

MIŠIĆNE DISTROFIJE - DIJAGNOSTIKA I TERAPIJA

RADENKA KUZMANIĆ ŠAMIJA*

Kontekst: Mišićne distrofije su heterogena skupina nasljednih bolesti karakteriziranih progresivnom mišićnom slabosti i atrofijom mišića. Geni i njihovi proteinski produkti odgovorni za nastanak mišićnih distrofija otkriveni su za većinu mišićnih distrofija. Molekularna genetska testiranja, te određivanje proteinske deficijencije u većini slučajeva nam omogućava postavljanje precizne dijagnoze, procjene tijeka bolesti, ali omogućava i identifikaciju nosioca te otvara mogućnost prenatalne dijagnoze. Kvaliteta života osoba oboljelih od mišićnih distrofija može se znatno poboljšati iako nema kauzalnog liječenja, odgovarajućim rehabilitacijskim postupcima, adekvatnom respiratornom njegom i kirurškim intervencijama. Razvoj molekularne biologije i molekularne genetike otvorio je vrata drugim terapijskim mogućnostima koji možda neće u potpunosti izliječiti bolest ali će svakako poboljšati tijek bolesti i ublažiti simptome.

Cilj rada: je prikazati najnovije spoznaje o mišićnim distrofijama, ukazati na složenost dijagnostičkih postupaka, s posebnim osvrtom na molekularno-genetsku dijagnostiku, te prikazati najnovije spoznaje o terapijskom pristupu.

Zaključak: Klinička prezentacija mišićnih distrofija je nespecifična i ne postoji jasna fenotipsko-genotipska korelacija bolesti. U posljednje vrijeme napredak molekularne genetike omogućio je lakše postavljanje dijagnoze, prepoznavanje poznatih kliničkih entiteta i definiranje novih poremećaja.

Deskriptori: DISTROFINOPATIJE, POJASNE MIŠIĆNE DISTROFIJE, FENOTIPSKO-GENOTIPSKA KORELACIJA, DIJAGNOSTIKA, TERAPIJA

Skraćenice:

MD - mišićna distrofija; LGMD - pojasna mišićna distrofija (engl. *limb-girdle muscular dystrophy*); DMD - Duchenova mišićna distrofija; BMD - Beckerova mišićna distrofija; FSHD - facioskapulohumeralna mišićna distrofija; CMD - kongenitalna mišićna distrofija; MDC - merosin negativna kongenitalna mišićna distrofija; AD - autosomno-dominantan; AR - autosomno recesivno; XR - X vezano recesivno; CK - kreatin kinaza; ANO5 - anoktamin 5; CGH - komparativna genomska hibridizacija (engl. *Comparative Genome Hybridisation*); HR-CGH - komparativna genomska hibridizacija visoke rezolucije (engl. *High Resolution Comparative Genome Hybridisation*); CGH - na matrici (engl. *Array CGH*); MLPA - metoda višestrukog umnažanja vezanih sonda (engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*); FVC - forsirani vitalni kapacitet; CO₂ - ugljični dioksid

UVOD

Mišićne distrofije (MD) su nasljedne, progresivne bolesti, prvenstveno skeletnih mišića koji rezultiraju degeneracijom mišićnih stanica i dovode do razvoja mišićne slabosti. Variraju prema kliničkoj slici i patološkim promjenama mišića, te prema načinu nasljeđivanja, kao i dobi pojavnosti simptoma i brzini progresije kliničke slike (tablica 1 i tablica 2) (1, 2).

S obzirom na slabost koja predominantno zahvaća određene grupe mišića razlikujemo šest glavnih fenotipova:

- Duchenov oblik, zahvaća mišiće ramenog obruča, zdjelice i fleksore vrata, uz hipertrofiju potkoljenica.
- Emery-Dreifuss tip, sa skapulohumeralnom i peronealnom distribucijom uz rani razvoj kontraktura.
- Pojasni oblik, zahvaćeni su mišići zdjelice i ramenog obruča.

- Facioskapulohumeralni oblik sa zahvaćanjem mišića tog područja uz peronealnu skupinu mišića.
- Distalni oblik, slabost je izražena na distalnim mišićnim skupinama.
- Okulofaringealni oblik, zahvaćeni su mišići tog područja uz mogućnost i zahvaćenja mišića ramenog obruča te mišića udova (1, 2).

Način nasljeđivanja mišićnih distrofija može biti autosomno-dominantan (AD), autosomno-recesivan (AR) ili X-vezan (XR). Česte su i spontane mutacije koje se prenose autosomno-dominantno i X-vezano. Molekularni učinak mutacija odgovoran za kliničku sliku i razvoj bolesti je različit i uključuje proteine ekstracelularnog matriksa (laminin-2, kolagen VI); transmembranske proteine i proteine sarkoleme (distrofin, sarkoglikan, caveolin-3, $\alpha 7$ integrin, disferilin); citoplazmatske proteaze (calpain-3); ci-

*KBC Split, Klinika za dječje bolesti
Klinički odjel neurologije i endokrinologije

Adresa za dopisivanje:
Doc. dr. sc. Radenka Kuzmanić Šamija
KBC Split, Klinika za dječje bolesti
Klinički odjel neurologije i endokrinologije
21000 Split, Spinčićeva 1
E-mail: dada.samija@st.t-com.hr

