

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DAHİLİ TIP BÖLÜMLERİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Egemen İDİMAN

DİSTROFİNOPATİLİ HASTALARIN KLİNİK VE GENETİK AÇIDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Berril DÖNMEZ
İZMİR - 1999

86388

86388

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
Distrofinin Yapısı	2
Distrofinin Doku Dağılımı	5
Distrofinopatiler	6
Tarihçe	6
Epidemiyoloji	8
Klinik	8
Laboratuvar Bulguları	17
Distrofin Eksikliğinin Patofizyolojisi	20
Distrofin Geni ve Doku Dağılımı	22
Kalıtım	26
OLGULAR-YÖNTEM	27
BULGULAR	33
TARTIŞMA	44
ÖZET	51
ÖNERİLER	52
LİTERATÜR	53

86388

**DR. YÜNER ÖZGÜR'ÜN KURULU
BİYOKİMYA MERKEZİ**

ÖNSÖZ

Nöroloji eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Şakir Fadıloğlu, Prof. Dr. Egemen İdiman, Prof. Dr. Fethi İdiman, Prof. Dr. Kürşad Kutluk, Prof. Dr. Ahmet Genç, Doç. Dr. Barış Baklan, Doç. Dr. Raif Çakmur, Yard. Doç. Dr. Görsev G. Yener ve Psikiyatri Bölümü öğretim üyelerine; birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum Uzm. Dr. İhsan Ş. Şengün, Uzm. Dr. Vesile Öztürk, Uzm. Dr. Gülden Akdal, Uzm. Dr. Serkan Özakbaş'a, tüm asistan arkadaşlarıma ve tüm nöroloji bölümü çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca tezi hazırlamam sırasında yardıma ihtiyaç duyduğum her an bana eşsiz destek sağlayan Prof. Dr. Ahmet Genç ve Uzm. Dr. İhsan Ş. Şengün'e içtenlikle teşekkür ederim.

Hastaların genetik açıdan değerlendirilmesine ve tezin yürütülmesine olan katkılarından dolayı Uzm. Ayfer Ülgenalp ve Doç. Dr. Derya Erçal'a, hastaların mental değerlendirilmelerini yapan psikolog Meral Oğuz'a, hastaların kardiyak açıdan incelenmesi konusundaki yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Timur Meşe ve Uzm. Dr. Özer Budak'a, kas biyopsilerini değerlendiren Yrd. Doç. Dr. Erdener Özer'e , hasta sağlama konusundaki yardımları nedeniyle Uzm. Dr. Adem Aydın ve BUÇH'nden Uzm. Dr. Nedret Ural'a teşekkür ederim.

Tüm eğitimim boyunca her zaman desteklerini hissettiğim anneme ve kardeşime de ayrıca teşekkür ederim.

GİRİŞ VE AMAC

Distrofinopatiler, X kromozomunun kısa bacağında yer alan distrofin genindeki (Xp21) mutasyonlar sonucu oluşan hastalıklardır. Distrofinopatilerin en bilinen formu olan Duchenne Musküler Distrofi (DMD), distrofinin belirgin eksikliği veya yokluğu ile karakterize, ilerleyici kas güçsüzlüğü ile giden ve ölümlü sonuçlanan bir çocukluk çağı hastalığıdır. Distrofinopatilerin bir diğer formu olan Becker Musküler Distrofi (BMD) ise, distrofinin yapısal farklılığı veya azlığı söz konusu olduğu için DMD'ye oranla daha ılımlı bir tablo ile karşımıza çıkar. Distrofin, çizgili kaslar yanında kalp kası, düz kaslar, periferik sinirler, retina ve beyinde de bulunduğu için, bu hastalarda iskelet kaslarındaki güçsüzlüğün yanısıra kardiyak semptomlar, mental ve gastrointestinal sistem bulguları ile retinal anomaliler de gözlelenebilir.

