

# Distrofia musculară Duchenne - perspective

## New perspectives in Duchenne muscular dystrophy

### Abstract

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is the most common muscle disease of childhood. One in every 3,500 newborn boys has Duchenne muscular dystrophy. Very rarely, it also affects girls (approximately 1 in 50 million girls). It occurs across all races and cultures. Symptoms of DMD usually appear between ages of two and five years old and may include difficulty in running, jumping, climbing and rising from the floor, frequent falls, enlarged calf muscles, toe walking and delays in language development. The first muscles affected are those around the hips and upper thigh. Weakness gradually progresses to include all the muscles used for movement (skeletal muscles), the muscles used for breathing and the heart. Duchenne is typically diagnosed in boys between the ages of 3 and 7. Although there is currently no cure for Duchenne muscular dystrophy, there is a lot that can be done to manage the symptoms and to considerably improve the quality and length of life. A variety of different medical professionals will be needed to be called on at different times to manage the many different aspects of the disease. Care will be led and organized by a neurologist who is a specialist in Duchenne muscular dystrophy. Many researchers are actively pursuing several new strategies in DMD, such as gene therapy and exon skipping, gene repair. Human clinical trials are under way for some of these strategies.

**Keywords:** muscular dystrophy, prenatal diagnosis, gene therapy

### Rezumat

Distrofia musculară Duchenne (DMD) este cea mai frecventă boală musculară a copilăriei. Unul din fiecare 3500 de nou-născuți de sex masculin este afectat. Foarte rar, această boală afectează, de asemenea, fete (aproximativ 1 din 50 de milioane de fete). Simptomele de DMD apar, de obicei, între 2 și 5 ani și pot include dificultate la alergare, sărituri și cățărare, căderi frecvente, mărirea mușchilor gambei și întârzieri în dezvoltarea limbajului. Primii afectați sunt mușchii centurii pelviene și cei ai coapsei. Slăbiciunea musculară progresează treptat, pentru a include toți mușchii utilizați pentru deplasare, mușchii respiratori și mușchiul cardiac. DMD este de obicei diagnosticată la băieți cu vârste cuprinse între 3 și 7 ani. Deși nu există în prezent nici un remediu pentru Duchenne, există tratamente paleative pentru a gestiona simptomele și a îmbunătăți calitatea și durata vieții, managementul fiind realizat de o echipă multidisciplinară. În prezent sunt dezvoltate mai multe direcții de cercetare pentru găsirea unui tratament etiologic al bolii, cum ar fi terapia genetică, exon skipping, reparații ale genei. Studiile clinice la om sunt în curs de desfășurare, pentru unele dintre aceste strategii terapeutice promițătoare.

**Cuvinte-cheie:** distrofie musculară, diagnostic prenatal, terapie genică

Viorica Rădoi<sup>1</sup>,  
Laurențiu Bohilțea<sup>1</sup>,  
Roxana Bohilțea<sup>2</sup>,  
Monica Cîrstoiu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. UMF "Carol Davila" București, Departamentul de Genetică Medicală  
<sup>2</sup>. UMF "Carol Davila" București, Departamentul de Obstetrică-Ginecologie, Spitalul Universitar de Urgență București

Correspondență:  
Roxana Bohilțea  
e-mail: r.bohiltea@yahoo.com

Distrofia musculară Duchenne este o afecțiune genetică gravă care afectează aproximativ 1:3500 de băieți, manifestată prin slăbiciune musculară care debutează devreme în copilărie. Decesul se produce prin insuficiență respiratorie și/sau cardiacă, în jurul vârstei de 20-30 de ani.

Afecțiunea este determinată de prezența unor mutații în gena care codifică pentru o proteină numită distrofină, implicată în funcționarea corespunzătoare a mușchilor.

Distrofina este localizată pe fața citoplasmatică a membranei fibrei musculare, funcționând ca o componentă a unui complex glicoproteic. În absența distrofinei, complexul glicoproteic este degradat de către proteaze, ducând la degenerarea fibrei musculare.

### Manifestări clinice

Simptomatologia apare între 1 și 6 ani, iar în jurul vârstei de 12 ani, cei mai mulți dintre băieții afectați se depasează în scaunul cu roțile. Afectarea musculaturii

atrage după sine și modificări la nivelul scheletului și împreună contribuie la apariția tulburărilor respiratorii (figura 2).