Tablica 1.
Klasifikacija mišićnih distrofija

Bolest	Genski Lokus	Genski Produkt	Način nasljeđivanja
Pojasne mišićne distrofije uzrokovane proteinskog defekta sarkoleme ili citosola			
Duchenne/Becker mišićna distrofija/	Xp21	Distrofin	XR
LGMD1A	5q22	Miotilin	AD
LGMD1B	1q11-q21	Lamin A/C	AD
LGMD1C	3p25	Kaveolin-3	AD
LGMD1D	6q23	Nije otkriven	AD
LGMD1E	7q	Nije otkriven	AD
LGMD1F	2q	Nije otkriven	AD
LGMD1G	4Q21	Nije otkriven	AD
LGMD1H	3p23	Nije otkriven	AD
LGMD2A	15q15	Kalpain-3	AR
LGMD2B Mioši miopatija	2p13	Disferilin	AR
LGMD2C	13q12	γ-Sarkoglican	AR
LGMD2D	17q112	α-Sarkoglican	AR
LGMD2E	4q12	β-Sarkoglican	AR
LGMD2F	5q23	δ-Sarkoglican	AR
LGMD2G	17q11	TCAP	AR
LGMD2H	9q31	TRIM32	AR
LGMD2I	13q13	FKRP	AR
LGMD2J/ Tibijalna mišićna distrofija	2q31	Titin	AR/AD
LGMD2K	9q34	POMT1	AR
LGMD2L	11p4	ANO5	AR
LGMD2M	9q31	Fukutin	AR
LGMD2N	14q24	POMT2	AR
Kongenitalne mišićne distrofije zbog poremećaja Glikozilacije			
Fukujama mišićna distrofija	9q31-q33	Fukutin	AR
Mišić-oko-mozak bolest	1p3	POMGnT1 glikoziltransferaze	AR
Walker-Warburgov sindrom	9q34	POMT1	AR
MDC 1A	6q22	Laminin-2 (merosin)	AR
MDC 1B	1q42	Nije otkriven	AR
MDC 1C	19q13	FKRP	AR
MDC 1D	22q12	LARGE	AR
Ostale kongenitalne mišićne distrofije			
CMD s ukočenom kralježnicom	1p36	Selenoprotein 1	AR
CMD sa ITGA7 mutacijom	12q	Integrin α7	AR
Urlich/Bethlem miopatija	21q22.3 (A1, A2) 2q37(A3)	Kolagen 6 A1, A2 i A3	AD
Mišićna distrofija zbog poremećaja jezgre			
Emery-Dreifuss MD	Xq28	Emerin	XR
Emery-Dreifuss	1q11-q23	Lamin A/C	AD, sporadično
Mišićna distrofija zbog poremećaja metabolizma RNS			
Miotona distrofija 1	19q13	DM	AD
Miotona distrofija 2	3q21	ZFN9	AD
Mišićne distrofije nepoznatog uzroka			
Facioskapulohumeralna MD	4q35	DUX4	AD
Okulofaringealna MD	14q11.2-q13	PABp2	AD

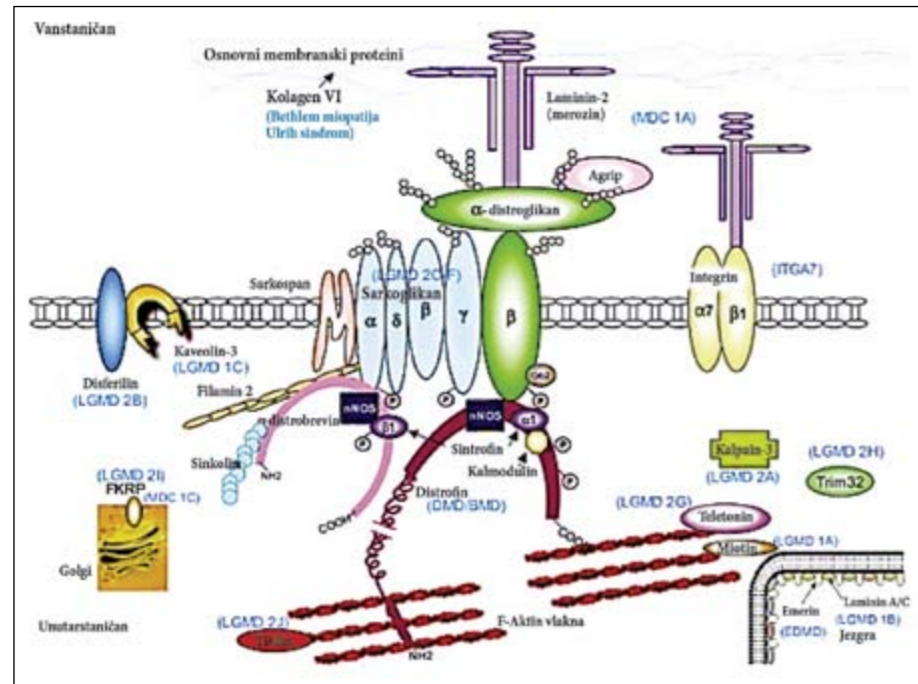
toplazmatski proteini (titin, fukutin, teletonin); i jezgrine membranske proteine (laminin, emerin) (tablica 1) (slika 1) (3).

Iz svega ovog vidljivo je da su mišićne distrofije vrlo velika, heterogena skupina bolesti i do danas je otkriveno gotovo preko 20 samo pojasnih mišićnih

distrofija, od koji su neke vrlo rijetke i otkrivene su samo u pojedinim etničkim zajednicama kod kojih postoji visoka zastupljenost konsangviniteta (3).