Geçmiş yıllarda klinik bulgular, serum kreatin kinaz (CK) yüksekliği, elektromiyografi (EMG) bulguları ve kas biyopsisindeki morfolojik değişiklikler ile tanı konmakta iken, günümüzde kas biyopsisinde distrofin analizi ve/veya genetik bulgular ile daha kesin tanı konabilmektedir. Gerçekten de DMD ve BMD uzun yıllardır bilinmesine rağmen distrofinin ve geninin keşfinden sonra bu hastalıklara, özellikle de hastalığın genetik yönüne ilişkin araştırmalar hızlanmış ve prenatal tanı olanaklı hale gelmiştir. Günümüzde; hastalığın fenotipi ile genotip arasında bir korelasyon olup olmadığını saptamaya yönelik çalışmalar halen sürmektedir.

Bizim bu çalışmadaki amacımız, distrofinopatili hastalarda; mental retardasyon ve kardiyak tutulum sıklığını belirlemek ve bu bulgularla genotip arasında herhangi bir korelasyon olup olmadığını araştırmaktır. Ayrıca bir diğer amacımız da incelemeye aldığımız hastaların ailelerinde ileride gerekebilecek bir prenatal tanı için gerekli olan delesyonlarının saptanmasıydı.

GENEL BİLGİLER

Distrofinopatiler, X kromozomunun kısa bacağında (Xp21) yer alan distrofin genindeki patolojiler sonucu ortaya çıkan hastalıklardır (1,2). Hastalıktan sorumlu olan bu gen, 2.4 megabase'lık yapısı ile insanda bilinen en büyük gendir (2,4,9). Başta delesyon olmak üzere distrofin genine ait moleküler defektler, ürünlenmesinden sorumlu olduğu distrofin proteininin ya hiç yapılamamasına ya az miktarda yapılmasına veya farklı yapıda bir proteinin ürünlenmesine neden olur. Bunun sonucu olarak da farklı şekil ve şiddette klinik tablolar ortaya çıkar (3,4).

Distrofin geninde yer alan birbirinden bağımsız yedi kurucu (promotör) bölge saptanmıştır. Bu promotörlerin her biri farklı hücrelere özgü, yedi farklı distrofin izoformu ürünler (3). Bu izoformlardan en önemlisi kas (M) distrofinidir (38). Kas distrofini dışındaki izoformlar ise beyin ve periferik sinirler başta olmak üzere tüm dokularda bulunur. Bu farklı izoformların kas dokusu yerine neden diğer dokularda olduğu ve bu dokulardaki fonksiyonları henüz bilinmemektedir (3).

Distrofinopatilerde görülen semptomların büyük bölümü kas distrofinin yokluğu veya eksikliğine bağlıdır (38).

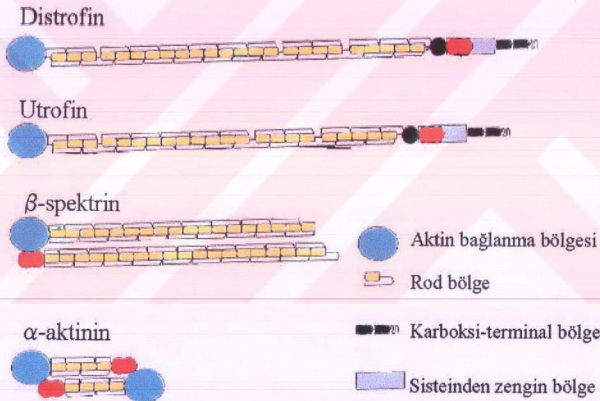
DİSTROFİNİN YAPISI

Distrofin, 427 kD ağırlığında ve 3685 aminoasitten oluşan sarkolemmal bir proteindir ve plazma membranının intrasellüler bölgesine yerleşmiştir (2). İskelet kası, kalp kası, düz kaslar, nöromusküler bileşke, retina ve beyinde yaygın şekilde bulunmakla birlikte esas olarak kaslarda yer alır. Molekülün bir ucu aktine, diğer ucu transmembran glukoproteine bağlanarak hücre iskeleti ile ekstrasellüler matriks arasındaki bağlantıyı sağlar (2). Bu bağlantılar yoluyla

kontraksiyon ve relaksasyon siklusu sırasında kas lifi membranının mekanik stabilitesini korumada rol oynadığı düşünülmektedir.