Vârsta medie la care merg băieții afectați de distrofie musculară Duchenne se situează în jurul vârstei de 18 luni. Apare apoi o slăbiciune musculară progresivă la nivelul membrelor inferioare și la nivelul centurii pelviene, care se asociază cu o scădere a masei musculare. Inițial, țesutul muscular de la nivelul gambelor se mărește, însă treptat este înlocuit cu țesut adipos și conjunctiv (pseudohipertrofie).

Afectarea osteoarticulară se caracterizează prin apariția contracturilor musculare la nivelul picioarelor. De asemenea, apare o scolioză progresivă, aproape la toți pacienții cu DMD/DMB. Scolioza împreună cu slăbiciunea musculară agravează afectarea funcției respiratorii, ducând până la insuficiență respiratorie. Pot apărea fracturi atât la nivelul membrelor superioare, cât și la nivelul membrelor inferioare, cel mai frecvent prin cădere.

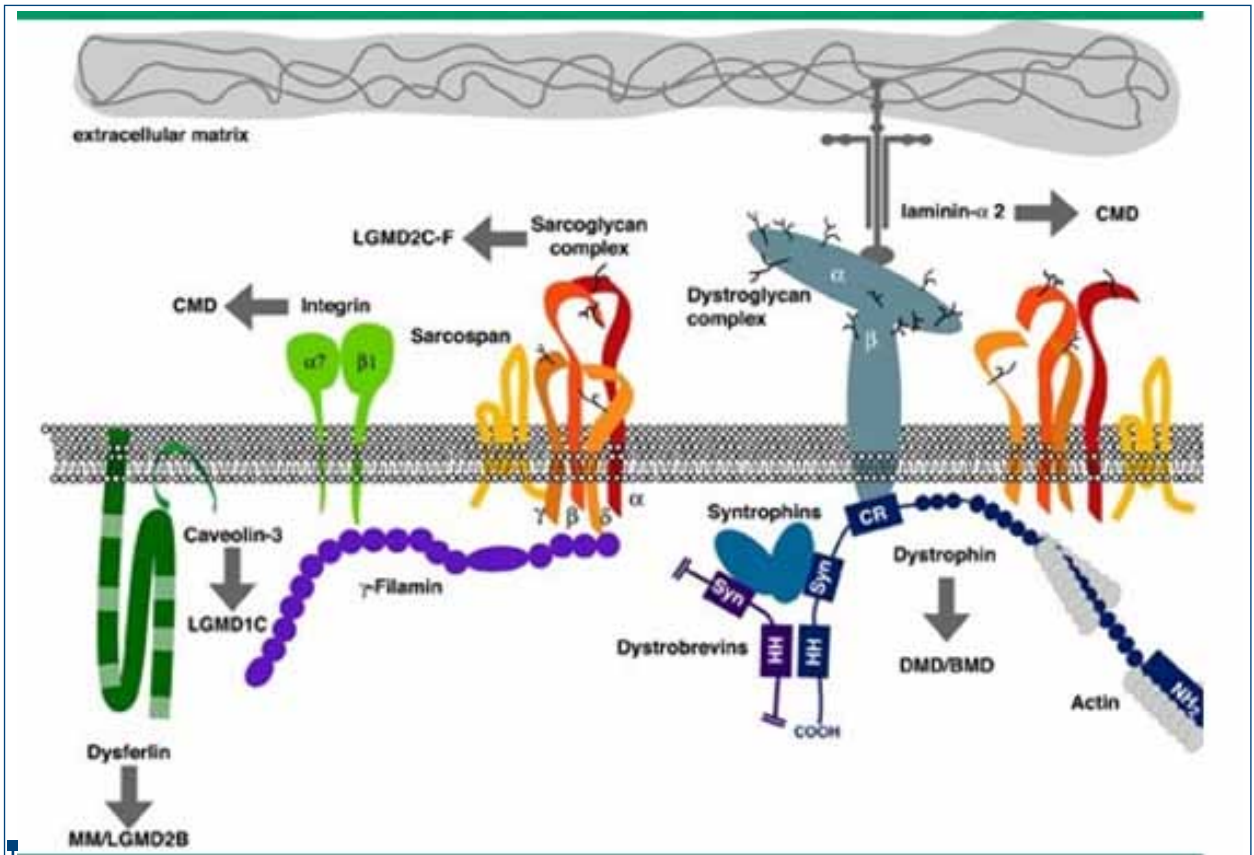


Figura 1. Distrofina în complexul glico-proteic- funcții) preluare UpToDate

Complicațiile cardiace (cardiomiopatia) apar după vârsta de 18 ani și reprezintă, împreună cu tulburările respiratorii, principala cauză de deces. Apar primar cardiomiopatia dilatativă și tulburări de conducere, în special intraatriale, interatriale, dar pot afecta și nodulul atrio-ventricular, ducând la diferite forme de

aritmii (cele mai frecvente fiind supraventriculare). Ulterior, cardiomiopatia este caracterizată prin fibroza extensivă a peretelui ventricular stâng, postero-bazal, determinând modificări EKG specifice (figura 3).