Tablica 2.
Klinička i biokemijska klasifikacija pojasnih mišićnih distrofija

	CK	Dob javljanja	Zahvaćenost mišića	Srce	Respiratorni sustav	Brzina progresije	Karakteristična obilježja
LGMD1A	Normalno-10×	18-40 god	Zdjelični i rameni obruč; kasnije distalna slabost	Nije opisano	Nije opisano	Sporo	Dizartrija, kontrakturna Ahilove tetive
LGMD1B	normalno-20×	4-38 god	Zdjelični obruč, kasnije i rameni	AV blok, dilatativna kardiomiopatija, iznenadna smrt	Nije opisano	Sporo	Kontraktura
LGMD1C	2-25×	<10 god	Zdjelični i rameni obruč	Hipertrofična kardiomiopatija	Nije opisano	Sporo	Hipertrofija listova, mialgija, grčevi
LGMD1D	Normalno-4×	15-50 god	Zdjelični i rameni obruč	Dilatativna Kardiomiopatija	Nije opisano	Sporo	Disfagija
LGMD1E	-	Mladi i odrasli	Zdjelični i rameni obruč;	-	-	Sporo	-
LGMD1F	Normalno-20×	1-58 god	Zdjelični obruč i rameni kasnije distalna slabost	Nije opisano	Opisano samo u nekoliko slučajeva	Brzo do srednje	-
LGMD1G	Normalno-10×	30 - 47 god	Zdjelični i rameni obruč/ Ograničena fleksija prstiju	Nije opisano	Nije opisano	Sporo	Ograničena fleksijaprstiju; moguća anticipacija
LGMD2A	Normalno-50×	2-40 g god	Zdjelični i rameni obruč	Nije opisano	Opisano samo u nekoliko slučajeva	Različito	Slabost aduktora
LGMD2B	10-150×	20-30 god	Zdjelični i rameni obruč distalno donji ekstremiteti	Nije opisano	Nije opisano	Sporo do srednje	Upalne stanice u bioptu mišića
LGMD2C	5-120×	3-20 god	Zdjelični i rameni obruč	Često	Teško	Srednje	-
LGMD2D	5-120×	3-20 god	Zdjelični i rameni obruč	Rijetko	Opisano	Brzo	-
LGMD2E	5-120×	3-20 god	Zdjelični i rameni obruč	Dilatativna kardiomiopatija	Opisano	Brzo	-
LGMD2F	5-120×	3-20 god	Zdjelični i rameni obruč	Dilatativna Kardiomiopatija	Opisano	Brzo	-
LGMD2G	Normalno-30×	2-15 god	Proksimalno-distalno (donji ekstremiteti)	Rijetko	Nije opisano	Sporo	Distalna atrofija nogu
LGMD2H	Normalno-20×	15-30 god	Zdjelični i rameni obruč	Nije opisano	Nije opisano	Sporo	Zahvaćenost mimične muskulature
LGMD2I	5-100×	10-40 god	Zdjelični i rameni obruč	Disfunkcija lijevog ventrikula	Opisano	Brzo do srednje	Hipertrofija listova
LGMD2J	Normalno-2×	5-20 god	Zdjelični i rameni obruč/ Distalna slabost	Nije opisano	Nije opisano	Brzo	Samo opisano u Finaca



Slika 1.

Dijagram mišićne membrane, prikazuje povezanost distrofin-glikoproteinskog kompleksa s kontraktilnim proteinima ekstracelularnog matriksa, te drugim signalnim molekulama. BMD, Becker mišićna distrofija; DMD, Duchenne mišićna distrofija; ITGA7, integrin $\alpha 7$; LGMD, počasna mišićna distrofija; MDC 1A, merosin-negativna kongenitalna mišićna distrofija; MDC 1C, merosin-negativna kongenitalna mišićna distrofija; nNOS, neuronalna nitrit oksid sintaza. Prilagođeno prema referenci 3.

Klinička slika je između pojedinih entiteta nerijetko je identična, ali je veoma važno postaviti točnu uzročnu dijagnozu, jer to omogućava predviđanje prognoze tijeka bolesti i mogućih komplikacija, primjenu specifičnih oblika liječenja i rehabilitacijskih programa te genetičko savjetovanje koje uključuje predviđanje rizika ponavljanja poremećaja u obitelji, mogućnost prevencije putem prenatalne dijagnoze i ispitivanje rizičnih članova obitelji. U posljednje vrijeme napredak molekularne genetike omogućio je lakše postavljanje dijagnoze, prepoznavanje poznatih kliničkih entiteta i definiranje novih poremećaja (3).

Većina mišićnih distrofija ima progresivni klinički tijek, ali to nije uvijek pravilo, tako da kod pacijenata npr. sa facioskapulohumeralnom mišićnom distrofijom (FSHD) tijekom bolesti je slabo progresivan, gotovo stacionaran, a kod nekih bolesnika npr. sa kongenitalnim distrofijama tijekom vremena dolazi i do poboljšanja kliničkih simptoma (3).

Najčešća mišićna distrofija u djece je Duchenova mišićna distrofija. Opsežna

istraživanja te bolesti unijela su svijetlo u patofiziologiju i drugih mišićnih distrofija, posebno onih koje su vezana uz poremećaje distrofin-glikoproteinskog kompleksa. Klinička slika, simptomi, funkcionalni deficit, kao i simptomatsko liječenje koji se primjenjuju za Duchenovu mišićnu distrofiju gotovo se mogu primijeniti na većinu mišićnih distrofija (3).

DISTROFINOPATIJE (Duchenova i Beckerova mišićna distrofija)

Distrofinopatije su grupa mišićnih distrofija koje su nastale zbog mutacije na distrofinskom genu, koji se nalazi na Xp21kromosomu (4).

Među njima, najčešća je Duchenova mišićna distrofija (DMD), javlja se učestalosti od 1 na 3.500 živorođene muške djece i učestalost ne ovisi o etničkoj ili rasnoj pripadnosti. Uzrokovana je mutacijama u DMD genu, prilikom čega dolazi do gubitka ekspresije proteina distrofina koji je ključan za održanje citoskeleta mišićnih stanica. Beckerova mišićna distrofija (BMD) je rjeđa, klinička

slika blaža, a dob pojavnosti prvih simptoma je znatno kasnije nego u DMD, kod koje se prvi simptomi javljaju prije 4-te godine života (5).

Povijest

Edward Meryon, engleski liječnik, detaljno je opisao, 1851. god bolest u osam muškaraca iz tri obitelji. Uočio je pojavnost bolesti u muške djece, unutar pojedinih obitelji, te da bolest obilježava progresivna slabost mišića koja posljedica bolesti samih mišića, a ne središnjeg živčanog sustava. Guillaume-Benjamin Duchenne, francuski neurolog, pionir električne stimulacije mišića, povezao je simptome bolesti s nakupljanjem masnog i vezivnog tkiva unutar mišića (6).