Distrofin; utrofin, spektrin ve α -aktinin gibi hücre iskelet ailesinin diğer proteinlerine benzer bir yapıya sahiptir ve birbirinden yapıca farklı dört bölge içerir (67).

1. Amino-Terminal Bölge: Subsarkolemmal F-Aktinin'e bağlanma bölgesi.
2. Rod Bölge: Bu bölge distrofinin en uzun kısmıdır ve molekülün elastikiyetinin korunması ile ilgili olduğu düşünülmektedir.
3. Sisteinden Zengin Bölge.
4. Karboksi-Terminal Bölge (Şekil 1).



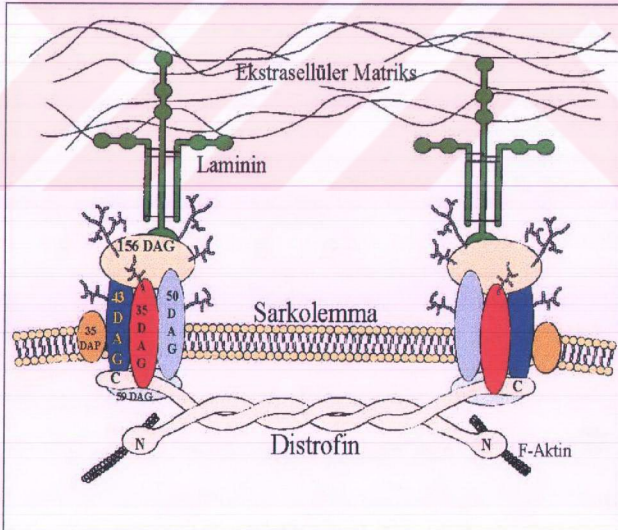
Şekil 1: Hücre iskelet proteinlerinin yapısı.

Sisteinden zengin bölge ile karboksi-terminal bölgesi membran boyunca uzanan Dystrophin Associated Glycoprotein (DAG)'lere bağlanır. Bu iki bölge sadece distrofin ve utrofinde bulunur. Hücre iskelet ailesine ait diğer proteinlerde bulunmaz (67).

Utrofin, 400 kD. ağırlığında ve aminoasit dizisi distrofinle % 83 oranında homolog olan bir proteindir. Ancak utrofin geni, distrofinden farklı

olarak 6. kromozomun uzun bacağında (6q24) yerleşmiştir (12,36). Utrofin daha çok fetal dokularda bulunur. Gebeliğin 17-18. haftasında maksimum düzeye ulaşır ve daha sonra giderek azalarak gebeliğin 26. haftasında oldukça düşük bir düzeye iner. Fetusta gebeliğin 6. haftasında ortaya çıkan dystrofin ise giderek artarak utrofinin yerini alır (12). Normal yetişkin bir kişinin kas dokusunda ise utrofin, myotendinöz ve nöromusküler bileşkedeki satelit hücrelerinde bulunur. Ayrıca endomiziyal kapillerler, diğer kan damarları, perinöriyumda ve intramusküler sinirlerin Schwann hücrelerinde de bulunur (12).

Dystrofinin hiçbir transmembran segmenti yoktur. Bununla birlikte Dystrofin Associated Protein (DAP) kompleksi aracılığı ile sıkı bir membran ilişkisine sahiptir. Bu kompleks altı protein içerir. Bu proteinler sırasıyla 59, 25, 50, 43, 35 ve 156 kD. ağırlığa sahiptirler. (23, 25). 59 ve 25 kD.'luk komponentler dışındakiler glikoprotein yapısındadırlar (Şekil 2).