Ca progresie a bolii, fibroza poate prinde tot peretele ventricular stâng. În plus, poate apărea regurgitare

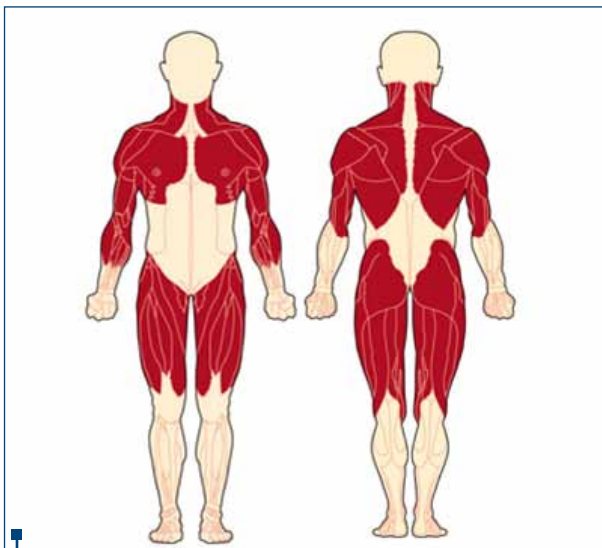


Figura 2. Afectarea musculară în DMD



Figura 3. Modificări EKG specifice în DMD: unde R precordiale drepte înalte, creșterea raportului R/S, unde q adânci în derivațiile aVL, V1-V6

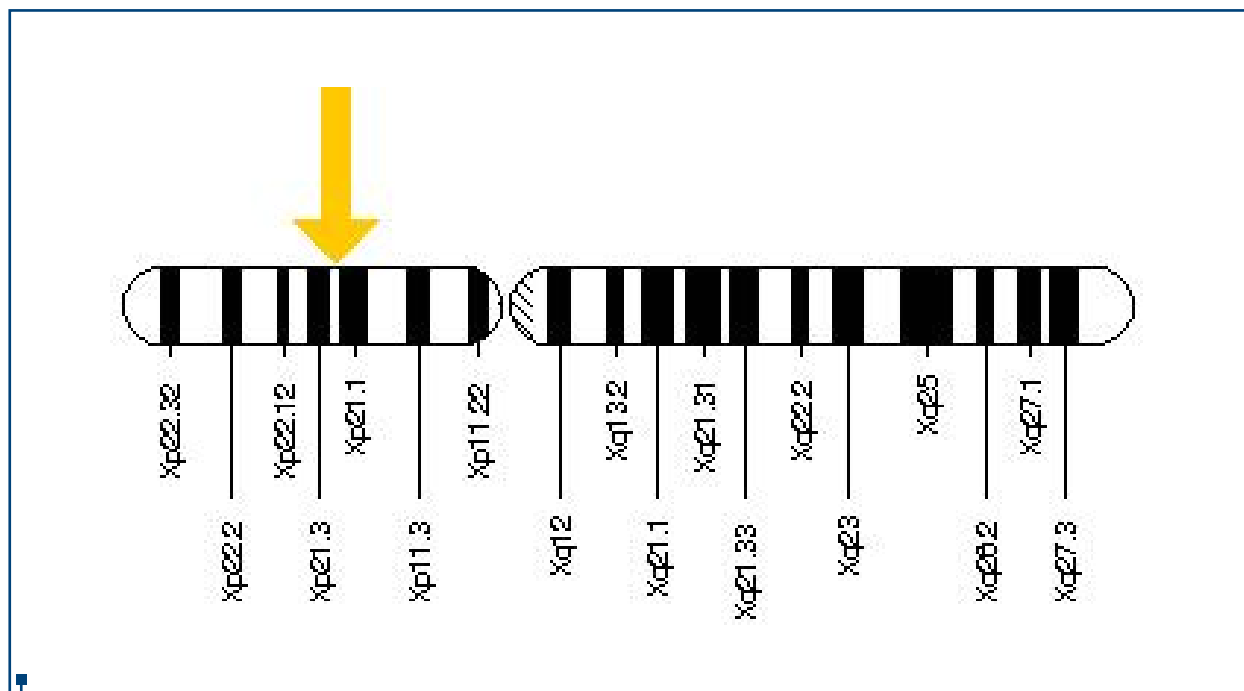


Figura 4. Gena distrofinei

mitrală semnificativă prin afectarea mușchiului cardiac pilier posterior. Incidența cardiomiopatiei simptomatice la pacienții cu distrofie musculară crește gradual către vârsta adolescenței.