Molekularna patogeneza

DMD je nesumnjivo progresivna bolest skeletnih mišića, uzrokovana mutacijom na X-vezanom distrofinskom genu, koja dovodi do odsutnosti distrofinskog proteinskog kompleksa (7, 8). Distrofinski gen se sastoji od 86 exona i sadrži više od 2,5 miliona parova baza, te je najveći ljudski gen do danas otkriven (9). U više od 90% oboljelih od DMD, nedostatak distrofina posljedica je "out-of-frame" mutacije koja prekida normalnu transkripciju. Te mutacije su delecije, duplikacije, točkaste mutacije, "splice site" mutacije koje dovode do prekida transkripcije informacijske RNA. Rezultat toga je potpuni nedostatak ili veoma male količine abnormalnog distrofina. Međutim ako dođe do "in frame" mutacije DMD gena, dolazi do kvantitativne i kvalitativne promjene distrofinskog proteina i klinička slika je blaža (7).

Iz gore navedenog za pretpostaviti je da postoji genotipsko/fenotipska korelacija, međutim nije uvijek tako jednostavno. Ta "reading frame hipoteza" točna je gotovo u 90% slučajeva. Naime, velike delecije koje mogu zahvatiti i 50% gena nađene su u pacijenata s BMD, dok delecije pojedinih egzona, kao što je egzon 44, dovode do vrlo teških kliničkih slika DMD. Pretpostavlja se da centralne i distalne domene distrofinskog proteina nisu esencijalne i delecije u tim područjima dovode do blažih kliničkih slika kao što

je mijalgija, mišićni grčevi ili samo povišena kreatin kinaza (CK). Kod takvih pacijenata nađene su "in-frame" mutacije u egzonomima 32-44, 48-51 ili 48-53 (10).

Patofiziologija

Distrofin (molekularne težine 427 kDa) je subsarkolemalni protein koji je vezan transmembranskim kompleksom za laminin u citosolu te na taj način povezuje citoskeleton i ekstracelularni matriks i omogućuje kontraktilnost mišićnog vlakna. Distrofinski gen kodira veći broj izoformi distrofinskog proteina, tri izoforme pune dužine, molekularne težine 427 kDa, koje se ekspimiraju u Purkinijevim stanicama, mišićima i mozgu. Međutim, nasuprot tim trima izoformama distrofinskog proteina, postoje kraće izoforme distrofinskog proteina, koje imaju različitu promotorsku regiju i početne egzone, te ih prema dužini razlikujemo: Dp 260 (retina, mozak, srce), Dp 140 (mozak, bubreg), Dp 116 (mozak, periferni živci), Dp 71 (glija,) i Dp 40. Upravo prisutnost, odnosno odsutnost različitih izoformi distrofinskog proteina, rezultat su lokalizacije i veličine delecije distrofinskog gena, što na kraju utječe na ekspresiju fenotipa i kliničku sliku (11).

Do danas nije u potpunosti razjašnjeno kako mutacije gena koji kodiraju različite proteine mišićnih stanica dovode do disfunkcije tih istih stanica. S obzirom da je distrofin membranski protein, pretpostavilo se da njegov nedostatak dovodi do propadanja membrane, s posljedičnim gubitkom mišićnih enzima i da to dovodi do mišićne slabosti. Ali što je s proteinima koji nisu dio membrane stanica, nego pripadaju drugim dijelovima stanice (tablica 1) (3).

Dosadašnja istraživanja sugeriraju da na disfunkciju mišićne stanice utječe i poremećena aktivnost kalcijevih kanala s posljedičnim ekscesivnim ulaskom Ca^{2+} unutar stanice, te započinje kaskadna reakcija koja dovodi do oštećenja mitohondrija i završava nekrozom i fibrozom stanice. Također je poremećen i proces oksidacije i glikolize, kao i funkcija voltažno ovisnih kanala čime se mijenja ravnoteža između pro i antiapoptičkih signalnih putova koji dalje doprinose razaranju stanice (12).

Klinička slika

Prvi klinički simptomi DMD obično nisu prepoznati prije 3 godine života, a ponekad i kasnije. Međutim pažljivim uzimanjem anamneze saznaje se da je kod većine dječaka s DMD motorički razvoj bio usporen, nerijetko samostalno prohodaju nakon 15 mj. života, pri hodu su nespretni i često padaju. Prave poteškoće pri hodu, otežano ustajanje iz čučnja, pozitivan Goversov znak, slabost fleksornih mišića, uz hipertrofiju mišića stražnje lože potkoljenica uočavaju se u dobi od 3-4 godine.

Zbog slabosti ekstenzora kuka, hod je "gegov" uz izraženu lumbalnu lordozu, rameni obruč zabačen straga u cilju održavanja ravnoteže. Postaje se sve teže uspinjati stepenicama, a postepeno je zahvaćena i distalna mišićna masa. Patelni tetivni refleks je odsutan već pri prvim kliničkim znakovima, dok refleks Achilove tetive je dugo održan. Postepeno se razvija i kontraktura Achilove tetive s posljedičnim ekvinovarusom, te se pacijent oslanja na prednji dio stopala. Postepeno pacijent postaje nepokretan, obično krajem prvog desetljeća u neliječenih bolesnika, a tri godine kasnije nepokretnost se razvija u većine steroid-liječenih DMD dječaka. Razvijaju se kontrakture prvenstveno donjih ekstremiteta, potom gornjih i kifoskolioza. Razvoj slabost uz razvoj kontraktura dovodi do potpune invalidnosti (3).

Respiratorna funkcija postepeno se pogoršava zbog slabosti interkostalnih i dijafragmalnih mišića. Mišićna slabost pogađa sve respiratorne funkcije, uključujući aktivnost mukocilijarnog aparata, izmjenu plinova te respiratornu kontrolu tijekom budnosti i spavanja. Cijelonočna polisomnografija je korisna u otkrivanju sleep apnea (13).

Djeca sa DMD imaju visoki rizik za razvoj kardiomiopatije, posebno ako je riječ o deleciji egzona 48-53, stoga je značajno već od početka postavljanja dijagnoze pratiti elektrokardiogram i ultrazvuk srca. Blaga kardiomiopatija javlja se u 95% pacijenata. Postepeno se razvija srčana fibroza uz disfunkciju lijevog ventrikula i ventrikularnu disritmiju što na kraju može dovesti do srčane insuficijencije (14).