Şekil 2: Dystrofinin hücre iskeleti ve membran proteinleri ile ilişkisi.

Distrofin, kas lifi sarkolemmasının her yerinde bulunur. DMD gibi distrofin yokluğu durumlarında DAG komponentlerinde %80-90 azalma görülür (25).

DİSTROFINİN DOKU DAĞILIMI

Distrofinin kas promotörü iskelet, kardiyak, düz kaslarda ve retinanın daha dış pleksiform tabakasında aktiftir (23). Distrofin, nöromusküler bileşke ve miyotendinöz bileşkeyi içerecek şekilde tüm sarkolemma boyunca bulunur (28). Nöromusküler bileşkenin postsinaptik katlanmalarında, distrofin katlanmanın çukur bölümüne sınırlıdır. Bu bölge yüksek oranda voltaja bağlı Na⁺ kanalı da içerir. Distrofin çok sayıda asetil kolin reseptörü içeren katlanmaların tepesinde bulunmaz. Bu gözlemler hem membran komponentlerinin aynı şekilde bir arada tutulmasında hem de bu bölgenin geniş membran katlanmasının sürdürülmesinde distrofinin bir rolü olduğunu düşündürür (23, 28).

Kas liflerinin, tendonun konnektif dokusu içine girdiği miyotendinöz bileşkede membran oldukça karmaşıktır. Bu bölgedeki distrofinin membran bütünlüğünün sürdürülmesinde bir işlevi var gibi görünmektedir (28).

Beyindeki immunohistokimyasal çalışmalar; distrofinin nöronlarda lokalize olduğunu buna karşın glia hücreleri ve miyelinde bulunmadığını göstermiştir (31). Özellikle serebral ve serebellar kortikal nöronlar ile hipokampusta oldukça yüksek miktarlarda distrofin bulunur (53). Bellek ve kognitif fonksiyonlarla ilişkili asıl yapı olan hipokampal formasyonda distrofinin varlığı ilgi çekicidir. Bu yapı bellek deposu ile ilişkilidir ve DMD'de kognitif tutulum bulguları da özellikle bellek fonksiyonlarında bir defisit olduğunu düşündürür. Ayrıca distrofin dentate girus ve ammon boynuzundaki hücrelerde de bulunur. Her iki yapı da kortikal enformasyon süreçleri ile ilişkilidir (31, 53).

Serebellumdaki purkinje hücrelerinde bulunan distrofin bu bölge distrofinin önemli bir rolü olduğunu akla getirmektedir (26). Serebellum hareket koordinasyonu ile ilişkilidir. Ancak DMD'de serebellar semptomlar görülmez. Bununla birlikte serebellum klasik şartlı reflekslerdeki farklı yanıtların öğrenilmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca serebellumun bellek fonksiyonlarında da işe karıştığı ve dil süreçlerine önemli bir non-motor katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu nedenle DMD'deki mental retardasyondaki verbal beceri bozukluğunun serebellar etkilenme ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir (26).

Birçok farklı tipteki nöronlarda distrofinin varlığı, bu nöronlarda distrofinin ortak bir fonksiyonu olduğunu düşündürür. Distrofin, kastakine benzer şekilde membran-hücre iskeleti etkileşimleri ile ilişkilidir ve hücre şeklinin sürdürülmesinde yapısal bir role sahiptir.