Insuficiența cardiacă se dezvoltă în stadiile avansate ale bolii, devenind manifestă în infecțiile intercurrente sau cu ocazia unor intervenții chirurgicale (ca o complicație a anesteziei). Insuficiența cardiacă poate determina decesul acestor pacienți, chiar și fără compromiterea funcției respiratorii.

Rata de supraviețuire este foarte redusă după decada a treia din viață. În 1986, Duchenne a stabilit criteriile de diagnostic al bolii care sunt încă folosite:

slăbiciune ce debutează la nivelul membrelor inferioare; hiperlordoză și mers cu baza de susținere lărgită; hipertrofia mușchilor gambei; evoluție progresivă în timp; reducerea contractilității musculare la stimularea electrică; absența disfuncțiilor sfincteriene și a stării febrile. Gowers a fost primul care a dedus baza genetică a acestei afecțiuni și a descris unele forme cu debut tardiv al manifestărilor clinice. În 1962, Becker a considerat că pacienții cu un fenotip mai puțin sever de boală prezintă, de fapt, mutații mai ușoare la nivelul aceleiași gene (figura 4). În prezent, aceștia sunt încadrați în distrofia musculară Becker<sup>(1,4)</sup>.

DMD este singura genă asociată cu distrofinopatiile. Testele de biologie moleculară care evidențiază mutațiile DMD pot stabili diagnosticul în majoritatea cazurilor de distrofie Duchenne sau Becker, fără a fi necesară biopsia musculară. Teoretic, toți pacienții de sex masculin cu distrofie Duchenne și cel puțin 85% dintre cei cu distrofie Becker prezintă mutații DMD identificabile. Numărul pacienților cu cardiomiopatie dilatativă și mutații DMD identificabile este necunoscut. În restul cazurilor, coroborarea datelor clinice cu istoricul familial, nivelul creatinkinazei serice, biopsia musculară și electromiograma confirmă diagnosticul<sup>(1)</sup>.

Aspectul EMG în distrofia musculară confirmă modificările apărute la nivelul mușchilor și de obicei constau în potențiale polifazice mici (figura 6).

DMD este cea mai mare genă identificată în genomul uman; ea este alcătuită din 79 de exoni și are o rată înaltă de mutații; se exprimă în principal la nivelul musculaturii scheletice, netede și cardiace. Proteina codificată - distrofina - este implicată în legătura mecanică dintre matricea extracelulară și citoscheletul

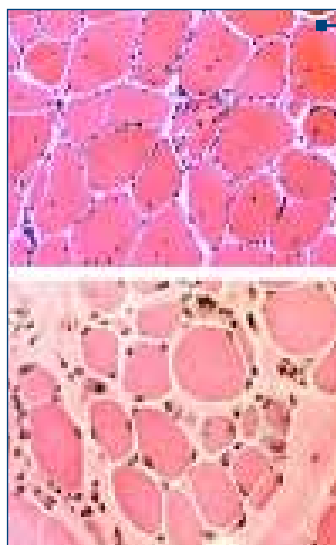


Figura 5. Aspect biopsie musculară în DMD - degenerarea fibrelor musculare, fibre musculare hipertrofice izolate și înlocuirea semnificativă a fibrelor musculare cu țesut adipos și fibroză



Figura 6. EMG în distrofia musculară Duchenne

celular. În absența distrofinei este afectată integritatea sarcolemei și este perturbată stabilitatea fibrei musculare. Deoarece crește susceptibilitatea față de injuriile mecanice, fibrele musculare vor suferi cicluri repetate de necroză și regenerare, cu epuizarea în final a capacității de regenerare.