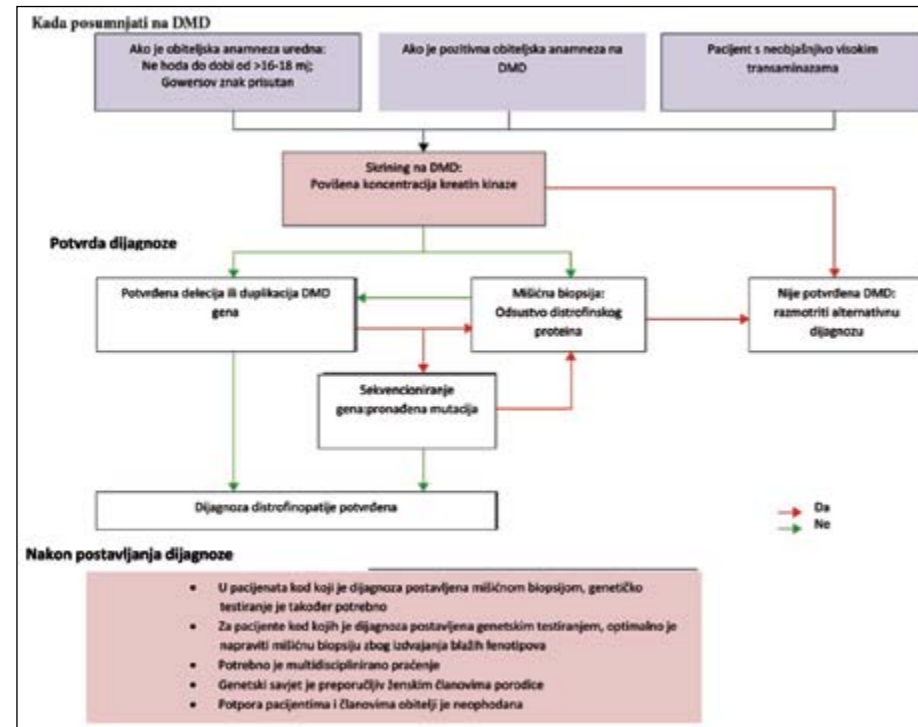
Genotip/ fenotip studije pokazale su da delecije u centralnom području ili na 3'kraju gena su češće povezane sa mentalnim poteškoćama kao što su mentalna retardacija ili autistički spektar ponašanja (15). Također je uočeno da pacijenti s DMD imaju poremećen motilitet crijeva što može dovesti do megakolona, volvulusa i malapsorpcije (16).

Dijagnostički postupci

Serumska kreatin kinaza je najznačajniji i univerzalni skrining test za Duchenovu distrofinopatiju. Vrijednosti CK povišene su već u najranijoj fazi bolesti od 10,000 do 30,000 IU/L. Uredne vrijednosti ili blago povišene, isključuju DMD. Serumska kreatin kinaza značajno varira, ovisno o tjelesnoj aktivnosti tako i progresiji bolesti praćenju gubitkom mišićne mase. Nema pozitivne korelacije između težine kliničke slike i vrijednosti CK, pa se tako i učinak liječenja ne može pratiti s obzirom na CK. Zbog gubitka unutarstaničnih mišićnih proteina, u serumu se nalaze i povišene vrijednosti drugih izoenzima, laktat dehidrogenaze, alanin aminotransferaze i u manjoj količini i aspartat aminotransferaze (17).

Precizna molekularna dijagnoza nepohodna je u svih pacijenata sa DMD i BMD, pa čak iako je dijagnoza postavljena imunohistokemijski na mišićnom biopsiju. Biopsija mišića pokazuje mišićna vlakna različite veličine, uz degenerativne promjene, endomizijalnu fibrozu i ekscesivno nakupljanje masnog i vezivnog tkiva.

Početan skrining na delecije i duplikacije distrofinskog gena postavlja dijagnozu u većine pacijenata. Sekvencioniranje cijelog distrofinskog gena potvrdit će dijagnozu u pacijenata kod kojih mutacija nije otkrivena testiranjem na duplikacije/delecije. I druge tehnike molekularne dijagnostike poput molekularne kariotipizacije - komparativna genomska hibridizacija (CGH - engl. - *Comparative Genome Hybridisation*), komparativna genomska hibridizacija visoke rezolucije (HR-CGH - engl. *High Resolution Comparative Genome Hybridisation*), CGH na matrici (engl. *Array CGH*) te



Slika 2.

Postupnik pretraga pri sumnji na Duchenovu mišićnu distrofiju. U rijetkim slučajevima, dijagnozu distrofnopije možemo postaviti na temelju odsutnosti proteina u biopitu mišića iako je genetsko testiranje negativno. Prilagodeno prema referenci (19)

metoda višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA - engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) mogu se koristiti za dijagnozu genskih delecija i duplikacija, kao i za otkrivanje nosioca mišićnih distrofija (18). Algoritam dijagnostičkih postupaka pri sumnji na DMD prikazan je na Slici 2 (19).

Liječenje

Liječenje djece sa DMD i BMD podrazumijeva multidisciplinarni pristup te uključivanje stručnjaka različitih struka (neurolog, ortoped, kardiolog, pulmolog, psihijatar, fizijatar, radni terapeut, nutricionist, socijalni radnik) koji zajedničkim angažmanom mogu doprinijeti kvalitetnijem životu malih pacijenata ali i njihovoj porodici. Roditelji djece s DMD moraju biti istinito i pravovaljano obaviješteni o trenutnom stanju svoga djeteta, očekivanom kliničkom tijeku bolesti te o primjeni raznih načina liječenja, rehabilitacije i habilitacije te kirurških postupaka koji će njihovom djetetu omogućiti što dužu samostalnost. Također je potrebno kontaktirati i školsko osoblje da nauče kako pomoći djetetu s

DMD u cilju poticanja što duže samostalnosti i neovisnosti djece s DMD (19).