DİSTROFİNOPATİLER

TARİHÇE

Kasın progressif dejeneratif hastalıklarına ilişkin ilk çalışmalar 19. yüzyılın ortalarında özellikle Fransa ve Almanya'da başlamıştır. Aran (1850) ve Wachsmoth (1855) nörojenik hastalıkları miyopatik hastalıklardan ayırma ve hastalıkları sınıflama çabası ile hastaları yeniden gözden geçirmişlerdir (1). Genç erkeklerdeki progresif kaslar paralizilerin ilk açık tanımlamaları Meryon (1852) tarafından yapılmış ve bu hastalıkların, spinal kordun ön boynuzunda veya motor köklerde herhangi bir değişiklik olmaksızın bizzat kasın granüler dejenerasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (1,4). Daha sonra Duchenne bu hastalığın ilk kez tanımını yapmış ve biyopsi materyallerinde kas

dokusunun yerini yağ ve fibröz dokunun aldığını göstermiştir. Gowers (1868) ise hastalığın ayrıntılarını ortaya koymuş, sporadik olguların familial olgulardan daha az olduğunu, hastalığın anne tarafından kalıtıldığını söylemiş ve kendi adıyla anılan “Gowers Belirtisi”ni tanımlamıştır (23). Gowers ve Duchenne belirli kaslarda psödohipertrofik genişlemeler olduğunu vurgulamışlardır. Erb (1891), bu hastalığa “musküler distrofi” adını vermiştir (1,4). Daha sonraları Becker ve Keiner (1955) tarafından X’e bağlı musküler distrofilerin benign formu Duchenne tipinden ayrılmıştır (1). Musküler distrofilerin tanımı içine giren hastalıkların tanımlanması ve sınırlarının çizilmesinden sonra X’e bağlı musküler distrofileri daha iyi anlamamızı sağlayan son gelişmeler genetik ve CK testlerinin kullanımı ile 1960 ve 1970’lerde olmuştur. DMD’nin önlenmesine yönelik çalışmalar ise, X’e bağlı distrofilerin genetiği konusundaki araştırmaların artmasına yol açmıştır. Tipik DMD’li bazı kadınlarda, X kromozomlarından birinin kısa kolu üzerindeki Xp21 alanı ile ilgili translokasyonların keşfi, DMD geninin alanına ait ilk direkt kanıtları sağlamıştır. Bu da DMD ve BMD genlerinin olasılıkla allelik olduğunun anlaşılmasını sağlamıştır (16). Kingstom ve arkadaşları (1983) moleküler genetik bulguları kullanarak hem DMD ve hem de BMD’nin aynı Xp 21 kromozomal bölgesi ile ilişkili olduğunu göstermişler ve DMD ile BMD’nin, aynı gendeki mutasyonların yol açtığı yakın ilişkili allelik hastalıklar olduğunu ortaya koymuşlardır (4). Kunkel ve arkadaşları (1985) DMD ve BMD hastalarının Xp21 bölgesinde geniş genomik delesyonlar saptamışlardır (4). Monako ve arkadaşları 1986’da insan genomunda bilinen bu en geniş geni klonlamışlar ve bu genin ürünlediği proteine “distrofin” adını vermişlerdir (47). Bu gene ait bilgiler, genin lokalizasyonu, organizasyonu ve ürünlediği protein hakkında yeni anlayışlara yol açmıştır. Tanısal testlerdeki hızlı gelişme prenatal tanı ve taşıyıcıların saptanmasını sağlamıştır. Sonraki genetik çalışmalar ise genotip ve fenotip arasındaki ilişki hakkında yoğunlaşmıştır. DMD’ye ait hayvan modellerindeki distrofin mutasyonlarının incelenmesi bir çok çalışmanın ve tedavi stratejilerinin başlangıç noktası olmuştur.

EPİDEMİYOLOJİ

DMD insidansı; 3.300 erkek doğumda 1 olarak kabul edilmektedir (23). BMD'nin insidansı ise değişik serilerde 1/18.000 ile 1/31.000 erkek doğum şeklinde değişmektedir (14). DMD için prevalansın 2.9/100.000 olduğu saptanmıştır (23,60).

