al mușchilor paraspinali; poate fi ameliorată dacă mersul și statul în șezut este prelungit până în jurul vârstei de 17-18 ani.

Scolioza și deficitul mușchilor respiratori duc la deteriorarea funcției respiratorii. Vârsta de apariție a insuficienței respiratorii se corelează cu gradul scoliozei [5].

**2. Alte manifestări clinice:**

Sunt datorate lipsei expresiei distrofinei în alte organe.

• *Afectarea cardiacă*

Este foarte frecventă și se impune a fi căutată sistematic. Datorită degenerescenței fibrei musculare, în special în ventriculul stâng apar modificări EKG în 90% din cazuri - undele R mai ample în precordialele drepte și unde Q profunde stângi. Ecografia cardiacă va arăta hipokinezie și diminuarea fracției de ejeție a ventriculului stâng. Deseori singurul semn clinic este tahicardia (alură ventriculară peste 100 bătăi pe minut.



Pot apărea și tulburări de conducere.

Afectarea cardiacă este lent evolutivă, cu toleranță clinică bună.

În cazuri rare apar fenomene de insuficiență cardiacă congestivă cu cardiomiopatie dilatativă.

Incidența acestei afecțiuni crește cu vârsta.

Vârsta de debut este de obicei după 15 ani.

În 50% din cazuri debutul este la 18 ani.

Inițial apar modificări EKG, apoi decompensarea clinică.

O supraveghere periodică a funcției cardiace permite alegerea momentului intervențiilor chirurgicale importante (în special pentru coloață), afectarea cardiacă gravă fiind o contraindicație absolută.

În cazurile în care se realizează intervenție chirurgicală, se impune supraveghere clinică, EKG și ecografică pre și post operator.

- *Afectarea sistemului nervos central*

#### Retard mintal

În literatura de specialitate se precizează asocierea unui retard mintal ușor cu  $QI$  sub 70 și tulburări de vorbire. Retardul mintal este corelat cu deleția în exonii 44-45 ai genei, în timp ce  $QI$  mai bun este legat de deleția exonilor 8-44[6].

Mai mulți autori au consemnat faptul că pacienții cu DMD pot avea și inteligență crescută dar cu dificultăți în memorarea recentă[7]. Funcțiile corticale superioare nonverbale sunt mult mai afectate decât funcția verbală [6].

EEG-ul nu e specific. Studiarea anatomopatologică la pacienții decedați a descris pahigirie, reacția neuronală corticală anormală și greutate scăzută a creierului.

#### Tulburări comportamentale și emoționale:

Apar în evoluția bolii.

Depresia reactivă asociată cu intelect de limită a fost diagnosticată în câteva cazuri [8].

Toleranța scăzută la frustrare, imaturitatea emoțională se adaugă la dependența progresivă patologică de părinți, întreținută de hiperprotecția parentală. Evoluția inevitabilă este de izolare socială. Intervenția precoce psihoterapeutică, cu consiliere familială, menținerea activităților sociale curente posibile, contribuie la ameliorarea tensiunii psihice și acceptarea mai ușoară a bolii.

- *Afectarea respiratorie*

Este consecința afectării musculaturii intercostale și a diafragmului.

Afectarea flexorilor gâtului, sternocleidomastoidienilor și paraspinalelor determină cifoscolioză severă care agravează deficitul respirator. Pe măsură ce boala evoluează se instalează retenția de  $CO_2$  și anoxemia, chiar în absența unei infecții. Retenția nocturnă de  $CO_2$  se manifestă prin cefalee la trezire.

Afectarea respiratorie și cardiacă sunt responsabile în evoluție, de deces.

- *Afectarea musculaturii netede*

Afectarea musculaturii digestive, cu tulburări de peristaltică, dilatație gastrică, volvulus, crampe, malabsorbție și megacolon sunt posibile în evoluție[9].

- *Afectarea vizuală*

Hemeralopia constă în tulburări ale adaptării la întuneric cu alterarea răspunsurilor la stimuli luminoși intermitenți. Studiile de biologie moleculară au relevat prezența proteinei Dp260 care este un izomer al distrofinei la nivel retinian[10].

- *Modificări osoase*

Sunt reprezentate de osteoporoză și se evidențiază în cazurile cu debut precoce. S-a constatat că este mai severă la membrele inferioare, ceea ce duce la fracturi frecvente.

#### Examene paraclinice:

##### Enzime musculare

Creatinkinaza(CK) s-a dovedit cea mai eficientă pentru diagnostic. Ea este localizată în mod normal în mușchii striati, netezi, tiroidă și creier.

În 1987 s-a demonstrat că CK este compusă din doi dimeri și se prezintă sub trei tipuri: muscular, cerebral și intermediar care pot fi diferențiate prin tehnici imunologice calitative[11].

În DMD cele trei tipuri sunt crescute în ansamblu.

CK seric în DMD atinge valori foarte crescute: peste 5000UI de la naștere chiar în absența semnelor clinice, atingând un maxim spre vârsta de 3 ani, cu valori mai scăzute tardiv, sub 1000UI, datorită reducerii masei musculare.

S-a demonstrat creșterea și a altor enzime sanguine în DMD: aldolaza serică, lacticdehidrogenaza serică(LDH), transaminaza glutamic-oxalacetică (GOT), transaminaza glutamic-piruvică (GPT), fosfoglucoz-izomeraza( Pgi), fosfoglucomutaza(PGm). Creșterea enzimelor hepatice GOT și GPT, fiind prezente în mușchi, sunt crescute și în DMD și în DMB. Astfel, o creștere neexplicată a lor duce la suspiciunea de DMP, chiar și la femei purtătoare asimptomatice dar și în alte forme de distrofii musculare.

**Alte anomalii serice și urinare:**

**Mioglobulinemia** este frecventă la pacienții cu DMD. Valorile cele mai mari s-au constatat la pacienții cu valori serice foarte mari ale CK și la cei care realizează activitate fizică intensă. La pacienții care nu și-au pierdut mersul, valorile se corelează cu gradul de activitate fizică.

**Examene electrofiziologice:**

**Electromiografia (EMG)** evidențiază traseu mio-gen cu potențiale cu durată scurtă: 3-7 msec, de amplitudine mică: 0.4-1,8 Mv, cele polifazice cu recrutare precoce, în special la nivelul mușchilor cu deficit muscular.

Se mai poate decela activitate de inserție crescută cu potențiale de fibrilație și descărcări repetitive, datorate probabil necrozei segmentare care separă fibrele musculare de fibrele nervoase sau fibrelor care se regenerează[12].

Pe măsură ce boala progresează amplitudinea potențialului de acțiune scade, diminuează activitatea inserțională, potențialele de unitate motorie devin foarte mici, cu recrutare scăzută, iar potențialele de fibrilație scad treptat.

Spre fazele finale ale bolii, unele regiuni musculare devin electric silențioase.

**Vitezele de conducere nervoasă (VCN)** senzitivă și motorie sunt normale.

**Examene imagistice:**

Tomografia computerizată musculară (CT-musculară) este utilizată pentru evidențierea modificărilor intramusculare și permite studierea maselor musculare profunde.

Se descriu zone difuze de atenuare a semnalului muscular.

CT-ul muscular de rutină constă în cinci secțiuni axiale efectuate la nivelul gâtului, trunchiului, pelvisului, coapselor și moleților.

Imagistica prin rezonanță magnetică (IRM musculară) a fost limitată în special la evaluarea adulților, la copii impedimentul constând în timpul prelungit de examinare, aproximativ 90 de minute. Dezavantajul metodei constă și în costul ridicat al investigației.

**EKG**

În 90% din cazuri apar modificări ale undei R care este mai amplă în precordialele drepte și unde Q profunde stângi, și la pacienții asimptomatici.

**Teste funcționale pulmonare:**

Spirometria de rutină, pneumograma, oximetria, capnografia, gazele sanguine capilare permit decelarea precoce a deteriorării funcției respiratorii și inițierea oportună a **ventilației mecanice asistate (VMA)**.

**Biopsia musculară:**

**Puncția biopsie musculară** evidențiază degenerarea musculară primitivă la care se asociază degenerare și pierdere consecutivă de fibre cu dimensiuni variabile de la atrofie la hipertrofie anormală, proliferare de țesut conjunctiv din endomisium și perimisium, înlocuirea fibrelor cu țesut conjunctiv și adipos, creșterea organelor celulare cu internalizări ocazionale ale nucleilor sarcolemei și răspuns celular variabil.

Diferențierea tipului de fibre este afectată. Originea adipocitelor este incertă.

Nervii și vasele intramusculare se mențin cu structură normală în evoluție.

În perimisium, endomisium și spațiile perivascularare se observă infiltrat cu celule inflamatorii reprezentate în special de celule T citotoxice și macrofage.

Microscopia electronică nu se realizează de rutină, considerându-se utile și specifice tehnicile de imunohistochimie și analiza Western-Blot[1].

Studiul distrofinei poate fi calitativ, prin imunohistochimie, pe cupe de mușchi congelat și cantitativ, prin Western- Blot.

**Teste imunohistochimice:**

La pacienții cu DMD folosind anticorpi anti-distrofină, sarcolemma nu se colorează sau se colorează foarte puțin.

Proporția imunoreactivității distrofinei detectabile depinde atât de cantitatea de distrofină prezentă în sarcolemă cât și de titrul de anticorpi antidistrofină folosiți în analiza imunocitochimică.

În 80% din pacienții cu DMD exprimarea distrofinei este întâlnită în mai puțin de 1% din fibre.

Tehnicile de imunocolorare sunt utile și pentru identificarea cazurilor sporadice de femei purtătoare simptomatice sau asimptomatice care au nivelurile crescute de CK în familiile care nu au băieți bolnavi sau în familiile în care analizele genetice nu detectează deleție sau duplicație.

La pacienții cu alte boli musculare membrana plasmatică se colorează omogen [1].

**Analiza Western Blot:**

Analiza Western Blot poate fi folosită pentru dozarea cantitativă și aprecierea mărimii (greutății moleculare) distrofinei reziduale. În DMD există o scădere semnificativă a cantității de distrofină sau absența acesteia[13].

**Teste genetice:**

Aproximativ 65% din băieții cu DMD au deleții sau duplicații ce implică unul sau mai mulți exoni din gena DMD și se identifică folosind reacția de polimerizare în lanț (PCR).

Alte mutații, incluzând deleții mici sau inserții sunt implicate la restul pacienților cu DMD. Aceștia pot fi identificați prin tehnici de secvențiere în laboratoare speciale[14].

**Diagnostic pozitiv:**

Se bazează pe tabloul clinic.

Este confirmat de nivelurile foarte ridicate ale CK sanguine, EMG și biopsie musculară.

Diagnosticul de certitudine se bazează pe absența sau reducerea marcată a distrofinei la biopsie musculară prin teste imunohistochimice, sau pe teste genetice care pun în evidență mutații specifice.

Pentru a evita întârzierea diagnosticului de distrofie musculară Duchenne, se recomandă[15] dozarea CK la următorii pacienți:

**Toți băieții care:**

- nu au abilitatea de a urca patru trepte succesive la vârsta de 18 luni;
- nu au un vocabular de cel puțin 10 cuvinte la 2 ani;
- au întârziere inexplicabilă a achizițiilor în dezvoltarea globală;
- au retard neuromotor de la 4-6 luni la 2 ani;
- au un mers stângaci, sub vârsta de 4 ani;
- nu pot să sară pe ambele picioare sau să fugă la 4 ani;
- au dureri la nivelul șoldurilor sau membrilor inferioare sub 4 ani.

**Diagnosticul prenatal:**

- Studiile de genetică moleculară sunt posibile după vârsta de 7-10 săptămâni de gestație. Testul de deleție ADN se poate efectua din vilozitățile corionice încă din primul trimestru de sarcină, când se evidențiază deleții cromozomiale [10].

**Screeningul neonatal:**

Se poate realiza prin dozarea CK seric la nou năs-

cuți, valorile acesteia fiind foarte crescute în sânge în a 15-a zi de viață la pacienții de sex masculin cu DMD.

- *Diagnosticul de purtător* poate fi făcut de la vârste mici evidențiind anomalii din gena distrofinei sau anomalii cromozomiale, în special translocăție autozomală X. Purtătorii sunt de obicei fără simptome dar pot avea valori moderat crescute de CK, ușoară hipertrofie a moleților, mialgii, sau simptome cardiace.