Farmakološko liječenje

Prije upotrebe kortikosteroida koji danas predstavljaju zlatni standard u liječenju DMD, smrt je obično nastupala u drugoj polovici drugog desetljeća (prosječna dob preživljavanja je bila 18 godina) i samo 25% pacijenata je živjelo preko 21. god. Taj prirodni tijek bolesti danas se promijenio i neupitan je povoljan učinak kortikosteroida na kvalitetu života i dužinu preživljavanja tih pacijenata u smislu što kasnije primjene neinvazivne ventilacije, olakšane rehabilitacije, odgođenih kirurških intervencija (19).

Najbolje vrijeme za uvođenje steroida u liječenje je ona faza kada motorne funkcije djeteta stagniraju, i kada se još nisu počele pogoršavati. To je vrijeme obično između četvrte i šeste godine života. Ne preporučuje se davanje steroida djeci kod kojih se motorne funkcije još uvijek razvijaju, naročito ako imaju manje od dvije godine. Veoma je važno poznavati potencijalne neželjene učinke

kada se liječenje steroidima počne primjenjivati. Iako je terapija steroidima glavni način liječenja DMD, ne treba se shvaćati olako bilo od strane liječnika bilo od strane obitelji i treba biti nadzirana od strane liječnika koji dobro poznaje steroidnu terapiju (19, 20).

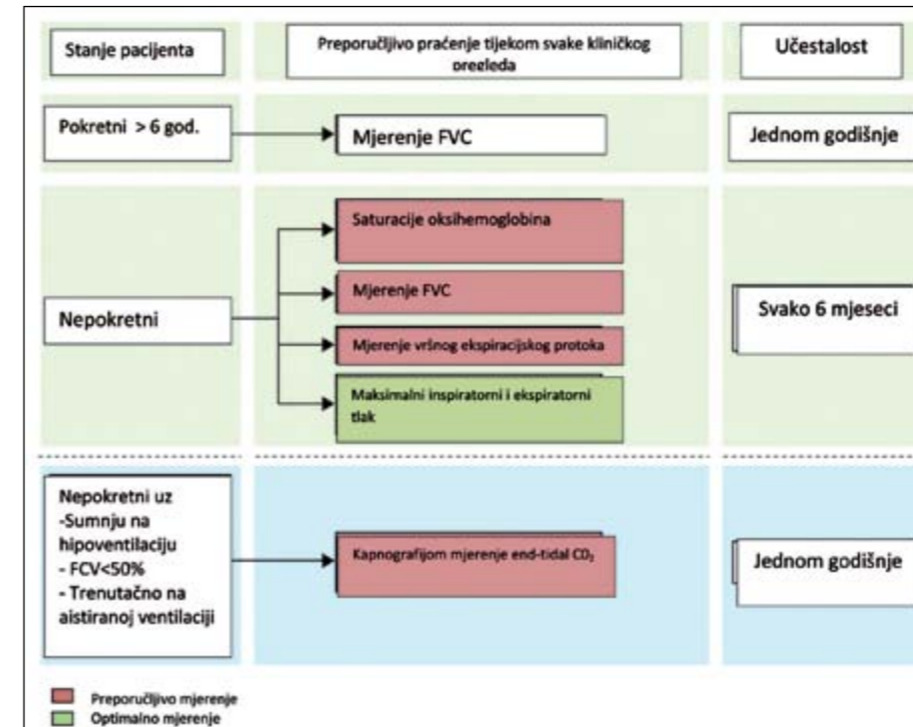
Rehabilitacijsko liječenje

Osobe sa DMD zahtijevaju različite tipove rehabilitacijskog liječenja tijekom života. Glavni cilj fizikalne terapije je očuvanje istezljivosti mišića i smanjenje kontraktura u zglobovima. Održavanje što boljeg raspona pokreta i simetrije različitih zglobova jako je važno. Rehabilitacijsko liječenje pomaže u održavanju što bolje motoričke funkcije, sprječava razvoj deformiteta, kao i kožnih promjena zbog pritiska. Dužoj neovisnosti doprinose i odgovarajuća i pravovremena primjena ortoza te drugih ortopedskih pomagala.

Dječaci obično nemaju problema sa disanjem ili kašljem dok još uvijek hodaju. Zbog slabljenja disajnih mišića, sa odrastanjem povećava se rizik od infekcija pluća, često kao rezultat otežanog iskašljavanja. Kasnije se stvaraju problemi sa disanjem u tijeku spavanja. Kada odrastu, može se javiti potreba za pomoći pri disanju i tijekom dana. Pošto je ovo problem koji se razvija po fazama, potrebno je planirati adekvatnu respiratornu njegu, zasnovanu na odgovarajućem nadzoru, profilaksi i potrebnim intervencijama (slika 3) (20).

U cijelom procesu habilitacije potreban je i intenzivan nadzor nad lokomotornim sustavom s posebnim osvrtom na kosti, njihovoj gustoći, jer zbog osnovne bolesti s posljedičnom smanjenom pokretljivosti i mišićnoj slabosti daljnjoj demineralizaciji i pridonosi i kortikosteroidna terapija (20).

Nadalje, potrebno je rano otkrivanje i liječenje slabosti funkcije srčanog mišića (obično je to kardiomiopatija ili su problemi sa srčanim ritmom) koje obično prati napredovanje bolesti. Kako se to često dešava neopaženo (tj. bez pojave značajnijih simptoma) najvažniji su nadzor i proaktivni terapijski pristup (otkrivanje srčanog problema i prije pojave



Slika 3.

Postupnik respiratorne procjene pacijenata s Duchenovom mišićnom distrofijom. Preporuča se mjerenje end-tidal CO₂ svaki put u pacijenata s FVC < 50% pri sumnji na respiratornu infekciju. Prema referenci 20

simptoma i započinjanje adekvatne terapije) (19, 20). Odlazak kod dijetetičara ili nutricioniste, terapeuta za gutanje/govor i jezika i gastroenterologa će u različitim stadijima bolesti također biti neophodan (19, 20).