İngiltere'de Northern Health bölgesinde 1952 – 1965 arasında DMD insidansının 100.000 canlı erkekte 28,76 olduğu bildirilmiş ancak yine aynı bölgede 1972-1981 arasında yapılan bir çalışmada insidansın 100000'de 17.8'e düştüğü bulunmuştur (14). Bu düşüşün, taşıyıcıların saptanması ve genetik danışma hizmetlerinin yaygınlaşmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

KLİNİK

Distrofinopatilerin ilk tanımlanan klinik formu "Duchenne Musküler Distrofi"dir. Becker Musküler Distrofi ise uzun süre farklı bir hastalık olarak değerlendirilmiş ancak daha sonra moleküler genetik alanındaki ilerlemeler sayesinde her iki hastalığın Xp21-Distrofin genindeki patolojilerden kaynaklanan allelik varyantlar olduğu anlaşılmıştır (16). Daha sonraları bazı başka musküler distrofi tiplerinin de distrofin genindeki patolojiler ile ilgili olduğu görülmüştür. Klinik görünümüne göre önceleri ekstremiter-kuşak musküler distrofiler ve distal miyopatiler içinde incelenen bazı klinik varyantlar da günümüzde distrofinopatiler içinde değerlendirilmektedir.

Musküler distrofiler, ilk kez tanımlandıklarından genetik incelemeler rutin kullanıma girene dek klinik görünümüne göre sınıflandırılmışlardır. Ancak günümüzde bu hastalıklardaki genetik defektler ortaya kondukça musküler distrofilerin sınıflandırılması da genetik temele göre yapılmakta ve sınıflamadaki güçlükler de ortadan kalkmaktadır.

Distrofin geni ile ilgili olarak günümüzde beş fenotip tanımlanmış ve bunlar I'den V'e dek sıralanan şekilde "Distrofinopatiler" başlığı altında toplanmıştır (59, 64). Distrofinopatilerin fenotipleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

FENOTİP	KLİNİK ADI	KLİNİK
Distrofinopati I	Duchenne Musküler Distrofi (DMD)	5 yaş öncesi kas güçsüzlüğü, geç çocuklukta tekerlekli sandalye bağımlılığı, 3. dekada kadar ölüm.
Distrofinopati II	Becker Musküler Distrofi (BMD)	5 yaş sonrası başlayan kas güçsüzlüğü, en az 2., 3. dekada kadar ambulasyonun korunabilir, 40-70 yaşında ölüm.
Distrofinopati III	*Ekstremitte-kuşak distrofi varyantı, *Kuadriseps miyopati, *Distal miyopati varyantı, **'Rimmed' vakuol miyopati	Klinik tablo her bir varyantta değişkendir, genelde DMD ve BMD'ye göre klinik gidiş ılımlıdır.
Distrofinopati IV	İdiyopatik miyalji ve kramp varyantı	5 yaş sonrası başlangıç, güçsüzlük ya da atrofi gözlenmez.
Distrofinopati V	Dilate kardiyomiyopati	Kardiyak yetmezlik vardır, iskelet kas güçsüzlüğü gözlenmez

Tablo 1: Distrofinopatilerin sınıflaması (59)

DUCHENNE MUSKÜLER DİSTROFİ

Hastalığın ana klinik tablosu erken yaşta başlayan ve giderek ilerleyen kas güçsüzlüğüdür. DMD'li yenidoğanda serum kreatin kinaz (CK) düzeyi yüksektir ve kas biyopsisinde patolojik bulgular saptanabilir. Buna karşın bu dönemde klinik bulgu gözlenmez. Doğumda kilo ve boy normaldir. Ancak daha sonra büyüme yavaşlar ve birinci yılın sonunda normalin altına düşer. Ailelerin farkına vardığı ilk semptomlar; gelişmede gecikme, koşma ya da tırmanma güçlüğü, sık düşmeler ve baldır kaslarında genişlemedir (23).