**Diagnostic diferențial:****După afectarea topografică:****1. Afectiuni cronice ale motoneuronului spinal**

- *Atrofia musculară spinală* tipurile II și III:
  - au tablou clinic asemănător;
  - enzimele musculare au valori normale;
  - EMG are aspect de tip neurogen și cu potențiale de fibrilație.

**2. Afectiuni ale nervilor periferici:**

- *Polineuropatii*
  - deficitul muscular este predominant distal;
  - ROT sunt absente precoce;
  - atrofiile sunt predominant distale;
  - se asociază tulburări de sensibilitate;
  - enzimele musculare sunt normale;
  - EMG are traseu neurogen;
  - VCN pot fi scăzute sau normale în funcție de patologia demielinizantă sau axonală.

**3. Afectiuni ale joncțiunii neuromusculare: Sindroame miastenice congenitale**

- *Miastenia Gravis*
  - debut tardiv;
  - deficit motor extraocular și bulbar, la nivelul rădăcinii membrilor cu variabilitate diurnă și accentuat de efort;
  - ROT sunt normale;
  - nu sunt prezente atrofiile musculare;
  - enzimele musculare sunt normale;
  - EMG este normal; cu stimulare repetitivă se constată decrement peste 10%.

**4. Afectiuni musculare:**

- *Miopatii congenitale:*
  - debut neonatal sau în prima copilărie;
  - hipotonie și deficit motor proximal;
  - sunt afectați mușchii respiratori cu aplatizarea anteroposterioară a toracelui;
  - atrofiile difuze, simetrice predominant axial și la rădăcinile membrilor;
  - trăsături dismorifice secundare;

- CK normale;
- biopsia musculară permite diagnosticul: predominanța fibrelor de tip 1 cu hipotrofia lor.
- **Distrofii musculare congenitale:**
  - debut precoce, din primul an de viață;
  - hipotonie și deficit muscular proximal;
  - creșterea moderată a CK;
  - la biopsia musculară, distrofina este prezentă.
- **Dermatomiozita:**
  - este însoțită de rash;
  - debutul este acut sau sub acut;
  - distrofina prezentă.

#### Alte distrofii musculare:

##### 1. Distrofii musculare forma centurilor:

- distrofina prezentă;
- alte deficite proteice la testele imunohistochemice.

##### 2. Distrofia musculară Emery – Draifuss:

- lipsește pseudohipertrofia gambelor;
- CK ușor crescute;
- sunt interesați mușchii biceps și triceps;
- contracturile sunt precoce la cot și genunchi;
- testele genetice evidențiază anomalii pentru genele ce codifică emerina și lamina.

##### 3. Distrofia facio-scapulo-humerală:

- este autozomal dominantă;
- are debut mai tardiv;
- afectează inițial și predominant musculatura facială, apoi centura scapulară, și mușchii lojei anterioare ai gambei;
- afectarea centurii pelvine se produce tardiv;
- nu este afectat mușchiul cardiac;
- CK sunt normale sau ușor crescute;
- distrofina este prezentă.

##### 4. Distrofia musculară Becker:

- cu fenotip asemănător;
- debutul este mai tardiv;
- evoluția bolii este mai lentă;
- speranța de viață este mai mare;
- studiul cantitativ al al distrofinei arată valori peste 20% și reprezintă element de certitudine diagnostică.

În tabelul I sunt prezentate principalele forme de distrofie musculară cu aspectele genetice specifice de diferențiere:

Tabel I. Diagnostic diferențial genetic

BOALA/FENOTIP	FORME CLINICO-GENETICE	MOD DE TRANSMITERE	LOCALIZARE GENETICĂ	GENĂ/PROTEINĂ ANORMALĂ
DISTROFIA MUSCULARĂ DUCHENNE		XLR	Xp 21	DISTROFINĂ
DISTROFIA MUSCULARĂ EMERY – DREIFUSS	FORMA X LINKED R	XLR	X <sub>q</sub> 28	EMERINĂ
	FORMA AUTOSOMAL DOMINANTĂ	AD	1 <sub>q</sub> 11-q 23	LAMINA A/C
DISTROFIA MUSCULARĂ BECKER		XLR	Xp 21	DISTROFINĂ
DISTROFIA MUSCULARĂ FACIO-SCAPULO-HUMERALĂ		AD	4q 35	
DISTROFIA MUSCULARĂ DISTALĂ	MIYOSHI	AR	2p 12 – 14	DISFERINĂ
	FORMA TIBIALĂ FINNISH-MARKESBERY	AD	2q -31	TITINĂ
MIOPATIA BETHLEM		AD	21q 22.3	COLAGEN TIP VI Subunitatea $\alpha_1$ and $\alpha_2$
		AD	2q 37	COLAGEN Subunitatea $\alpha_3$
DISTROFIA MUSCULARĂ DE CENTURĂ	CU DEFICIT DE ADALINĂ	AR	13q 12	ADALINĂ = $\gamma$ sarcoglican
			17q 12 - q 21.33	ADALINĂ = $\alpha$ sarcoglican
			4q 12	ADALINĂ = $\beta$ sarcoglican
	CU DEFICIT DE CAPLAINĂ	AR	15q 15.1- q 21.1	CAPLAINĂ 3
	CU DEFICIT DE CAVEOLIN	AD	5q 22 – q 34	1A
			1q 11 - 21	1B
			3p 25	CAVEOLIN 3 1C
6 q 23			1D	
7q			1E	
	AD	5q 31		

#### DISTROFIA MUSCULARĂ BECKER:

##### Definiție:

Distrofia musculară Becker(DMB) este o distrofie musculară asemănătoare distrofiei musculare Duchenne, cu manifestări clinice mai ușoare.

##### Istoric:

Boala a fost prezentată în 1955 de Becker și Kienner ca boală distinctă de DMD prin gradul diferit al manifestărilor clinice.

##### Epidemiologie:

Se consideră că este de 3 ori mai rară de cât DMD. Se raportează o incidență de 3-6 la un milion de nou născuți [16].

##### Genetica:

Se transmite recesiv X-linkat pe banda 21 a brațului scurt p(XP21). Bolile Becker și Duchenne sunt alelice, după cum este demonstrat de afectarea genei pentru distrofina. Distrofina este însă diferită calitativ (cu greutate moleculară mai mică) și cantitativ. Studiile ADN în boala Becker au evidențiat deleția unor exoni diferiți de cei din DMD, situați spre sfârșitul genei pentru distrofina.



**Tabloul clinic:**

Boala debutează după vârsta de 7 ani (între 5-15 ani), uneori în decada 3 sau 4 de viață.

La 10 ani aproximativ 50% sunt simptomatici, iar la 20 de ani 90% au semne clinice de boală.

**Afectarea musculară:**

Clinic se constată deficit muscular predominant proximal, membrele inferioare fiind mai afectate decât cele superioare.

Sunt afectați predominant mușchii centurii pelvine și ai coapsei.

Evoluția este lent progresivă.

Deficitul centurii scapulare se dezvoltă mai târziu.

Mușchii faciali și flexori ai gâtului nu sunt afectați.

Severitatea și vârsta de debut sunt corelate cu valorile distrofinei musculare.

Pseudohipertrofia moleților apare precoce la majoritatea pacienților.

Simptomul de debut poate fi durerea la nivelul gambelor.

Reflexele osteotendinoase sunt păstrate, iar contracturile sunt mai puțin frecvente.

**Afectarea SNC:**

Intelectul este normal. Sunt raportate și cazuri cu IQ scăzut. Acestea sunt asociate cu deleția exonilor 48 și 49 ai genei de distrofină sau a unității de transcripție Dp140.

**Afectarea cardiacă:**

Afectarea cardiacă este mult mai rară și mai puțin severă.

S-au descris și cazuri rare cu afectare cardiacă cu debut precoce, anterior deficitului motor[17].

**Afectarea musculaturii netede:**

Nu este afectată musculatura netedă.

**Afectare hormonală:**

Pacienții adulți prezintă hipofertilitate sau sterilitate prin atrofi testiculară.

**Paraclinic:**

CK are valori ridicate între 5000-20000UI/l asemănătoare celor din DMD. Valorile scad cu vârsta și gradul de mobilizare.

EMG-ul arată traseu miogen.

Biopsia musculară relevă degenerare miogenă primitivă cu grad de severitate mai scăzut decât în DMD, cu bazofilie, inflamație și fibroză.

Testele imunohistochemice relevă o colorare parțială a sarcolemei.

Analiza Western Blot relevă o scădere a cantității de distrofină, cu greutate moleculară normală sau

scăzută în 80% din cazuri –în mutații de tip deleții, cu greutate moleculară crescută (în duplicații) în aproximativ 5% și cu greutate moleculară normală dar redusă cantitativ în aproximativ 15% din pacienții cu DMD[18].

**Tratamentul:**

*Este comun în DMD și DMB.*

*Nu există un tratament curativ eficient ci doar suportiv medicamentos și tratamentul complicațiilor.*

**Măsuri profilactice:**

→ evitarea creșterii în greutate și a eforturilor fizice supramaximale;

→ intervenții corectoare precoce pentru evitarea deformărilor la nivelul membrelor și coloanei vertebrale și ortezare precoce;

→ mobilizare precoce după intervenții ortopedice corectoare;

→ utilizarea ventilației mecanice asistate de la primele semne de insuficiență respiratorie, inițial nocturne, iar în fazele tardive ale bolii și diurne;

→ evitarea anesteziei generale cu halotan și succinilolină pentru a evita apariția hipertermiei maligne și a cardiomiopatiei dilatative.

**Tratamentul medicamentos:****5. Tratament cortizonic**

Corticoterapia prelungește mersul cu aproximativ 2-3 ani, ameliorează forța și funcția musculară.

Glucocorticoizii sunt singurele medicamente care și-au dovedit eficacitatea, având un efect stabilizator asupra membranelor și posibil un efect antiinflamator. Sunt utilizate de peste 30 de ani ca tratament paleativ.

**Au fost utilizate diverse scheme:**

→ la început prednison 1,5-5 mg/kgc/zi din 2 în 2 zile; s-au înregistrat efecte secundare importante: creștere în greutate, hipertensiune arterială, hiperactivitate, cataractă, osteoporoză.

→ administrarea zilnică de prednison în doze de 0,75 mg/kgcorp/zi a dus la creșterea forței musculare după 3 luni de tratament și încetinirea până la stoparea deteriorării după 18 luni de administrare. S-a constatat că apar efecte adverse și schema este puțin eficientă[19,20].

→ cea mai avantajoasă schemă din punct de vedere al efectelor adverse, constă în administrarea de 0,75 mg/kg/zi prednison într-o priză unică, dimineața, timp de 10 zile lunar, cu pauză de 20 de zile, timp îndelungat.

Efectele terapeutice constau în prelungirea mersului uneori cu 5 ani, creșterea forței musculare, reducerea căderilor. Efectul este cu atât mai benefic cu cât este administrat mai precoce la pacientul care nu a pierdut mersul, la vârsta de 3-5 ani. Acest protocol se utilizează cu regularitate din anul 2000 în Centrul de Boli Neuromusculare Dubowitz, Spitalul Hammersmith din Londra.

Prednisonul în schema prezentată, duce la îmbunătățirea forței musculare în 10 zile și atinge un maxim de eficacitate în 3 luni[21].

În prezent tratamentul optim este de 0,75 mg/kgc/zi timp de 10 zile pe lună, în doză maximă pe zi de 40 mg., la pacienții cu DMP cu vârste între 5 și 15 ani[1].

La pacienții imobilizați în scaun cu rotile, tratamentul cu prednison în aceeași doză s-a demonstrat că prelungeste funcția și forța musculară la nivelul membrelor superioare și menține capacitatea vitală[22].

Pentru monitorizarea tratamentului cu prednison pacienții trebuie evaluați la intervale de 3-6 luni. Se controlează TA, înălțime, greutate, capacitate vitală, și se evaluează clinic. Evaluarea clinică va include și timpul necesar realizării diferitelor teste: timpul necesar efectuării a 40 de pași, să urce 5 trepte, să se ridice de la podea în picioare. Aceste evaluări se fac atât la șolduri și picioare cât și la brațe și umeri (a se vedea tabel 2. Scala de evaluare funcțională a pacienților cu DMD)[23].

Pentru monitorizarea tratamentului cu prednison se mai efectuează teste de laborator de rutină: sumar de urină la 3 luni, hemograma, concentrația serică a electroliților, teste hepatice și renale la 6 luni. Testarea enzimelor musculare nu are importanță deoarece valorile sunt fluctuante, în funcție de activitatea fizică și sunt influențate de tratamentul cu prednison.