### Genetica în DMD

Mutațiile DMD care provoacă fie absența completă a distrofinei, fie producerea unei proteine trunchiate sunt asociate cu fenotipul Duchenne. Pe de altă parte, mutațiile care afectează regiunea de mijloc a genei vor genera o proteină mai scurtă care însă își conservă domeniile carboxi- și aminoterminală și implicit funcționalitatea; acestea sunt asociate cu fenotipul Becker<sup>(2,4)</sup>.

Delețiile mari care implică unul sau mulți exoni sunt responsabile de aproximativ 59% din cazurile de boală Duchenne și de 65% din cele de distrofie Becker. Mutațiile care induc apariția prematură a unui codon stop sunt întâlnite în 15% din cazuri, iar duplicațiile în 5% din cazuri; în restul cazurilor sunt întâlnite mutații ale cadrului de citire, inserții/deleții, mutații ale situsului de splicing, precum și mutații missens (cu sens greșit).

Deși aproape toate cazurile de distrofie Duchenne sau Becker se transmit X-linkat, în o treime din cazuri nu există istoric familial, fiind vorba de mutații de novo. Mozaicismul gonadal este responsabil de aproximativ 20% dintre cazurile noi de distrofie musculară Duchenne<sup>(4)</sup>.

Recent au fost descrise și alte gene care par a fi implicate în severitatea fenotipului din DMD/DMB - un polimorfism la nivelul promotorului genei SPP1 care se asociază cu distrugerea mai rapidă și precoce a fibrei musculare și polimorfisme în gena LTBP4 care agravează evoluția clinică a pacienților cu distrofie musculară.

Riscul ca frații unei persoane afectate să dezvolte boala depinde de starea de purtător a mamei. Din cauza transmiterii X-linkate a distrofinopatiilor, femeile purtătoare prezintă un risc de 50% de a transmite mutația DMD la fiecare sarcină. Fiii care moștenesc mutația vor fi întotdeauna afectați, în timp ce fiicele care moștenesc mutația vor fi purtătoare și pot sau nu să dezvolte cardiomiopatie. Diagnosticul este de obicei suspectat la un băiat care prezintă slăbiciune musculară, creatin-kinaze serice crescute și eventual un istoric familial pozitiv.

Diagnosticul molecular genetic poate face inutilă efectuarea biopsiei musculare, care se realizează totuși pentru confirmarea unui diagnostic în cazul unei suspiciuni clinice puternice la care testele genetice au ieșit negative.

Complicații posibile în evoluția bolii:

- osteoporoza datorată imobilizării și tratamentului cu corticosteroizi; prevenția acestei complicații se poate face prin administrarea de vitamină D și calciu;
- modificări articulare - contracturi, fracturi - ce pot fi tratate prin măsuri ortotice sau intervenții chirurgicale;
- complicații digestive și de nutriție;
- complicații respiratorii, care pot fi prevenite prin tratamentul corect al infecțiilor intercurrente, prin imunizare pentru Influenza și Pneumococ și prin măsuri de fizioterapie pentru drenarea secrețiilor din arborele respirator; se folosesc tehnici de respirație asistată, utilă fiind ventilația non-invazivă;
- complicații cardiace - tratate specific.

### Tratament

Tratamentul distrofiei musculare Duchenne este centrat în prezent pe ameliorarea simptomatologiei. Există însă câteva direcții de cercetare pentru descoperirea unei terapii care să încetinească evoluția bolii și să prelungească durata de viață.

■ Terapia cu steroizi: deși se încearcă elaborarea unor strategii terapeutice țintite, în prezent singurul tratament cu efecte benefice clare asupra simptomatologiei distrofiei musculare Duchenne este tratamentul cu steroizi.

■ 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. Au fost anunțate rezultatele în urma studiului făcut pe 12 cazuri de distrofie musculară Duchenne, folosindu-se produsul Eteplirsen (bazat pe mecanismul exon skipping)<sup>(5,6,7,8)</sup>. Rezultatele obținute au fost promițătoare.

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

■ Ca formă farmaceutică, este disponibilă o variantă de proteină similară cu distrofina; această alternativă sintetică poartă numele de utrofina.

■ Aproximativ 13% dintre pacienții cu distrofie musculară au mutații nonsens la nivelul genei care codifică pentru distrofină, acest lucru ducând la sinteza unei proteine trunchiate (incomplete), nefuncționale. A fost descoperită o moleculă (numită RTC13) care acționează la nivelul ARNm al genei distrofinei mutante, permițând sinteza unei proteine integrale și funcționale<sup>(6,7,9,10)</sup>.