Gövde, 3-6 yaşında lordotik hale gelir. Pelvis kuşak kasları öncelikli olarak tutulduğu için yerden kalkabilme güçtür ve çocuk elleri yardımı ile bacaklarına tırmanarak doğrulur. Buna Gowers belirtisi adı verilir (Şekil 3).

Yaş ilerledikçe baldır, gluteal, vastus lateralis, deltoid ve infraspinatus kaslarında genişleme görülür. Bu kas gruplarında hastalığın erken fazında gerçek hipertrofiye uğrayan kas liflerinin yerini daha sonra yağ ve bağ dokusu alır ki buna psödohipertrofi adı verilir. 6-11 yaşları arasında alt extremitte kaslarının gücü daha da azalır ve çocuklar 8 yaşlarında merdiven çıkma yeteneğini kaybetmeye başlarlar. Çoğu hasta 10 yaş civarında uzun bacak cihazına, 12 yaşında tekerlekli sandalyeye bağımlı hale gelir. Sıklıkla gözden kaçmasına rağmen boyun fleksörlerinde güçsüzlük hastalığın tüm evreleri boyunca görülür (1,4,23).

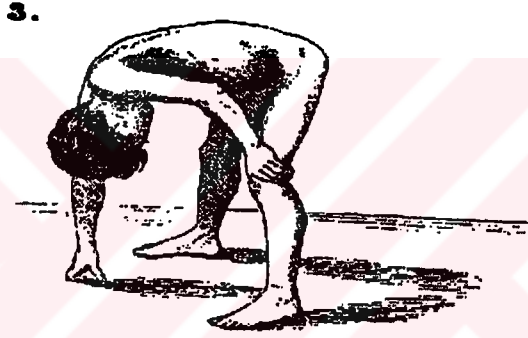
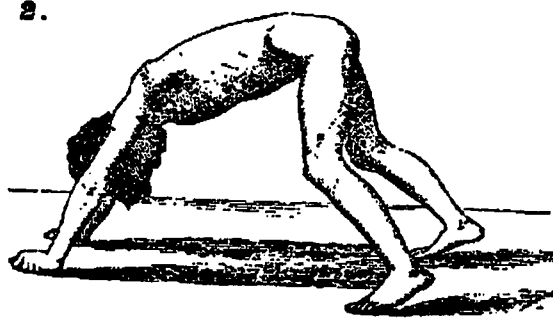
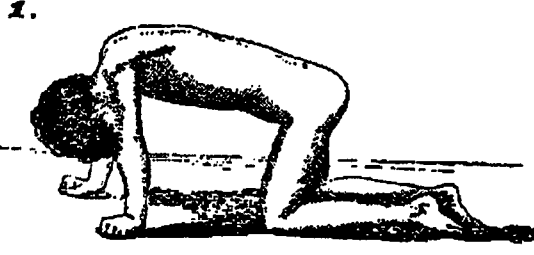
DMD'deki kas zayıflığının özel bir dağılım şekli vardır:

Boyun fleksörleri, biceps ve triceps kasları ile el bilek ekstensörleri yanısıra kuadriseps, tibialis anterior ve gastroknemius kasları en çok etkilenen kaslardır (Şekil4). Ayak bileği plantar fleksör ve invertör kas grupları çoğu zaman hastalığın son dönemlerine dek korunur. Levatör ani ve external anal sfinkter kasları ve ekstraoküler kaslar hastalığın ileri dönemlerinde bile tutulmaz (35).

Derin tendon refleksi güçsüz kaslarda hipoaktif olarak bulunur. Biseps, triseps ve patella refleksi 10 yaşın altındaki hastaların yarısında alınamamasına karşın, aşil refleksi ileri yaşlarda bile korunmuştur (22,23).