Prednisonul este în general bine absorbit și metabolizat la nivelul ficatului în prednisolon.

Aproximativ 80% din prednisolon este legat de proteina plasmatică.

Prednisolonul liber (20%) este fracțiunea activă care exercită efecte metabolice celulare.

**Tabel II. Scala de evaluare funcțională a pacienților cu DMD (După Moxlev RTIII, 2003).[23]**

Umeri și membre superioare	Șolduri și membre inferioare
1. De la postura de ortostatism cu brațele pe lângă corp, pacientul poate face abducția brațelor în formă de cerc, ca să se atingă deasupra capului.	1. Merge și urcă scările fără ajutor.
2. Poate ridica brațele deasupra capului doar cu coatele în flexie sau folosind mușchii accesori	2. Merge și urcă scările cu ajutorul brațelor.
3. Nu poate ridica mâinile deasupra capului dar poate duce la gură un pahar cu apă de 250 ml, folosind ambele mâini dacă este necesar.	3. Merge și urcă scările încet cu ajutorul brațelor. Urcă patru trepte în mai mult de 4 secunde.
4. Poate duce mâinile la gură dar nu poate duce la gură un pahar cu apă de 250 ml.	4. Merge fără ajutor și se poate ridica de pe scaun, dar nu poate urca scările.
5. Nu poate ridica mâinile la nivelul gurii, dar le poate folosi pentru a ține un stilou sau pentru a-l ridica.	5. Merge fără ajutor, dar nu se poate ridica de pe scaun și nu poate urca scările.
6. Nu poate duce mâinile la gură și nu le poate folosi în scopuri funcționale.	6. Merge doar cu ajutor.
	Este imobilizat în scaunul cu rotile.

#### Reacțiile adverse ale corticoterapiei cu prednison și deflazocort:

Cele mai frecvente reacții adverse sunt: creșterea în greutate, facies cushingoid, tulburări de dispoziție, insomnie, eritem facial.

Reacțiile adverse grave - fracturi vertebrale, diabet zaharat, hipertensiune arterială și hemoragii gastro-intestinale sunt rare dacă se respectă protocolul prezentat. Se recomandă a se asocia produse de calciu și D3-1 cps/zi pentru prevenirea osteoporozei și menținerea masei osoase. Dozele sunt ajustate în funcție de greutatea corporală. Dacă apar reacții adverse severe dozele se scad cu 25%. Se recomandă întreruperea tratamentului dacă după 6 luni nu se constată nicio ameliorare sau stabilizare a performanțelor motorii

sau dacă efectele secundare sunt intolerabile. Nu se recomandă întreruperea bruscă a tratamentului.

Reacțiile adverse sunt mai reduse la doze mai mici de 0,75 mg/kgc/zi.

Doze de 0,3-0,5 mg/kgc/zi produc un răspuns benefic dar nu atât de important.

Deflazocortul care este un derivat sintetic al prednisolonului pare să producă efecte similare corticoterapiei. Dozele sunt de 0,9-1,2 mg/kgc/zi, cu reacții adverse mai puține, cu excepția cataractei care este mai frecventă. Deflazocortul este folosit în Europa. Nu se folosește în SUA.

2. **Tratamentul hormonal** nu și-a dovedit eficacitatea

3. **Tratamentul cu suplimente nutritive**

I → **Creatina** - se consideră că îmbunătățește performanțele musculare. Studiile au implicat un număr redus de pacienți și de aceea nu are valoare statistică pentru a susține eficacitatea acesteia.

II → **Coenzima Q10** - studii recente au arătat o îmbunătățire a activității fizice la pacienții cu DMP.

4. **Alte tratamente**

Ciclosporina poate fi utilă în doze de 5-10 mg/kg/zi[24].

**Tratamente în curs de cercetare:**

1. **Transferul de mioblaști**

La șoareci Mdx nu are efectele așteptate[25]. Principiul constă în implantarea de mioblaști - celule stem - de la indivizi neafecțați în mușchii atrofiați ai pacienților care ar fi urmată de presupusa refacere a masei musculare cu miocite normale structural post mitotic. Studiile inițiale pe subiecți umani au arătat efecte clinice pozitive și reacții adverse ușoare[26]. Studii ulterioare efectuate pe subiecți umani în perioada 1993-2000 au fost soldate cu eșec datorită faptului că sistemul imun al gazdei a eliminat mioblaștii de la donator care au supraviețuit procedurii de transplant[27].

Deși numărul mioblaștilor donori rămași în gazdă a fost mai mare decât cel estimat, aproximativ 50% nu au fuzionat în miofibrile la nivelul gazdei și din aceia care au fuzionat, numai 50% au produs distrofină. În DMD este afectată întreaga masă musculară, reprezentând 40% din greutatea corpului, implantul izolat dar repetat se dovedește insuficient. Metoda necesită injecții intramusculare multiple, la anumiți mușchi accesul fiind limitat, ceea ce face această metodă greu

accesibilă.

2. **Terapia genică**

Este în stadiul de cercetare în clinicile din Paris din anul 2000, în paralel cu alte centre. Metoda constă în corectarea genei pentru distrofină prin acțiune la nivel de ADN uman. Terapia genică utilizează două tehnici : ex vivo și in vivo.

Tehnica ex vivo este mai sigură, se produce în doi timpi și constă în recoltarea miocitelor anormale, prelucrarea externă a ADN-ului lor și reimplantare ulterioară.

Tehnica in vivo necesită un vector care să introducă în organism gena corectoare.

Vectorul utilizat poate fi virus cu ADN-ul purificat, nepatogen care să elibereze în miocite gene corectoare sau un vector nonvirus: ADN plasmidic, lipozomi.

Virusii utilizați în terapia genică sunt din clasa retrovirusuri, lentivirusuri, adenovirusuri.

S-a demonstrat că utrofina, omolog autozomal al distrofinei poate substitui funcțional distrofina, astfel că accentuarea expresiei genice poate preveni apariția fenotipului Duchenne la șoarecii mutați[28].

Activarea ei poate rezolva problemele terapiei genice convenționale în cazul distrofinei.

3. **Tratamentul de inducere a codonului-stopmutație**

Prin administrarea de aminoglicozide pe modele animale, s-a evidențiat încetinirea procesului distrofic la șoarecii afectați de acest tip de boală[29].

În mai 2002, mai mulți autori[30], au publicat rezultatele preliminarilor ale studiului eficienței tratamentului cu Gentamicină pe patru subiecți umani cu DMD cu mers posibil sau imobilizați în fotoliu rulant de cel mult 4 luni, cu mutații punctiforme ale genei pentru distrofină.

Gentamicina a fost administrată iv, 7,5 mg/kgc în două cure de câte 6 zile la interval de 7 săptămâni respectând protocolul supervizat de Universitatea din Napoli, cu recoltarea de biopsie musculară după terminarea celei de-a doua cure, monitorizarea enzimelor musculare. Rezultatele au fost favorabile pentru formele cu mutații punctiforme.

În ultimii ani cercetătorii au încercat să răspundă la întrebarea: este capabilă terapia genică să „vindece” sau să prevină slăbiciunea musculară? Există studii clinice în desfășurare care implică terapia genică bazată pe o tehnică numită “exon skipping”. Primele rezultate sunt promițătoare, deși cercetările sunt de abia la început. Medicamentul care realizează acest lucru se

preconizează că va fi disponibil pe piață. La sfârșitul lunii iulie 2014 compania farmaceutică Sarepta Therapeutics a anunțat rezultatele obținute în urma studiului efectuat pe 12 cazuri de distrofie musculară Duchenne, folosindu-se produsul Eteplirsen (bazat pe mecanismul exon skipping). Rezultatele obținute au fost promițătoare.

Pentru tratamentul distrofiei musculare Duchenne există și posibilitatea unei terapii celulare, folosind celule care să producă distrofina normală.

Este disponibilă ca formă farmaceutică o variantă de proteină foarte similară cu distrofina. Această alternativă sintetică poartă numele de utrofina.

Aproximativ 13% dintre pacienții cu distrofie musculară au mutații non sens la nivelul genei care codifică pentru distrofina, acest lucru ducând la sinteza unei proteine trunchiate (incomplete), nefuncționale.

Translarna (Ataluren) este primul tratament aprobat ce se adresează etiologiei de fond a DMD cu mutație nonsens, la pacienții cu vârstă de 5 ani și peste, care nu au pierdut mersul autonom. A fost autorizat de punere pe piață în 31 iulie 2014, și este disponibil și în România [31, 32, 33, 34, 38, 39].

A fost descoperită și o moleculă (numită RTC13) care acționează la nivelul ARNm al genei distrofinei mutante, permițând sinteza unei proteine integrale și funcționale.

### **Tratamentul complicațiilor**

#### *Tratamentul insuficienței cardiace*

Insuficiența cardiacă se tratează cu digoxin și substanțe diuretice la pacienți cu decompensare cardiacă precoce.

#### *Tratamentul tulburărilor respiratorii*

Tulburările respiratorii necesită ventilație mecanică asistată (VMA).

Ventilația mecanică asistată s-a dovedit a fi singura metodă terapeutică cu ajutorul căreia poate fi prelungită durata medie de viață a pacienților cu boli neuromusculare ereditare [35].

În caz de insuficiență ventilatorie sindromul restrictiv poate rămâne mult timp compensat. În această fază simptomatologia clinică este absentă, iar capacitatea vitală (CV) are valori normale.

În fazele inițiale ale bolii presiunile arteriale ale gazelor sanguine (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) au valori normale atât în veghe cât și în somnul REM și non-REM.

În evoluție hipercapnia și hipoxemia sunt prezente în ambele faze ale somnului. Clinic apar tulburări de

somn, cu treziri frecvente datorită tulburărilor de respirație, cu senzația de sufocare. În stadiile avansate de boală insuficiența respiratorie este evidentă clinic atât în cursul somnului cât și în veghe: dispnee, cianoză, somnolență diurnă. VMA menține la valori normale concentrația gazelor sanguine și pune în repaus mușchii respiratori care au deficit muscular. Asistența ventilatorie nocturnă ameliorează activitatea respiratorie diurnă și reduce rata anuală de scădere a capacității vitale. Deoarece ventilația mecanică continuă poate determina atrofii de nefolosire, se consideră că metoda de elecție pentru a preveni instalarea precoce a insuficienței respiratorii este VMA, cu presiune pozitivă intermitentă. Tratamentul insuficienței respiratorii prin VMA este introdus din anul 1990 [35]. VMA este indicată în caz de hipercapnie nocturnă (PaCO<sub>2</sub> SUB 60 mmHg), determinată de hiperventilație și la valori de CA sub 100 ml.

În scop preventiv este indicată în faza compensată de insuficiență ventilatorie, când presiunea arterială a gazelor respiratorii este normală, iar curba capacității vitale este descendentă (scădere anuală de 200 ml).

Reabilitarea respiratorie precoce se realizează prin ventilație mecanică asistată intermitentă pe cale nazală, care încetinește sindromul respirator restrictiv.

Reabilitarea respiratorie tardivă constă în aplicarea VMA în caz de insuficiență respiratorie cu scăderea gazelor sanguine.

### **Tratamentul de reabilitare specifică**

Se impune precoce.

Exercițiile fizice active pot încetini evoluția bolii [10].

Se vor evita eforturile fizice mari care conduc la oboseală musculară și evoluție mai rapidă a bolii.

Plimbările regulate zilnic, câte 2 ore pe zi vor fi încurajate pentru menținerea forței musculare și întârzierea retracțiilor [36].

### **Intervențiile chirurgicale**

Pentru eliberarea contracturilor se impun intervenții chirurgicale (tenotomii) pentru prelungirea mersului, iar mobilizarea precoce după intervenție este prioritară.

### **Regimul de viață**

Se recomandă prevenirea și tratarea precoce a intercurențelor respiratorii, climat constant de confort termic și umiditate, evitarea aglomerației pentru a reduce expunerea la infecții.

În cazul infecțiilor de căi respiratorii se încurajează



tusea și respirația profundă și evitarea antitusivelor și a sedativelor, consumul mare de lichide pentru asigurarea unei bune expectorații.

Se impune prevenirea obezității.

Imunizările trebuie actualizate anual.

**Consilierea familială** este absolut necesară pentru a contribui la menținerea integrității emoționale a familiei și a încuraja copilul să respecte programul de reabilitare și regimul special de viață impus de demersul progresiv al bolii.

### Evoluție și prognostic

Tulburările de mers progresează spre imobilizare la pat după vârsta de 6 ani.