Eksperimentalna terapija

Otprilike 15% DMD pacijenata ima mutaciju koja dovodi do pomaka okvira čitanja baza ili *stop kodon*. Upravo na tim vrstama mutacija baziraju se današnja istraživanja kojima se nastoje da neki od *stop kodona* preobrati u smislene kodone. Tako se rade istraživanja na PTC124 (Ataluren), koji jednostavno omogućava da se translacija nastavi i dalje unatoč stop kodonu i na taj način omogući stvaranje proteina normalne dužine (21). Druga vrsta istraživanja osnivaju se na protusmjernim oligonukleotidima (engl. *antisense oligonucleotides* - AONs) koji na neki način "prikriju" specifičnu mutaciju i nakon "preskakanja" mutiranog egzona - "engl. *exon skipping*"- translacija se nastavlja dalje u semifunkcionalni distrofninski protein (22).

POJASNO MIŠIĆNE DISTROFIJE

Pojasno mišićne distrofije su heterogena grupa progresivnih, nasljednih bolesti, koja predominantno zahvaćaju područje ramenog i zdjeliceg obruča. Napretkom molekularne genetike te preciziranju kliničkih kriterija, klasifikacija i nomenklatura pojasno-mišićnih distrofija značajno je napredovala (tablica 1) (1-3). Klasifikacija pojasno mišićnih distrofija prvenstveno se osniva na načinu nasljeđivanja; autosomno dominantne (pojasno mišićne distrofije tip 1) i autosomno recesivne (pojasno mišićne distrofije tip 2). Do danas je opisano sedam podtipova pojasno mišićnih distrofija tip 1 i 15 podtipova pojasno mišićnih distrofija tip 2. Na autosomno dominantne otpada oko 10% slučajeva (3, 24). Sve pojasno mišićne distrofije su rijetke, neke su opisane samo u pojedinim obiteljima ili etničkim zajednicama. Incidencija iznosi 1/10 000 (25).

Kako ih sam naziv opisuje, karakterizira ih slabost proksimalnih skupina mišića zdjeliceg i ramenog područja. Međutim neki oblici pojasno mišićnih distrofija mogu zahvaćati i distalne sku-

pine mišića, te klinički slične neuro-patije ili druge neurogene bolesti. Prvi simptomi mogu se pojaviti još u dječjoj dobi i sličiti simptomima DMD, ali mogu se pojaviti i znatno kasnije, u adolescentnoj dobi ili ranoj odrasloj dobi. U tablicama je prikazana klasifikacija pojasnih mišićnih distrofija prema dobi javljanja, ključnim kliničkim karakteristikama, zahvaćenosti proteina te njegovoj funkciji (tablica 1, tablica 2) (1-3).

Neki jako teški oblici pojasnih mišićnih distrofija mogu se očitovati već pri porodu, te ih ubrajamo u kongenitalne mišićne distrofije. U tablici 1, su prikazane kongenitalne mišićne distrofije, genski lokusi i proteinski produkt (3). Tijekom posljednje dekade postalo je gotovo bolno jasno, da isti simptomi i ista klinička slika mogu biti uzrokovani mutacijama raznih gena, kao i obratno da mutacija jednog gena može se eksprimirati različitim fenotipovima, posebno vezano za dob pojavnosti simptoma kao težinom kliničkog stanja. Npr. pacijent s mutacijom fukutin gena i lamin A/C gena mogu pokazati simptome već pri porodu u obliku kongenitalne mišićne distrofije, ali se simptomi mogu javiti znatno kasnije u blažem obliku pojasne mišićne distrofije (26).

S jedne strane diferencijacija pojedinih mišićnih distrofija, a također i njihovo razlikovanje od drugih mišićnih distrofija kao što su skapuloperonealna ili facioskapuloperonealna mišićna distrofija ili od drugih bolesti npr. stečenih autoimunih miopatija, metaboličkih miopatija, npr. kasni oblik Pompeove bolesti ili čak i neurogenih poremećaja kao što je tip III spinalne mišićne atrofije zahtijeva značajno kliničko iskustvo (3). Laboratorijska dijagnostika, uključujući i vrijednosti kreatin kinaze, neurofiziološka ispitivanja i mišićna biopsija nisu dostatni za postavljanje konačne dijagnoze. U najbolje opremljenim centrima za dijagnosticiranje i liječenje pojasno mišićnih distrofija u gotovo više od 25% slučajeva ne uspije se postaviti ispravna dijagnoza. Međutim, divovski razvoj molekularne genetike daje nam nadu da će slijedeći korak u dijagnosticiranju pojasnih mišićnih distrofija biti sekvenciranje gena (3).

Uzročnog liječenja mišićnih distrofija za sada nema, vjerojatno kada se razjasni specifični patofiziološki mehanizam razviti će se i kauzalno liječenje. Postoji velika nada da će jednog dana genska terapija biti moguća, ali i tada fizikalna terapija, adekvatna respiracijska njega biti će esencijalna pacijentima s LGMD i praćenjem motoričkih sposobnosti moći će se i procijeniti učinak genske terapije (3).

ZAKLJUČAK

Mišićne distrofije su progresivne, nasljedne bolest skeletnih mišića, kod koji postepeno dolazi do gubitka mišićne snage i razvoja atrofije mišića. Radi se o grupi rijetkih bolesti, koje danas zahvaljujući izuzetnom napretku molekularne genetike možemo kategorizirati ne samo po kliničkoj slici, nego prema mutaciji gena kao i proteinskom produktu.