## Recomandările de testare genetică

■ confirmarea diagnosticului de distrofie Duchenne/Becker la persoanele afectate;

■ testarea rudelor cu risc crescut pentru identificarea femeilor purtătoare; ideal este să se identifice în prealabil o mutație cauzatoare de boală în familie;

■ diagnosticul prenatal la gravidele cu risc crescut pentru o mutație DMD; se efectuează prin analiza ADN-ului extras din celulele fetale obținute prin amniocenteză, de obicei efectuată la aproximativ 15-18 săptămâni de gestație, sau biopsia vilozităților coriale la aproximativ 10-12 săptămâni de gestație; mutațiile cauzatoare de boală trebuie identificate înainte de testarea prenatală<sup>(3,4,8,11,12,13)</sup>.

Pentru cuplurile în care mama este purtătoare a unei mutații în gena distrofinei și care apelează la proceduri de fertilizare *in vitro*, se poate face diagnostic preimplanțat pentru a preveni nașterea unui copil cu această afecțiune.

Înainte de testarea prenatală este necesar un consult genetic în urma căruia să se realizeze un arbore genealogic pentru evidențierea persoanelor afectate din familie, testarea genetică a unei persoane afectate fiind de asemenea esențială. Nu se poate realiza un diagnostic prenatal corect și cu acuratețe ridicată decât dacă este cunoscută deja (prin consult genetic și testări premergătoare) mutația genetică în gena distrofinei prezentă în familia respectivă.

Tehnicile de diagnostic bazate pe analiza ADN-ului fetal din sângele matern sunt disponibile momentan doar pentru modificări cromozomiale numerice și anumite sindroame de microdeleții, însă este foarte posibil ca în viitorul apropiat să fie testate și boli monogenice.

Deși distrofia musculară este considerată incurabilă, au fost dezvoltate terapii noi precum cele bazate pe tehnologia ARN-mediată sau exon skipping antisens-mediată, care au arătat rezultate încurajatoare în ceea ce privește tratamentul specific genetic al acestei afecțiuni. ■

## Bibliografie

- Darras BT. Clinical features and diagnosis of Duchenne and Beck muscular dystrophy. <http://www.uptodate.com/home>. Accessed Oct. 24, 2014.
- NINDS muscular dystrophy information page. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. <http://www.ninds.nih.gov/disorders/md/md.htm>. Accessed Oct. 23, 2014.
- Mercuri E, et al. Muscular dystrophies. *The Lancet*. 2013; 381:845.
- Benditt JO, et al. Pulmonary issues in patients with chronic neuromuscular disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013; 187:1046.
- Darras BT, et al. Myotonic dystrophy: Etiology, clinical features, and diagnosis. <http://www.uptodate.com/home>. Accessed Oct. 24, 2014.
- Darras BT. Treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophy. <http://www.uptodate.com/home>. Accessed Oct. 23, 2014.
- AskMayoExpert. What physical and occupational therapy interventions are available for muscular dystrophy (MD)? Rochester, Minn.: Mayo Foundation for Medical Education and Research; 2013.
- AskMayoExpert. Can braces or adaptive equipment help with muscular dystrophy? Rochester, Minn.: Mayo Foundation for Medical Education and Research; 2013.
- Darras BT. Patient information: Overview of muscular dystrophies (beyond the basics). <http://www.uptodate.com/home>. Accessed Oct. 23, 2014.
- Selcen D (expert opinion). Mayo Clinic, Rochester, Minn. Nov. 3, 2014.
- Abresch RT, et al. Exercise in neuromuscular diseases. *Physical Medicine & Rehabilitation Clinics of North America*. 2012; 23:653.
- Aartsma-Rus, A., Janson, A. A. M., Kaman, W. E., Bremmer-Bout, M., den Dunnen, J. T., Baas, F., van Ommen, G.-J. B., van Deutekom, J. C. T. Therapeutic antisense-induced exon skipping in cultured muscle cells from six different DMD patients. *Hum. Molec. Genet*. 12: 907-914, 2003.
- Abbadì, N., Philippe, C., Chery, M., Gilgenkrantz, H., Tome, F., Collin, H., Theau, D., Recan, D., Broux, O., Fardeau, M., Kaplan, J.-C., Gilgenkrantz, S. Additional case of female monozygotic twins discordant for the clinical manifestations of Duchenne muscular dystrophy due to opposite X-chromosome inactivation. *Am. J. Med. Genet*. 52: 198-206, 1994.