Durata bolii este variabilă, iar în cazurile cu evoluție lentă, mersul poate fi păstrat până la 12-13 ani.

Imposibilitatea mersului se instalează după vârsta de 9-13 ani sau mai târziu dacă s-a efectuat tratamentul steroid.

Între 6 și 11 ani se constată scăderea forței musculare cu deteriorarea funcțiilor: urcatul scărilor, ridicarea din decubit în ortostatism, urcatul scărilor cu ajutorul mâinilor și mersul pe distanță scurtă.

Tulburările respiratorii sunt restrictive cu reducerea volumului pulmonar prin afectarea mușchilor intercostali și a diafragmului.

Este necesară evaluarea periodică a funcției respiratorii de 1-4 ori pe an după caz.

În evoluție apare cifoscolioză severă datorită afectării mușchilor cefei, sternocleidomastoidieni și a musculaturii paravertebrale care agravează afectarea respiratorie. Cifoscolioza apare în general după vârsta de 10 ani, este evolutivă și ireversibilă.

Complicațiile pulmonare care pot să apară sunt pneumonia și atelectazia. Acestea necesită tratament prin spitalizare de urgență, cu VMA cu presiune pozitivă intermitentă, traheostomie la nevoie.

Tulburările de somn sunt datorate hipoxiei și constau în insomnie de adormire, coșmaruri, pavor nocturn, automatism ambulator nocturn – necesită VMA, inițial nocturn, în evoluție și diurn.

Decesul survine între 15 și 25 ani, prin insuficiență respiratorie asociată cu infecții respiratorii la pacienții subponderali sau cardiomiopatie la pacienții obezi.

Speranța de viață poate fi crescută cu VMA, și respectarea unui regim de viață adaptat nevoilor impuse de progresiunea bolii.

În tabelul III sunt prezentate schematic evoluția clinică și metodele terapeutice [37].

**Tabel III. Stadiile evolutive în DMD[37]**

Stadii DMD	Semne clinice	Tratament
Stadiul 1 1-3 ani	- semne clinice discrete sau absente - întârzierea instalării mersului - semnul Gowers pozitiv - dificultăți la urcatul scărilor - CPK –crescută - EMG miogen - biopsie musculară- teste imunohistochimice –absența distrofinei	- evitarea imobilizărilor și a repauzului la pat prelungit
Stadiul 2 3-6 ani	-deficit motor progresiv - oboesală musculară -aparitia restricțiilor de mișcare - apariția retracțiilor tendinoase	- tratament de reabilitare specifică-stretching -intervenție chirurgicală pentru retracții
Stadiul 3 1-10 ani	- contractii (retracții) și deficit muscular sever	- orteze gleznă picior - tratamente simptomatice
Stadiul 4 10-14 ani	-pierdere progresivă a mersului independent prin retracții accentuate și deficit motor grav evolutiv	- măsuri de limitare și prevenirea accentuării retracțiilor tendinoase și corectarea cifoscoliozei - operații corectoare pentru retracții cu orteze precoce
Stadiul 5 14-18 ani	-pierdere mersului autonom cu imobilizare la pat sau în fotoliu rulant -fenomene de insuficiență respiratorie	- se menține cât este posibil mersul și ortostațiunea cu ajutorul ortezelor și corticoterapiei -se inițiază VMA nocturnă
Stadiul 6 Peste 18 ani	stadiul de adult imobilizat atrofii musculare generalizate insuficiență respiratorie nocturnă și diurnă	-VMS permanentă -aparatură tehnică de mobilizare

## Sfatul genetic

Este cea mai eficientă intervenție la familiile purtătoare, datorită mecanismului X-linkat, și depistarea statusului de mamă purtătoare.

În familiile cu bolnavi cu DMD și DMB, mama purtătoare are 50% probabilitatea de a transmite mutația la fiecare sarcină.

Băiatul care moștenește mutația va fi afectat, iar mama va fi purtătoare.

## Diagnostic diferențial între DMD și DMB:

În majoritatea cazurilor, DMB se distinge de DMD prin vârsta de debut, severitate și evoluție. Dacă în DMD debutul este în jurul vârstei de 3 ani, în DMB debutul se situează între vârsta de 5-10 ani, imobilizarea în scaunul cu roțile apare după 13 ani, iar nivelul distrofinei este peste 20%, față de DMD în care are valori scăzute sau absente.

Există și un grup de pacienți cu fenotip intermediar (Outliers), cu DMD moderat și DMB sever.

Aceștia – păstrează mersul peste vârsta de 12 ani, sunt imobilizați în scaunul cu roțile înainte de 16 ani, nu sunt afectați mușchii flexori ai gâtului.

În tabelul IV sunt prezentate date genetice, clinice și anatomopatologice în distrofinopatii importante pentru diferențierea fenotipurilor prezentate[1].

## Prezentare de caz

Pacient în vârstă de 12 ani, internat pentru: tulburări de mers, cu căderi frecvente și dificultate la urcarea scării, mialgii la eforturi fizice minore. Debut în jurul vârstei de 5 ani.

Din anamneză reținem că dezvoltarea motorie pe etape de vârstă a fost ușor întârziată: a ținut capul la 5 luni, a stat în șezut fără sprijin la 8 luni, a mers independent la 1 an și 6 luni. Antecedentele heredocolaterale și personale nu au fost semnificative.

Examenul neurologic relevă tulburări de mers: mers cu bază largă de susținere, legănat, cu hiperlordoză. Urcă scările doar cu sprijin de bară și susținut de un aparținător, semn Gowers: se ridică cu dificultate din poziția șezând, cățărându-se pe propriul corp, cu ajutor, forța segmentară este diminuată proximal, cu atrofii accentuate de centuri și pseudohipertrofii, retracții tendinoase, deformări articulare, cifoscolioză, picior scobit talus var.

## Examen paraclinice biochimice:

Hemograma, glicemie, calcemie, valori normale,

transaminazele valori crescute, enzimele musculare CPK și LDH mult crescute (de 10 ori peste valoarea normală), CPK la mamă ușor crescută.

**Tabel IV. Date genetice, clinice și anatomopatologice în distrofinopatii**  
(După Darras BT, Menache CC, Kunkel LM, 2003)[1].

Fenotip	Locusul genic	Proteina	Transmitere ereditară	Clinic	Anatomopatologic
DMD	Xp21	Distrofina	X R*	Debut 2-5ani Pseudohipertrofie QI scăzut Afectare cardiacă Evoluție rapidă Imobilizare 10-12 ani Deces 15-30 ani	Modificări distrofice severe Imunohistochimic-distrofina total sau aproape total absentă Western blot: distrofina 0-5% din valorile normale
Forma intermediară	Xp21	Distrofina	XR*	Severitate intermediară Imobilizare 12-16 ani	Western Blot: distrofina 5-20% din valorile normale
DMB	Xp21	Distrofina	XR*	Debut variabil Evoluție mai lentă Imobilizare după 16 ani	Modificări distrofice moderate Imunohistochimic-Distrofina se colorează normal sau ușor redus Western Blot: distrofina: peste 20% din valorile normale

\* XR- X linkat recesiv

EMG: evidențiază leziune miogenă.

Echografie cardiacă normală, EKG normal.

Aspectul clinic și paraclinic ne orientează spre DMB, având în vedere vârsta și evoluția, cu păstrarea mersului la 12 ani.

Analiza genetică însă decelează deleție specifică pentru DMD.

Am ales acest caz spre prezentare deoarece aspectul clinic evolutiv lent ne orientează spre DMB, dar analiza genetică a arătat că ne aflăm în fața unui caz de DMD, sau ar putea fi un fenotip intermediar, analiza imuno-histochimică fiind importantă pentru evidențierea sau nu a distrofinei și proporția acesteia, dacă este prezentă.

## Particularitatea cazului:

Copilul a fost depistat de la vârsta de 5 ani, a urmat tratament cu prednison și tratament de reabilitare specifică conform protocoalelor, ceea ce ar putea explica evoluția lentă, cu păstrarea mersului la 12 ani. (Fig. 3)



Figura 3. Pacient diagnosticat cu DMD, la vârsta de 12 ani (Din colecția Secției Clinice de Neurologie Pediatrică Timișoara).

## Concluzii

Este important a cunoaște elementele de diagnostic clinic și paraclinic în distrofinopatii pentru a depista aceste afecțiuni cât mai precoce posibil.

Urmărirea și aplicarea protocoalelor terapeutice prezentate, crește speranța de viață a acestor pacienți, cu îmbunătățirea calității vieții lor și ale familiilor acestora.

Un deziderat important este de a menține pacientul cât mai mult timp posibil în stadiul de mers independent, stadiu în care pot beneficia în viitorul apropiat de terapie genică.

Din anul 2014 pacienții diagnosticați cu Distrofie musculară Duchenne cauzată de o mutație nonsens la nivelul genei distrofinei beneficiază de tratament cu Ataluren (Translarna) de la vârsta de 5 ani și peste această vârstă înainte de pierderea mersului autonom.

\*

\* \*

## Introduction:

Dystrophinopathies are X-linked recessive disorders caused by the deficit in dystrophin, the muscle protein responsible for the disease.

The most important dystrophinopathies are Duchenne progressive muscular dystrophy (DMD) and Becker progressive muscular dystrophy (BMD). Intermediate DMD phenotypes are also described in specialist literature, with mild clinical signs and BMD with severe evolution (the so-called “outliers”).

There are less severe forms, too, without affecting the muscles of the girdles: isolated quadriceps myopathy, myopathies affecting the heart muscle, X-linked dilative cardiomyopathy (XLDCM), elevated levels of muscle enzymes without clinical signs, myoglobinuria with muscle cramps, women who are asymptomatic carriers and pass on the genetic mutation / the defective gene.

The heterogeneity of clinical picture and of the evolution has prompted a wide spectrum of phenotypes. The most severe phenotype is the DMD, BMD, progressive muscular dystrophy with the intermediate phenotype (PDM), with primary damage of the skeletal muscle and the X-linked dilative cardiomyopathy with primary significant impairment of heart muscle[1].

## DUCHENNE PROGRESSIVE MUSCULAR DYSTROPHY

### Definition:

DMD represents the severe phenotype of dystrophin deficiency.

### History:

The first description of the disease dates back to 1868. The neurophysiologist Guillaume Benjamin Duchenne described the disease as pseudohypertrophic muscular paralysis associated with deposits of connective tissue and fat. In 1886, Gowers described the sign bearing his name and remarked the transmission of the disease by the mother. In 1891, Erb described the histological changes of the disease. In 1986, several American scientists (Monaco A.P. and Kunkel L.M.) discovered the genetic defect in DMD and in 1987 Hoffman identified the actual damaged protein, namely **dystrophin**. With the discovery of dystrophin, the classification of progressive muscular dystrophies is based on the protein deficit, provided that it can be determined.

### Epidemiology:

DMD is the most frequent progressive muscular dystrophy in children and it occurs in about 1 of 3000 new-born males[2].

**Genetics:**

The dystrophin *gene* is one of the longest in the human genome and consists of 79 exons; the transmission of the disease is X-linked recessive.

*Genetic locus:* The DMD gene is located on band 21 of the short (p) arm of the X chromosome at position 21.2. (**Xp21.2**).

Dystrophin is a large structural protein, respectively 427kDa, which is contained in the muscle membrane, but it is also present in other tissues: brain, retina, and kidneys.

*Mutations:*

- deletions, or duplications: the majority located at the level of segment 3 at the end of N-terminal or in the rod area, involving a number of exons. Two mutations may take place in a gene;
- punctiform mutations (73% of patients who do not have deletions or duplications) - located across the entire gene, most of them distal of exon 55, many of them at the level of the regulating splice sites or of the gene expression. They are of the following types: nonsense, with a shift in the reading frame, with missense (rare). They may cause DMD or BMD.

In the DMD, 65% of patients have deletions and in the BMD, 55-85% have deletions or duplications. One third of cases occur as new mutations. One third of severe cases come from new mutations (Haldane's rule).

**Genotype-phenotype correlations:**

- deletions at level E45-47 or E48 affecting the rod, determine the moderate BMD phenotype;
- N-terminal deletions cause a more severe Becker phenotype;
- C-terminal deletions or those at the level of cysteine-rich region cause severe DMD because it affects the binding of dystrophin to dystroglycan - sarcoglycan complex;
- E1 and promoter deletions cause a milder phenotype, with or without severe cardiomyopathy;
- deletions of the proximal third of the rod domain (E13-17) cause cramps and myalgia. At the anatomic-pathological examination, the dystrophin appears normal;
- the absence of dystrophin causes a severe phenotype and the reduction of the sarcoglycans

and of other proteins associated with the dystrophin. Dystrophin is elevated in the cytoplasm;

→ Mutations at the level of the end of the C-terminal lead to severe clinical pictures.