Klinička slika je varijabilna, pa iste mutacije mogu se različito klinički prezentirati, kao i obratno slične kliničke simptome mogu dati različite mutacije. Upravo zbog kompleksne fenotipsko-genotipske korelacije, neophodna su daljnja istraživanja tih rijetkih bolesti kako bi se lakše postavila dijagnoza ali i otvorili eksperimentalni putovi liječenja, poput preskakanja mutiranog egzona - "engl. *exon skipping*" - i sl. Iako su istraživanja na tom području već poprilično odmakla još će proteći dosta vremena da se takvi vidovi liječenja uvedu u rutinsku praksu, a i tad će biti namijenjeni samo manjoj, točno određenoj grupi pacijenata. Međutim, iako za sada nema uzročnog liječenja, kvaliteta života osoba oboljelih od MD može se znatno poboljšati odgovarajućim rehabilitacijskim postupcima, adekvatnom respiratornom njegom i kirurškim intervencijama.

Autor izjavljuje da nije bio u sukobu interesa.
Author declare no conflict of interest.

LITERATURA

- Emery AE. Muscular dystrophy into the new millennium. *Neuromuscul Disord.* 2002; 12 (4): 343-9.
- Walton JN, Nattrass FJ. On the classification, natural history and treatment of the myopathies. *Brain.* 1954; 77: 169-231.

- Escolar DM, Leshner RT. *Muscular Dystrophies.* U: Swaiman, editor. *Pediatric Neurology.* 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012; 1570-605.
- Baumbach LL, Chamberlain JS, Ward PA i sur: Molecular and clinical correlations of deletions leading to Duchenne and Becker muscular dystrophies. *Neurology.* 1989; 39: 465-74.
- Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics.* 1988; 2: 90-5.
- Emery AE. Duchenne muscular dystrophy - Meryon's disease. *Neuromuscul Disord.* 1993; 3: 263-6.
- Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM. Dystrophin: The protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell.* 1987; 51: 919-28.
- Koenig M, Beggs AH, Moyer M i sur. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: Correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 498-506.
- Burmeister M, Lehrach H. Long-range restriction map around the Duchenne muscular dystrophy gene. *Nature.* 1986; 324: 582-5.
- Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S i sur. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics.* 1988; 2: 90-5.
- Culligan KG, Mackey AJ, Finn DM i sur. Role of dystrophin isoforms and associated proteins in muscular dystrophy (review). *Int J Mol Med.* 1998; 2: 639-48.
- Iwata Y, Katanosaka Y, Arai Y i sur. A novel mechanism of myocyte degeneration involving the Ca²⁺-permeable growth factor-regulated channel. *J Cell Biol* 2003; 161: 957-67.
- Kirk VG, Flemons WW, Adams C i sur. Sleep-disordered breathing in Duchenne muscular dystrophy: A preliminary study of the role of portable monitoring. *Pediatr Pulmonol.* 2000; 29: 135-40.
- Melacini P, Vianello A, Villanova C i sur. Cardiac and respiratory involvement in advanced stage Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 1996; 6: 367-76.
- Giliberto F, Ferreira V, Dalamon V i sur. Dystrophin deletions and cognitive impairment in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Neurol Res.* 2004; 26: 83-7.
- Borrelli O, Salvia G, Mancini V i sur. Evolution of gastric electrical features and gastric emptying in . 2005; 10: 695-702.
- Korones DN, Brown, Palis J. "Liver function tests" are not always tests of liver function. *Am J Hematol.* 2001; 66: 46-8.
- White S, Kalf M, Liu Q i sur. Comprehensive detection of genomic duplications and deletions in the DMD gene, by use of multiplex amplifiable probe hybridization. *Am J Hum Genet.* 2002; 71: 365-74.
- Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ. DMD Care Considerations Working Group i sur. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol.* 2010; 9 (1): 77-93.
- Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ. DMD Care Considerations Working Group i sur. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol.* 2010; 9 (3): 177-89.
- Finkel RS. Read-through strategies for suppression of nonsense mutations in Duchenne/Becker muscular dystrophy: aminoglycosides and ataluren (PTC124). *J Child Neurol.* 2010; 25 (9): 1158-64.
- van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB i sur. Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. *N Engl J Med.* 2007; 357 (26): 2677-86.
- Michela Guglieri, Francesca Magri, Giacomo P. Comi. Molecular etiopathogenesis of limb girdle muscular and congenital muscular dystrophies: Boundaries and contiguities. *Clinica Chimica Acta.* 2005; 361 (1): 54-79.
- Rosales XQ, Tsao CY. Childhood onset of limb-girdle muscular dystrophy. *Pediatr Neurol.* 2012; 46 (1): 13-23.
- Yates JR, Emery AE. A population study of adult onset limb-girdle muscular dystrophy. *J Med Genet.* 1985; 22: 250-7.
- Moore SA, Shilling CJ, Westra S i sur. Limb-girdle muscular dystrophy in the United States. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006; 65 (10): 995-1003.

Summary

MUSCULAR DYSTROPHIES - DIAGNOSIS AND THERAPY

R. Kuzmanić Šamija

Context: Muscular dystrophies are progressive, inherited skeletal muscle disorders resulting in muscle degeneration and loss of strength. The genetic basis of many muscular disorders as well as protein products, including many of the more common muscular dystrophies, is now known. Using muscle protein studies and molecular genetic studies in the majority of cases it is possible to establish a precise diagnosis, provide a prognosis, detect preclinical cases, identify carriers, and offer prenatal diagnostic testing. Physical therapy, respiratory care, physiotherapy, and the surgical correction of contractures offers the most promise in caring for the majority of patients with these condition. A molecular genetic approach seems to offer the best prospect for developing effective treatment in the future.

The aim of this paper is to present new knowledge about muscular dystrophy, indicate the complexity of diagnostic procedures, with special emphasis on molecular genetic diagnosis, and present the most recent knowledge about the therapeutic approach.

Conclusion: The complexities of the genotype-phenotype correlations in the muscular dystrophies make it difficult to classify them. In recent advance in molecular genetics provides easier diagnosis, identification of known clinical entities and defining new disorders.

Descriptors: DYSTROPHINOPATHIES, GIRDLE MUSCULAR DYSTROPHY, PHENOTYPIC-GENOTYPIC CORRELATIONS, THERAPY

Primljeno/Received: 11. 3. 2013.
Prihvaćeno/Accepted: 29. 3. 2013.