*Heterozygots:*

Women are asymptomatic carriers. Monozygotic female twins with different phenotypes (a symptomatic one and a normal one) represent a particular situation. It is possible that at the time of separation of the two zygotes, one of them might have received more cells in which the normal chromosome had been inactivated, leading to the further development of a more severe phenotype.

**The clinical picture:***Onset of the disease*

The clinical onset is insidious. It is situated around the age of 3-5 years, although the disease is there since birth. One may note a delay in developing motor skills according to age stages. If they have acquired ambulation, the onset manifestation consists in running difficulties. These children are described by their parents as less active than other children of their age, having difficulty in climbing flights of stairs, in jumping on one leg. In addition, they waddle, are prone to falling and have difficulty in getting up from a seated position. The literature also mentions delayed speech at the onset. Subsequently digitigrade walking appears through the retraction of Achilles tendon.

*Description of symptoms by apparatuses and systems:***1. Muscle damage**

**Ambulation** is pendular (waddling gait), with lumbar hyperlordosis and forwardly extended abdomen.

**Muscular deficit**

- Represents the onset symptom with proximal and symmetrical distribution, the lower limbs being affected before upper limbs;
- The firstly affected muscles in the legs are: iliopsoas, gluteal muscles, followed by those of the anterior tibial joint, the great adductor and, more rarely, gracilis and Sartorius muscles;
- The damage of the paravertebral and lumbosacral muscles leads to a characteristic,



lordotic posture in standing position with the abdomen stretched out;

→ Bilateral deficit of knee and thighs extensor muscles causes balance impaired and difficulty in climbing stairs, standing up from the chair, or from a leaning position;

→ Bilateral deficit of medium gluteal muscle determines waddling gait.

**Gower's sign** is pathognomonic in progressive muscular dystrophies and consists of pulling up in orthostatic posture by climbing on one's own body, with support on the knee. The child sets one foot in the rear position, leans forward to support himself on both hands, extends his arms to push his trunk upward and then continues the lifting motion while rocking his body and climbing on oneself with the support of hands on his own thighs. Gowers sign appears when a pronounced weakness of the pelvic girdle has been installed, especially that of the great gluteal muscle. The peak incidence is around the age of 5-6 years and the sign is **present before 8 years of age**[1]. (Fig. 1).

→ Muscles of the shoulder girdle and of the upper limbs are affected after those of the pelvic girdle: the lower part of the pectoral muscles, latissimus dorsi, biceps and the brachioradialis;

→ The deficit of neck flexor muscles is present in all phases of the disease, though it usually goes unnoticed. In the early stages, patients with DMD are unable to raise their head anti-gravitationally in supine position. This mark distinguishes the patients with DMD from those with mild phenotypes and the BMD patients, who, at least in the early stages, have not changed muscular strength of the neck flexors;

→ The ocular, bulbar, neck extensor muscles, and the small muscles of the hand are unaffected;

→ The facial muscles are impaired in advanced stages of the disease.

#### **The osteotendinous reflexes or deep tendon reflexes (DTRs):**

DTRs are present at disease onset, with slow decline to extinction as the muscle fibres deteriorate. Achilles tendon reflex and stylo-radial (or brachioradial) reflex are abolished last. Patellar reflex diminishes or disappears early in the evolution.



**Figure 1. Gower's sign in a patient from the collection of the Paediatric Neurology Clinic of the "Louis Turcanu" Emergency Hospital, Timisoara.**

#### **Changes in muscle volume:**

**Muscle hypertrophy** is particularly evident in the calf muscles, with firmness on palpation, more frequent in the sural triceps muscle. In a smaller proportion, it may also be present in the deltoid muscle and in vastus lateralis[3]. It may be noticed from the age of 8 months, and becomes clinically apparent after the age of 3-4 years. Muscle hypertrophy is actually a **pseudohypertrophy**, a consequence of muscle fibrosis (Fig. 2). Sometimes, the hypertrophy of the tongue may be observed[1].

**Muscular atrophies** are proximally apparent at the onset and tend to generalize with loss of ambulation.

#### **Associated signs:**

##### **Muscle twitching**

→ Muscle twitching arises from maintaining the limbs in a specific position and from lack of balance between the agonist and antagonist muscles;

→ Muscle contractures lead to musculotendinous retractions with the emergence of vicious attitudes;

→ The foot is in varus equine and ambulation becomes digitigrade early, in the ambulatory stage, due to the shortening of the gastrocnemii;

→ The weakness of the pelvic girdle occurs early, with the anterior rotation of the hips, placement of the shoulder to the rear in order



**Figure 2. Hypertrophy of calf muscles in a patient with DMD (from the collection of the Paediatric Neurology Clinic of the “Louis Turcanu” Emergency Hospital, Timisoara).**

to maintain the centre of gravity perpendicular to the line of the shoulders, hips and ankles; due to the force acting on the gastrocnemius muscle, the retraction of Achilles tendon occurs;

→ Retraction of the tensor fasciae latae with hyperlordosis and, in parallel, ankle contractures with onset around the age of 5-6 years, followed by retractions of the hips and knees;

→ Muscular contractions cause the characteristic posture of child with DMD with lumbar hyperlordosis, flexion of the thighs on the abdomen, flexion of the calves on the thighs, flexion of the knees and plantar flexion.

**Between 6-10 years of age**, 70% of patients with DMD display contractures at the level of Achilles tendon, the iliotibial bands and hip joints, causing toe walking and limiting the flexion of the thighs. (Brooke MH, Fenichel GM, Griggs RC, Mendell JR et al,1981) .

**At the age of 8**, contractures occur in knees, ankle and hip extensors which correlate with deterioration in gait. Contractures in the shoulders appear later in evolution.

### **Scoliosis**

It occurs in 80-90% of patients after loss of locomotion due to deficiency in paraspinal muscles; it

can be improved if walking and sitting on the breech are extended until the age of 17-18 years old.

Scoliosis and deficit of respiratory muscles result in the damage of the respiratory function. The age when respiratory failure occurs is correlated with the degree of scolios[5].

## **2. Other clinical manifestations**

They are due to lack of dystrophin expression in other organs.

### • **Cardiac damage**

It is very common and it ought to be investigated systematically. Because muscle fibre degeneration, especially in the left ventricle, EKG modifications occur in 90% of cases – larger R waves in the right precordials and deep Q waves on the left. Cardiac ultrasound will show hypokinesia and decrease of ejection fraction of the left ventricle. Often, the only clinical sign is tachycardia (heart rate over 100 beats per minute). Conduction disturbances may occur, too.

Heart damage is slowly evolving with good clinical tolerance.

In rare cases, phenomena of congestive heart failure with **dilated cardiomyopathy** may occur.

The incidence of this disorder increases with age.

Age of onset is usually after 15 years.

In 50% of cases, the onset is at 18 years.

Initially ECG modifications occur, then clinical decompensation.

A regular monitoring of cardiac function allows the choice of the moment for major surgery (especially for the column), severe heart damage being absolute contraindication.

In cases where surgery is performed, it requires clinical supervision, EKG and ultrasound pre and post operatively.

### • **Damage of the central nervous system**

#### **Intellectual disability (Mental retardation)**

The literature indicates association with light mental retardation with IQ under 70 and slurred speech. Mental retardation is correlated with deletion in exons 44-45 of the gene, while better IQ is linked to the deletion of exons 8-44[6].

Several authors have noted that patients with DMD may also have increased intelligence but difficulty with recent memory[7]. Nonverbal cortical functions are more affected than the verbal function[6].

EEG is not specific. Anatomopathologic study in

deceased patients has described pachygyria, abnormal cortical neuronal response and low weight of the brain.

### **Behavioural and emotional disorders**

They appear in the evolution of the disease.

Reactive depression associated with borderline intellect has been diagnosed in some cases[8].

Low frustration tolerance, emotional immaturity are added to the progressive pathological dependence on parents, nurtured by parental hyper protection. The inevitable evolution leads to social isolation. Early psychotherapeutic intervention with family counselling, maintaining possible current social activities help to improve the psychological tension and to accept the disease more easily.

- **Respiratory impairment**

It is the consequence of intercostal muscles and diaphragm damage.

The damage of neck flexors - sternocleidomastoid and paraspinals - causes severe kyphoscoliosis, aggravating the respiratory deficit. As the disease evolves, anoxemia and CO<sub>2</sub> retention develop, even in the absence of infection. Nocturnal CO<sub>2</sub> retention is manifested by headaches upon awakening.

Respiratory and cardiac deficiencies are responsible for the evolution of the disease to death.

- **Smooth muscle damage**

Impairment of the digestive muscles with peristaltic disorders, gastric dilation, volvulus, cramps, malabsorption and megacolon are possible in evolution[9].

- **Visual Impairment**

Hemeralopia consists in disorders of adaptation to darkness, with altered responses intermittent light stimuli. Molecular biology studies have revealed the presence in the retina of Dp260 protein, which is an isomer of dystrophin[10].

- **Changes in the bone tissue**

They are a result of osteoporosis and are evidenced in early onset cases. It has been found that osteoporosis is more severe in the legs, which leads to frequent fractures.

### **Laboratory exams:**

#### **Muscle enzymes**

Creatine kinase (CK) proved to be the most effective for diagnosis. It is normally located in the

striated and smooth muscles, in thyroid and brain.

In 1987, it was demonstrated that CK is composed of two dimers and comes in three types: muscle, brain and intermediary that may be distinguished by qualitative immunological techniques[11]. In DMD, the three types have elevated values as a whole.

Serum CK in DMD reaches very high values: over 5000 I.U. even from birth, in the absence of clinical signs, peaking at the age of 3, with lower values later, under 1000 IU, due to lower muscle mass.

The increase of other blood enzymes in DMD has been shown: serum aldolase, serum lactate dehydrogenase (LDH), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvate transaminase (GPT), phosphoglucose isomerase (PGI) phosphoglucosmutase (PGM). Being present in muscles, the elevated values of GOT and GPT hepatic enzymes are high both in DMD and in BMD. Thus, their unexplained increase leads to suspicion of DMP, even in asymptomatic female carriers and in other forms of muscular dystrophies, too.

#### **Other serum and urine anomalies:**

**Myoglobinaemia** is common in patients with DMD. The highest values have been found in patients with very high serum CK and in those performing intense physical activity. In patients who did not have lost ambulation, values correlate with the degree of physical activity.

#### **Electrophysiological exams:**

**Electromyogram (EMG)** shows the myogenic track with short potentials: 3-7 msec, low amplitude: 0.4-1.8 Mv, the multiphase ones with early recruitment, especially in the muscles with muscle deficiency.

Increased insertion activity with fibrillation potential and repetitive discharges can also be detected, probably due to segmentation necrosis separating muscle fibres from nerve fibres or to the fibres that regenerate[12].

As the disease progresses, the amplitude of action potential decreases, insertional activity diminishes, motor unit potentials become very small with low recruitment and fibrillation potentials decrease gradually.

Towards the final stages of the disease, some muscle regions become electrically silent.



**Nerve conduction velocities (NCV)** in both sensory and motor fibre types are normal.

#### **Imaging exams:**

Muscle computed tomography (muscle-CT) is used for intramuscular changes and allows the study of deep muscle masses.

Diffuse areas of muscle signal attenuation are described.

Routine muscle-CT scan consists of five axial sections performed in the neck, trunk, pelvis, thighs and calf muscles. Magnetic resonance imaging (muscle MRI) has been limited mainly to assess adults; in children, the impediment consists in the extended examination time, about 90 minutes. The disadvantage of this method is in the high cost of the investigation.

#### **EKG:**

In 90% of cases, there are changes in the R-wave that is larger in the right precordials and deep left Q waves in asymptomatic patients, too.

#### **Pulmonary function tests:**

Routine spirometry, pneumogram, oximetry, capnography, capillary blood gases allow early detection of the deterioration of respiratory function and the appropriate initiation of **assisted mechanical ventilation to (AMV)**.

#### **Muscle biopsy:**

**Puncture muscle biopsy** reveals primitive muscle degeneration in association with degeneration and loss of consecutive fibre with sizes ranging from atrophy to abnormal hypertrophy, proliferation of connective tissue of endomysium and perimysium, replacement of fibres with connective and fat tissue, increase of organelles with occasional internalisation of the nuclei of sarcolemma and variable cellular response.

**The differentiation** of the type of fibre is affected. Origin of adipocytes is uncertain. Intramuscular nerves and vessels are evolving within the limits of normal structure.

In perimysium, endomysium and perivascular spaces, inflammatory cell infiltration has been noted, in particular from cytotoxic T cells and macrophages.

Electron microscopy is not performed routinely,

while **immunohistochemistry techniques and Western Blot analysis** are considered useful and specific[1].

The study of dystrophin may be **qualitative** by **immunohistochemistry** on frozen muscle cups and **quantitative** by **Western Blot analysis**.

#### **Immunohistochemistry tests:**

In DMD patients, using anti-dystrophin antibodies, sarcolemma does not stain, or stains very little. The ratio of detectable dystrophin immunoreactivity depends on the amount of dystrophin present in the sarcolemma and the anti-dystrophin antibody levels used in the immunohistochemistry test.

In 80% of DMD patients, dystrophin expression is found in less than 1% of the fibres.

Immunostaining techniques are useful for identifying sporadic cases of symptomatic or asymptomatic female carriers who have elevated levels of CK in families with no sick boys or in families where genetic tests do not detect deletion or duplication.

In patients with other muscular diseases, plasma membrane becomes stained homogeneously [1].

#### **Western Blot analysis:**

Western Blot analysis can be used for the determination and quantitative assessment of the size (molecular weight) of residual dystrophin. In DMD, there is a significant decrease in the amount of the dystrophin or its absence[13].

#### **Genetic tests:**

About 65% of boys with DMD have deletions, or duplications involving one or more exons in the DMD gene and these are identified using the chain-polymerisation reaction (CPR).

Other mutations including small deletions or insertions are involved in the rest of the patients with DMD, which can be identified by sequencing techniques in special laboratories[14].

#### **Positive diagnosis:**

It is based on the clinical picture

It is confirmed by the very high levels of blood CK, EMG and muscle biopsy. Correct diagnosis is based on the absence or marked reduction of dystrophin in muscle biopsy by immunohistochemistry tests, or genetic tests that reveal specific mutations. To



avoid a delay in the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy, the dosage of CK is recommended[15] in the following patients:

All boys who:

- do not have the ability to climb four successive steps at the age of 18 months,
- do not have a vocabulary of at least 10 words at the age of 2 years,
- have unexplained delay in global development acquisitions,
- have neuro-motor retardation of 4-6 months at 2 years of age,
- have clumsy gait under the age of 4,
- cannot jump on both feet or run at 4 years of age,
- have pains in their hips or legs under 4 years of age.

#### **Prenatal diagnosis:**

- Molecular genetic studies are possible after the age of 7-10 weeks gestation. DNA deletion test can be performed from chorionic villi as early as the first trimester of pregnancy, when chromosomal deletions are highlighted[10].

#### **Neonatal screening**

This can be achieved by dosing neonatal serum CK in new-borns, its values being very high in blood on the 15th day of life in male patients with DMD.

- Carrier diagnosis can be performed since an early age revealing anomalies in the dystrophin gene or chromosome abnormalities, especially X autosomal translocation. Carriers are usually without symptoms, but may have moderately elevated CK values, mild hypertrophy of calf muscles, myalgia or cardiac symptoms.

#### **Differential diagnosis:**

After topographic impairment:

##### **1. Chronic disorders of the spinal motoneuron**

- spinal muscular atrophy types II and III;
- have similar clinical picture;
- muscle enzymes are normal;
- EMG has a neurogenic type aspect with fibrillation potential.

##### **2. Peripheral nerve disorders**

- polyneuropathies - muscular deficit is predominantly distal,
- DTRs are absent early,
- atrophies are predominantly distal,
- they are associated with sensitivity disorders,

- muscle enzymes are normal,
- EMG has a neurogenic route,
- NCV may be low or normal, depending on axonal or demyelinating pathology.

#### **3. Diseases of the neuromuscular junction**

- Congenital myasthenic syndromes,
- Myasthenia gravis:
  - Late onset,
  - Extraocular and bulbar muscular weakness at the root of the limbs, with diurnal variability and increased at effort,
  - DTRs are normal,
  - Muscular atrophy is not present,
  - Muscle enzymes are normal,
  - EMG is normal, with repetitive stimulation over 10% decrement is noted.

#### **4. Muscle disorders**

##### **• Congenital myopathies:**

- Neonatal onset or in infancy,
- Hypotonia and proximal motor deficit,
- Breathing muscles are affected by flattening the anteroposterior chest,
- Diffuse atrophies, symmetrical predominant axially and at the roots of the limbs,
- Secondary dysmorphic features,
- Normal CK,
- Muscle biopsy allows diagnosis: predominance of type 1 fibres with their hypotrophy.

##### **• Congenital muscular dystrophies:**

- Early onset in the first year of life,
- Hypotonia and proximal muscle deficiency,
- Moderate increase in CK,
- Dystrophin is present in muscle biopsy

##### **• Dermatomyositis**

- Is accompanied by rash,
- Onset is acute or sub-acute,
- Dystrophin is present

#### **Other muscular dystrophies**

##### **1. Limb-girdle muscular dystrophies**

- Dystrophin is present,
- Other protein deficits in immunohistochemistry tests.

##### **2. Emery - Dreifuss muscular dystrophy**

- Pseudohypertrophy of calf is missing,
- Slightly elevated CK values,

- Biceps and triceps muscles are interested,
- Contractures are early at the elbow and the knee,
- Genetic tests highlight anomalies for genes encoding **emerine** and **lamina**.

**Table I. Muscular dystrophies  
(differential clinical genetic forms)**

DISEASE/PHENOTYPE	CLINICAL-GENETIC FORMS	MODE OF TRANSMISSION	GENETIC LOCUS	ABNORMAL GENE/PROTEIN
DUCHENNE MUSCULAR		XLR	Xp 21	DYSTROPHIN
EMERY – DREIFUSS MUSCULAR DYSTROPHY	X LINKED R FORM	XLR	X <sub>q</sub> 28	EMERINE
	AUTOSOMAL DOMINANT FORM	AD	1 <sub>q</sub> 11- q 23	LAMINE A/C
BECKER MUSCULAR DYSTROPHY		XLR	Xp 21	DYSTROPHIN
FACIO-SCAPULO-HUMERAL DYSTROPHY		AD	4q 35	
DISTAL MUSCULAR DYSTROPHY	MIYOSHI	AR	2p 12 – 14	DYSFERLIN
	TIBIAL FORM FINNISH-MARKESBERY	AD	2q -31	TTTN
BETHLEM MYO-PATHY		AD	21q 22.3	COLAGEN type VI Subunit $\alpha_1$ and $\alpha_2$
		AD	2q 37	COLAGEN Subunit $\alpha_3$
LIMB-GIRDLE MUSCULAR DYSTROPHY	With ADALINE deficit	AR	13q 12	ADALINE = $\gamma$ sarcoglycan
			17q 12 - q 21.33	ADALINE = $\alpha$ sarcoglycan
			4q 12	ADALINE = $\beta$ sarcoglycan
	With CAPLAIN deficit	AR	15q 15.1- q 21.1	CAPLAIN 3
	With CAVEOLIN deficit	AD	5q 22 – q 34	1A
			1q 11 - 21	1B
			3p 25	CAVEOLIN 3 1C
6 q 23			1D	
	AD	7q	1E	
	AD	5q 31		

### 3. Facioscapulohumeral dystrophy

- It is autosomal dominant,
- It has later onset,
- Initially and predominantly it affects facial muscles, then the scapular girdle and the muscles of the anterior joint of the calf,
- The disorder of the pelvic girdle occurs late,
- Heart muscle is not affected,
- CK values are normal or slightly elevated,
- Dystrophin is present.

### 4. Becker Muscular Dystrophy

- With similar phenotype,
- Later onset,
- Slower disease progression,
- Life expectancy is higher,

- Quantitative study of the dystrophin shows values above 20% and represents the element of diagnostic certainty (Table I).

### BECKER MUSCULAR DYSTROPHY:

#### Definition:

Becker muscular dystrophy (BMD) is a muscular dystrophy similar to Duchenne muscular dystrophy, with lighter clinical manifestations.

#### History:

The disease was presented by Becker and Kiener in 1955 as a disease distinct from DMD through different degrees of clinical manifestations.

#### Epidemiology:

It is considered 3 times less frequent than DMD. It reports an incidence of 3-6 per million newborns[16].

#### Genetics:

It is with X-linked recessive transmission, on the short arm p of band 21 (XP21.). Duchenne and Becker are allelic diseases, as demonstrated by the damage of the gene for dystrophin. Dystrophin is different qualitatively (with smaller molecular weight) and quantitatively. DNA studies in Becker disease have revealed the deletion of different exons from those in DMD, located toward the end of the gene for dystrophin.

#### The clinical picture:

The disease begins after the age of 7 years (between 5 and 15 years of age), sometimes in decade 3 or 4 of life. At approximately 10 years, 50% of patients are symptomatic and at 20 years, 90% have clinical signs of disease.

#### Muscle injury:

Clinically speaking, there is predominantly proximal muscle deficit, lower limbs being more affected than the upper ones.

Pelvic girdle muscles and those of the thigh are affected predominantly.

Evolution is slowly progressive.

Scapular girdle deficit develops later.

Facial and neck flexor muscles are not affected.

The severity and age of onset are correlated with

the values of muscle dystrophin.

Pseudohypertrophy of the calf muscles occurs early in most patients.

Onset symptoms may be pain in the calves.

Osteotendinous reflexes are preserved and contractures are uncommon.

### Damage of the CNS:

Intellect is normal. There are reported cases with lower IQ. They are associated with deletion of exons 48 and 49 of the dystrophin gene or of the transcriptional unit Dp140.

### Heart damage:

Heart damage is much rarer and less severe.

Rare cases have been described with heart disorder and early-onset, preceding the motor deficit[17].

### Effect on smooth muscles:

Smooth muscles are unaffected.

Adult patients present hypo-fertility or infertility due to testicular atrophy.

### Laboratory exams:

CK has elevated levels, between 5000-20000 IU / l, similar to those in DMD. The values decrease with age and degree of mobilization.

The EMG show a myogenic route.

Muscle biopsy reveals primitive myogenic degeneration with lower severity than in DMD, with basophilia, inflammation and fibrosis.

Immunohistochemistry tests revealed a partial staining of sarcolemma.

Western Blot analysis indicates a decrease of the dystrophin quantity, with normal molecular weight or lower in 80% of cases - in mutations of the deletion type, with increased molecular weight (in duplications) in about 5% of cases and with normal molecular weight but quantitatively reduced in about 15% of patients with DMD[18].

### Treatment:

*Treatment is common in DMD and BMD.*

*There is no effective cure but only supportive medication and the treatment of complications.*

#### Prophylactic measures:

- The avoidance of weight gain and of supramaximal physical efforts,
- Early corrective interventions to prevent

deformities in limbs and spine and early orthotics,

- Early mobilization after corrective orthopaedic surgery,

- Use of assisted mechanical ventilation at the first sign of respiratory failure, initially nocturine and diurnal, too, in the late stages of the disease.

- Avoidance of general anaesthesia with halothane and succinylcholine, to avoid malignant hyperthermia and dilated cardiomyopathy.

### Drug treatment:

#### 1. Cortisone treatment

Corticotherapy extends ambulation by around 2-3 years, improves muscle strength and function.

Glucocorticoids are the only drugs that have proven their efficacy, having a stabilizing effect on membranes and possibly an anti-inflammatory effect. They are used for more than 30 years as a palliative treatment.

#### Various schemes have been used:

- In the beginning prednisone 1.5-5 mg / kg of body / day, every other day; important side effects have been recorded: weight gain, hypertension, hyperactivity, cataracts, osteoporosis.

- Daily administration of prednisone at a dose of 0.75 mg / kg of body / day resulted in increased muscular strength after 3 months of therapy and slowing down to stopping the deterioration after 18 months of dosing. It was found that adverse effects appear and that it is a less effective scheme[19, 20].

- The most advantageous scheme in terms of adverse effects, consists in the administration of 0.75 mg / kg / day prednisolone in a single dose in the morning for 10 days per month, with a break of 20 days, for a longer period. The therapeutic effects consist in the extension of ambulation, sometimes by 5 years, in the increase of muscle strength, the reduction of falls. The effect is especially beneficial as it is administered early in patients who lost ambulation at the age of 3-5 years. This protocol has been used regularly since 2000 in the Dubowitz Neuromuscular Disease Centre, Hammersmith Hospital, London.

- Prednisone in the scheme presented above, leads to improved muscle strength in 10 days and peaks in 3 months[21].

- Currently, the best treatment is 0.75 mg / kg / day for 10 days per month, the maximum dose of 40 mg/day in patients with DMP, patients aged 5 to 15 years[1].

- For patients immobilized in a wheelchair,

treatment with the same dose of prednisone has been shown to prolong the muscle function and strength in the upper limbs and maintain the vital capacity[22].

- To monitor treatment with prednisone, patients must be evaluated every 3-6 months. Blood pressure, height, weight, vital capacity are checked and assessed clinically. Clinical assessment will include the time required to achieve various tests: time needed to perform the 40 steps, to climb up six 5 stairs, to get up from the floor to a standing position. These assessments are performed both for the hips and legs, and for the arms and shoulders. (see Table II – Functional Assessment Scale of patients with DMD).

**Table II. Functional Assessment Scale of patients with DMD (after Moxley RTII, 2003)[23].**

Shoulders and upper limbs	Thighs and lower limbs
1 From orthostatic posture with arms along the body, the patient can perform the abduction of the arms in the shape of a circle, so that they touch above the head.	1. Walks and climbs stairs without help.
2. Patient may raise arms above the head only with flexed elbows, or using accessor muscles.	2. Walks and climbs stairs helped by arms.
3. Patient cannot raise hands above the head but can take a glass of 250 ml of water to his mouth using both hands if necessary.	3. Walks and climbs stairs slowly, with the help of arms. Climbs 4 stairs in more than 4 seconds.
4. Patient can take his hands to the mouth but cannot take a glass of 250 ml with water to his mouth.	4. Walks without help and can stand up from the chair but cannot climb the stairs.
5. Patient cannot raise hands to the level of the mouth but he can use them to hold a pen or to lift it.	5. Walks without help but cannot stand up from the chair and cannot climb the stairs.
6 Patient cannot take his hands to the mouth and cannot use them for functional purposes.	6. Walk only with help.
	Patient is in the wheelchair

To monitor treatment further, routine laboratory tests are performed: -summary Urinalysis at 3 months, blood count, serum electrolytes, liver and kidney tests at 6 months. The testing of muscle enzymes does not matter because the values fluctuate depending on physical activity and they are influenced by the

treatment with prednisone.

Prednisone is generally well absorbed and metabolised in the liver to prednisolone.

About 80% of prednisolone is located to plasma proteins. Free prednisolone (20%) is the active fraction exercising cellular metabolic effects.

### **Cortisone side effects: prednisone and deflazocort**

The most common are: weight gain, cushingoid facies, mood disorders, insomnia, facial erythema.

Serious adverse reactions like fractures of the vertebrae, diabetes, hypertension and gastrointestinal bleeding are rare if the presented protocol is observed. It is recommended to associate calcium and D3 products, 1 cps / day, to prevent osteoporosis and maintain bone mass. Doses are adjusted depending on body weight. If severe adverse reactions appear, the doses will be decreased by 25%. Discontinuation of the treatment is recommended after 6 months if there is no improvement or stabilization of the motor performance or if side effects are intolerable. No abrupt discontinuation is recommended. Side effects diminish at lower doses of 0.75 mg / kg / day. The doses of 0.3-0.5 mg / kg / day produce a beneficial response but not so important one.

Deflazocort, which is a synthetic derivative of prednisolone, seems to produce similar effects of the corticotherapy. The doses are 0.9-1.2 mg / kg / day, with fewer side effects, except cataract, which is common. Deflazocort is used in Europe. It is not used in the United States.

**2. Hormonal treatment** was not proved to be effective.

### **3. Treatment with supplements**

I. **Creatine** - is considered to improve muscle performance. The studies involved a small number of patients and therefore they have no statistical value to support its effectiveness.

II. **Q10 Coenzyme** - recent studies have shown an improvement in physical activity in patients with PDM.

### **4. Other treatments**

The cyclosporine may be useful in the dose range of 5-10 mg / kg / day[24].



## Treatments under investigation:

### 1. The transfer of myoblasts

In Mdx mice it does not have the expected effects[25]. The principle consists in implanting myoblasts - stem-cells - from unaffected individuals into the atrophied muscles of patients that would be followed by the alleged recovery of muscle mass with post-mitotic, structurally normal myocytes. Initial studies in humans have shown positive clinical effects and mild side effects[26]. Subsequent studies performed on humans during 1993-2000 were similarly unsuccessful because the host immune system has eliminated donor myoblasts which survived the transplant procedure[27].

Although the number of donor myoblasts remained in the host was higher than expected, about 50% were merged into myofibres at the host level and out of the merging ones, only 50% have produced dystrophin. In DMD, the entire muscle mass is affected, accounting for 40% of body weight, therefore isolated but repeated implant proves insufficient. The method requires multiple intramuscular injections, while access to certain muscles is restricted, consequently, this method almost inaccessible.

### 2. Gene Therapy

It has been in the research stage in Paris clinics since 2000, alongside with other centres. The method consists in correcting the dystrophin gene by action on human DNA. Gene therapy uses two techniques: *ex vivo* and *in vivo*.

*Ex vivo* technique is more secure, it occurs in two-stages and consists of collecting abnormal myocytes, external processing of their DNA and subsequent reimplantation.

*In vivo* technique requires a vector to introduce the correcting gene into the body. The vector used may be a non-pathogenic virus with purified DNA, to deliver into myocytes the corrective genes or a non-virus vector: plasmid DNA, liposomes.

The viruses used in gene therapy are of the retrovirus, lentivirus, adenovirus types.

It has been demonstrated that utrophin, autosomal homologue of dystrophin, may substitute dystrophin functionally, so that increased gene expression can prevent the Duchenne phenotype in mutant mice[28].

Enabling it can solve problems of conventional

gene therapy in the case of dystrophin.

### 3. The treatment by inducing the stop-codon mutation

By administering aminoglycosides in animal models, it has been shown the slowdown in the dystrophic process in mice affected by this disease[29]. In May 2002, several authors [30] published the preliminary results of the study on the effectiveness of treatment with Gentamycin in four human subjects with DMD, who were still able to walk or who were confined to the wheelchair for at most 4 months, with punctiform mutations in the gene for dystrophin.

Gentamycin was administered in the following dose: iv 7.5 mg / kg in two six-day cycles, with an interval of 7 weeks, in compliance with the protocol supervised by the University of Naples, with the collection of the muscle biopsy after the second cycle and the monitoring of muscle enzymes. The results were favourable for the forms with punctiform mutations.

During the last years, researchers have tried to answer the question: Is **gene therapy** able to “heal” or to prevent muscle weakness? There are on-going clinical studies that involve gene therapy based on a technique called “**exon skipping**”. The first results seem promising, although the research is only at the beginning. The drug that achieves this target is supposed to be released on the market. At the end of July 2014, the pharmaceutical company **Sarepta Therapeutics** announced the results obtained following a study on 12 cases of Duchenne muscular dystrophy, using the product **Eteplirsen** (based on the ‘exon skipping’ mechanism).

The results obtained have been promising. For the treatment of Duchenne muscular dystrophy there is also the possibility of a cell therapy, using cells to produce normal dystrophin. A protein variant is available as pharmaceutical product that is very similar with dystrophin. This synthetic alternative is called utrophin.

Approximately 13% of the patients with muscular dystrophy have nonsense mutations at the level of the gene that encodes for the dystrophin and this is the reason why incomplete, non-functional proteins are synthesised[31,32,34].

Translarna (Ataluren) is the first treatment approved which addresses the basic aetiology of DMD with nonsense mutation in patients aged 5 and over who have not lost autonomous ambulation. It was authorised to be released on the market on 31<sup>st</sup>

July, 2014 and it is available in Romania, too[32].

A molecule (named **RTC13**) has been discovered, which acts at the level of mRNA of the gene of mutant dystrophin, allowing the synthesis of an integral and functional protein.

### Treatment of complications

*Treatment of heart failure with digoxin and diuretics in patients with early cardiac decompensation.*

*Treatment of respiratory disorders.*

This is done by assisted mechanical ventilation (AMV).

**Assisted mechanical ventilation** proved to be the only therapeutic method with which the average lifespan of patients with hereditary neuromuscular diseases may be extended[35].

In case of severe ventilatory defects, the restrictive syndrome may remain compensated for a long time. At this stage, clinical symptomatology is absent and vital capacity (VC) is normal.

In the initial stages of the disease, the arterial pressure of blood gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) has normal values, both in waking and in REM and non REM sleep.

In evolution, hypoxemia and hypercapnia are present in both phases of sleep. Clinical sleep disorders occur with frequent awakenings due to disordered breathing, with shortness of breath. In advanced disease, breathing failure is clinically apparent both during sleep and during wakefulness: dyspnea, cyanosis, daytime sleepiness. AMV maintains normal levels of blood gas concentration and puts the respiratory muscles to rest because they have muscular deficit. Nocturnal ventilation assistance improves the daytime respiratory activity and reduces the annual rate of decline in vital capacity. Because continuous mechanical ventilation can cause atrophy of disuse, AMV with intermittent positive pressure is considered the method of choice to prevent the onset early respiratory failure. Treatment of respiratory failure by AMV was introduced in 1990 (25). AMV is indicated in cases of nocturnal hypercapnia (AP of CO<sub>2</sub> of less than 60 mm Hg) caused by hyperventilation and AC values below 100 ml.

**For preventive purposes**, it is indicated during the compensated phase when arterial pressure of breathing gases is normal and the curve of the vital capacity is downward (annual drop of 200 ml).

**Early respiratory rehabilitation** is achieved by intermittent assisted mechanical ventilation, through

the nose, which slows down the restrictive respiratory syndrome.

**Tardy respiratory rehabilitation** consists in applying AMV in case of respiratory failure with decreased blood gases.

**The specific rehabilitation treatment should be started early:** active physical exercises may slow down the progression of the disease[10], great physical efforts that lead to muscle fatigue and faster development of the disease should be avoided, regular walks daily, 2 hours per day, will be encouraged to maintain muscle strength and delay retractions[36]. Surgery for the release of contractures is necessary to extend ambulation and early mobilization after surgery is a priority.

### Lifestyle:

It is recommended: prevention and early treatment of intercurrent respiratory diseases, constant climate of thermal comfort and humidity, avoid crowded spaces to reduce exposure to infections, for respiratory tract infections, encourage deep breathing and coughing and antitussives with high intake of fluids to ensure good sputum and avoid sedatives, prevention of obesity, immunizations must be updated annually.

**Family counselling** is absolutely necessary to help maintain the emotional integrity of the family and encourage the child to comply with the rehabilitation program and the special life style imposed by the disease.

### Evolution and prognosis

Gait disturbance progresses to confinement to bed after age 6.

The duration of the disease is variable and in cases with slow evolution, ambulation can be preserved up to 12-13 years.

Failure to walk starts after the age of 9-13 years or later if steroid treatment was performed.

From 6 to 11 years there is a decrease in muscle strength with the deterioration of functions such as: climbing stairs, getting up from lying to standing position, climbing stairs with his hands and walking on a short distance.

Respiratory disorders are restrictive with lung volume reduction due to the damage of the intercostal muscles and the diaphragm.

It is necessary to assess respiratory function regularly, 1-4 times a year as needed.

In evolution, severe kyphoscoliosis occurs due to

damage of the neck muscles, sternocleidomastoid and paravertebral muscles, which worsens respiratory impairment. It appears after the age of 10 and it is progressive and irreversible.

Pulmonary complications that can occur are pneumonia and atelectasis. They require emergency hospitalization treatment with intermittent positive pressure, AMV, tracheostomy if needed.

Sleep disorders are due to hypoxia and consist in sleep insomnia, nightmares, Pavor nocturnus, nocturnal ambulatory automatism - require AMV.

Death occurs between 15 and 25 years of age by respiratory failure associated with respiratory infections in underweight patients or with cardiomyopathy in obese patients.

Life expectancy can be increased with the help of AMV, and following a lifestyle adapted to the needs imposed by the progression of the disease.

Table III shows schematically the clinical evolution and the therapeutic methods

(After Lupu C. and Corcheș Axinia, 2002,[37] News in genetic neuro-muscular pathology).

**Genetic counselling:**

It is the most effective intervention in carrier families because of the X-linked mechanism, and tracking the status of **carrier mother**.

In families with DMD and BMD patients, the carrier mother has 50% probability of transmitting the mutation to each pregnancy.

The boy who inherits the mutation will be affected and the mother will be the carrier.

**Table III. Developmental stages in DMD.**

DMD stages	Clinical signs	Treatment
Stage 1 1-3 years	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Discrete or absent clinical signs</li> <li>- Delay in the acquisition of ambulation</li> <li>- Gowers's sign is positive</li> <li>- Difficulties in climbing stairs</li> <li>- CPK – high levels</li> <li>- EMG myogenic</li> <li>- Muscle biopsy- immunohistochemistry tests –dystrophin in absent</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Avoiding prolonged immobilisations and bed rest</li> </ul>
Stage 2 3-6 years	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Progressive motor deficit</li> <li>- Muscle fatigue</li> <li>- Emergence of movement restrictions</li> <li>-Emergence of tendinous retractions</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Specific rehabilitation treatment</li> <li>- stretching</li> <li>- Surgery for retractions</li> </ul>
Stage 3 1-10 years	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contractions (retractions) and severe muscle deficit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ankle-foot orthoses</li> <li>- Symptomatic treatment</li> </ul>
Stage 4 10-14 years	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Progressive loss of independent ambulation through accentuated retractions, and severe, evolving motor deficit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Measures to limit and prevent the accentuation of the tendinous retractions and the correction of kyphoscoliosis</li> <li>-Corrective surgery for retractions with precocious orthosis</li> </ul>
Stage 5 14-18 years	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Loss of autonomous ambulation with immobilisation to bed of wheelchair</li> <li>-Phenomena of respiratory failure</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ambulation and orthostatic posture are maintained as much as possible with the help of orthoses and corticotherapy</li> <li>-Nocturnal Assisted Ventilation is initiated</li> </ul>
Stage 6 over 18 years	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stage of immobilised adult</li> <li>- Generalised muscle atrophies</li> <li>- Nocturne and diurnal respiratory failure</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Permanent mechanical ventilation</li> <li>- Technical devices for mobilization</li> </ul>

## Differential diagnosis between DMD and BMD:

In most cases, BMD is distinguished from DMD by age of onset, severity and development. If in DMD the onset is around the age of 3 years, in the BMD is situated between the ages of 5-10 years, confinement to the wheelchair occurs after 13 years and the dystrophin level is over 20%, compared to DMD in which it has lower values or it is absent.

There is also a group of **patients with intermediate phenotype (Outliers)** with moderate DMD and severe BMD.

They - preserve ambulation over the age of 12,  
- are immobilized in a wheelchair before the age of 16 years,

- do not have their flexor muscles of the neck affected.

Table IV presents genetic, clinical and anatomopathological data in dystrophinopathies that are important to differentiate the presented phenotypes.

**Table IV. Genetic data in clinical and pathological dystrophinopathies. (After Darras B.T., Menachem C.C., Kunkel L.M., 2003)[1]**

Phenotype	Genetic locus	Protein	Hereditary transmission	Clinical exam	Anatomopathological exam
DMD	Xp21	Dystrophin	XR*	Onset at 2-5 years Pseudo hypertrophy Low IQ Heart impairment Rapid evolution Immobilization at 10-12 years Death at the age of 15-30 years	Severe dystrophic changes Immunohistochemically - Dystrophin is totally or almost totally absent Western blot: Dystrophin 0-5% of normal values
Intermediate form	Xp21	Dystrophin	XR*	Intermediate severity Immobilisation at 12-16 years	Western blot: Dystrophin values are 5-20% of the normal ones
BMD	Xp21	Dystrophin	XR*	Variable onset Slower evolution Immobilisation after the age of 16	Moderate dystrophic changes Immunohistochemically - Dystrophin staining is normal or slightly reduced Western blot: Dystrophin over 20% of normal values

\* XR- X-linked recessive

### Case report:

Patient aged 12 years, came to hospital for: abnormal gait, difficulty in climbing stairs, myalgia in minor physical efforts. Onset at the age of 5 years.

From the history we retain that the phased motor

development was slightly delayed: he held the head at 5 months, stood in upright posture without support from 8 months, walked independently at 1 year and 6 months. Personal and family history was not significant.

**Neurological examination** revealed abnormal gait: ambulation with broad-based support, waddling with hyperlordosis. The patient climbed the stairs only with support on the rail and helped by a caregiver. Gowers'sign: rises with difficulty in seated position, climbing on his own body with help, segmental strength is reduced proximally, with marked atrophies worsened by the girdles and by pseudohypertrophy, tendon retractions, joint deformations, kyphoscoliosis, club foot, talus valgus.

**Biochemical laboratory tests:** blood count, glycemia, calcemia - normal values; transaminases - elevated levels, CPK and LDH muscle enzymes highly elevated levels (10 times higher than the normal level) CPK in mother - slightly elevated;

EMG: highlights myogenic lesion;

Normal cardiac ultrasound, EKG normal.

The clinical and laboratory aspects orient us to BMD, considering the age and the evolution with the preservation of ambulation at 12 years of age.

**Genetic tests** on the other hand detect a deletion that is specific for the the DMD.

We chose this case for presentation as slow, evolutionary clinical aspect has oriented us towards BMD, but genetic analysis has shown that we are facing a case of DMD or it could have been an intermediate phenotype. Therefore, the immunohistochemistry test is important to highlight the presence or absence of dystrophin and its percentage if it is present.

The peculiarity of the case: the child was found out at the age of 5 years, he followed a corticosteroid treatment and specific rehabilitation according to protocols, which may explain the slow progress of the disease, preserving ambulation at 12.(Fig.3)





**Figure 3. Patient aged 12 with DMD (from the collection of the Paediatric Neurology Clinic of the “Louis Turcanu” Emergency Hospital, Timisoara).**

## Conclusions

It is important to know the clinical and laboratory diagnostic elements in dystrophinopathies to detect these diseases as early as possible.

Tracking and applying the presented therapeutic protocols increase the life expectancy of these patients, improves the quality of their lives and of their families.

An important goal is to keep the patient as much as possible in the stage of independent ambulation, the stage where, in the near future, they could benefit from genetic therapy.

Since 2014, patients diagnosed with Duchenne muscular dystrophy caused by a nonsense mutation at the level of the dystrophin gene, have benefited from treatment with **Ataluren (Translarna)** from the age of 5 and over this age, before losing the autonomous gait.

\*

\* \*

## BIBLIOGRAFIE / REFERENCES:

- Darras BT, Menache CC, Kunkel LM- Dystrophinopathies (cap 37) in Neuromuscular disorders of infancy, childhood and adolescence. A clinicians Approach, 2003, HR Jones Jr, DC De Vivo, Basil T Darras, Elsevier Science, Inc.
- Emery AEH, 1993, Duchenne Muscular Dystrophy, 2nd dition, New York, Oxford University Press.
- Aicardi J., 1998- Cap. Primary muscle disease Diseases of the Nervous Sistem in Childhood, 2nd edition, Mac Keith Press.
- Brooke MH, Fenichel GM, Griggs RC, Mendell JR et al, 1981, The natural history of Duchenne muscular dystrophy : A caveat for therapeutic trials. Trans Am Neurol Assoc, 106:195-199.
- Fukunaga H, Sonoda Y, Atusuchi H, Osame M, 1991- Respiratory failure and its care in Duchenne muscular dystrophy. Rinsho Shhinkeigaku, 31:154-158.
- Smith CL, Shapiro EG, Best K et al – 1991, Corelation of Duchenne muscular dystrophy X chromosome deletion site with cognitive impairment. Ann Neurol, 30:449.
- Solle ND, Latham EE, Kindlon DJ et al, 1985, Welan TB, - 1987, Neurophysiological imparemant in Duchenne muscular dystrophy, J Clin Exp neuropsychol, 486.
- Fitzpatrick C, Barry C, Garvey C, 1986- Psychiatric disorder among boys with Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol 28:589.
- Simpson AJ, Khilnani MT- 1975, Gastrointestinal manifestation of the muscular dystrophies. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl med, 125:948.
- Smith S.A., Swalmann KF- Muscular dystrophies in 91 K, F Ashwal S, Pediatric Neurology, Principles and practice, 1999, ed.aIII-a, Mosby.
- Dawson DM, Fine IH, 1967- Creatinekinase in human tissues. Arch neurol, 16:175.
- Desmedt JE, Borenstein S, 1976- Regeneration in Duchenne muscular dystrophy: Electromyographic evidence. Arch Neurol, 33:642-650.
- Manole E, 1995- Imunohistochemistry in diagnosis of dystrophinopathies Rom J Neurol Psychiatry, 33:51-55.
- Malhotra SB, Hart KA, Klamut HJ, et al, 1998- Frameship deletion in patients with Duchenn and Becker muscular dystrophy. Science, 242:755.
- Mohamed K, Appleton R, Nicolaidis P, 2000- Delayed diagnosis of Duchenne muscular dystrophy, Ped Neurol, 4:219-223.
- Gardner- Medwin D- 1970, Mutation rate in Duchenne type of muscular dystrophy. J. Med Genet:7:334, conform 10.
- Kuhn E, Fiehn W, Schroder J M, et al, 1979- Early myocardial Disease and cramping
- myalgial in Becker-type muscular dystrophy: Akindred. Neurology, 29:1144-1149.
- Hoffman EP, Kunkel LM, 1989- Dystrophin abnormalities in Duchenne/Becker muscular dystrophy. Neuron, 2:1019.
- Dubowitz V, Kanale M, Mercuri E, Muntoni F, - 2002, Remission of clinical signes in early Duchenne muscular dystrophy on intermitent low dose prednisolon therapy. European J of Pediatric Neurology, 6,1.
- Dubowitz V, 1991- Prednisone in Duchenne Dystrophy. Neuromuscular disord.1:161-163.
- Brooke MH, Fenichel GM, Griggs RC et al, 1987- Clinical investigation of Duchenn musculadystrophy. Intersting results in a trial of prednisone, Arch Neurol,, 44(89):812-817.
- Pandya S, Myers G, Moxley RT, 2002- Long tarm daily Prednisone Therapy delays loss of ambulation and decline in Pulmonari function in patients with Duchenne Dystrophy in Xth International Congress on Neuromuscular Diseases Vancouver Canada, 8-12 July.

24. Moxley RTIII, 2003- cap. Corticosteroid and Anabolic Hormone Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy in Neuromuscular disorders of infancy, childhood and adolescence. A clinicians Approach, HR Jones Jr, DC De Vivo, Basil T Darras,
25. Sharma KR, Mynhier MA, Miller RG,- 1993, Ciclosporine increases muscular force generaion in Duchenne muscular dystrophy, *Neurology*, 43:527-532.
26. Karpati G, Ajukovic D et al- 1993, Myoblast transfer in Duchenne muscular dystrophy.*Ann Neurol*, 34:8-17.
27. Law PK, Goodwin TG, Fang QW et al, 1991- Myoblast transfer terapy for Duchenne muscular dystrophy. *Acta Paediatr Jpn*, 33:206-251.
28. Gussoni E, Blau HM, Kunkel L M et al, 1997- The fate of individual myoblasts after transplantation muscles of DMD patiens. *Nat Med*, 3:970-977
29. Perkins KJ, Davies KE- 2002, The role of utrophin in the potential theraphy of Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disord*, oct, 12Suppl 1:78-79.
30. Travis J- Antibiotics for Muscular dystrophy? *Science News*- 1999, Copyright 2000 Gale Group.
31. Politano L, Nigro G, Nigro V, Piluso G, Papparella S, Paciolo O, Comi L- 2003 May. Gentamicin administration in Duchenne patients with premature stop codon.*Acta Myol*. 22(1):15-21
32. Data on file PTC Therapeutics, Translarna, dec. 2014
33. Haas M, et al. *Neuromuscular Disord*. 2015;25(1):5-13
34. Bushby K, et al. *Muscle Nerve*.2014;50(4):477-487.
35. <http://www.ema.europa.eu>
36. Corches A, Lupu C- Tratamenteul insuficienței respiratorii în bolile neuromusculare genetice, Ventilația mecanică asistată. *Revista SNPCCAR*,2002, Vol. 4, Nr.4.
37. Ziter FA, Allsop KG- 1976 The diagnosis and management of childhood muscular dystrophy. *Clin Pediatr*, 15:540
38. Lupu C și Axinia Corches- 2002, Actualități în patologia neuromusculară genetică: Aspecte sinoptice și stadiile evoluției distrofiilor musculare progresive, *Revista SNPCCAR*, vol 5, nr. 3.
39. Kalman L, et al. *J Mol Diagn*. 2011;13(2):167-174.
40. Translarna, Rezumatul caracteristicelor produsului, PTC Therapeutics; Decembrie, 2014.