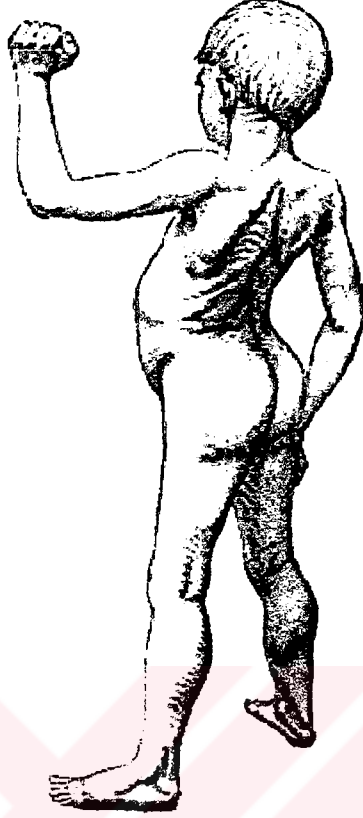
Hastalığın önemli klinik bulgularından biri de eklem kontraktürleridir. 6-10 yaş arasındaki hastaların %70'inde ayak bileği, kalça fleksörleri ve iliotibial bantlarda kontraktürler gelişir. İliotibial bant kontraktürleri kalça fleksiyonunu ciddi ölçüde sınırlar. Ayak bileği kontraktürleri ise çocuğun parmak uçlarında yürümesine neden olur (1,23).

Hayatın ikinci dekadında ve özellikle ambulasyon kaybolduktan sonra tüm ekstremite ve gövde kaslarında atrofi gelişir (23).



Sekil 3: Gowers belirtisi.

DMD'li çocukların çoğunda parasipinal kas güçsüzlüğü skolyoza yol açar. Artan skolyoz ve solunum kaslarındaki güçsüzlük solunum fonksiyonlarını bozar. Hastaların çoğu solunum desteği olmazsa genellikle 20 yaş civarında solunum yetmezliği ve pnömoni nedeniyle kaybedilir (27). Solunum fonksiyonlarının kısmen korunduğu hastalarda ise ölüm nedeni kardiyak sorunlardır (27,49).



Sekil 4: Duchenne Musküler Distrofi'de kas tutulumu.

BECKER MUSKÜLER DİSTROFİ (BMD)

İlk kez 1955 yılında Becker ve Kiener tarafından tanımlanan BMD pek çok yönden DMD'ye benzer. Uzun yıllar bu iki hastalığın genetik olarak farklı hastalıklar mı yoksa aynı hastalığın varyantları mı olduğu tartışılmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda her iki hastalığın allelik (tek gen defektinden kaynaklanan) hastalıklar olduğu gösterilmiştir (16).

BMD'de görülen kas güçsüzlüğü dağılımı DMD'dekine benzer. Yani simetrik, pogramif seyirli, pelvis kuşak ve uyluk kasları tutulumu ve ardından proksimal üst ekstremitte güçsüzlüğü gelişir. Ancak bu benzerliğe rağmen iki

hastalık arasında klinik olarak bazı farklar vardır. BMD'yi DMD'den ayıran en önemli iki bulgu BMD'nin daha geç yaşlarda başlaması ve progresyonunun daha yavaş olmasıdır (62). BMD'nin başlangıç yaşı çok değişken olmasına rağmen ilk bulgular genellikle 12 yaş civarında gözlenir. Hastaların %50'si 10 yaşında, %90'ı 20 yaşında semptomatik duruma gelir. Yürüyüş, 15-16 yaşlarına dek korunur ve hastalar 4.-5. dekada kadar yaşayabilirler . Ölüm yaşının 28-89 arasında değiştiği bildirilmektedir. Eklem kontraktürleri DMD'ye oranla daha az görülür ve daha hafiftir. Skolyoz da BMD'de daha nadir olarak görülür (22,23).

	DMD	BMD
Başlangıç Yaşı	%88 < 5.3 yaş	%88 > 5.3 yaş
Sandalyeye Bağlanma Yaşı	%96 < 12.4 yaş	%96 > 12.4 yaş
Ölüm	%96 < 21.1 yaş	%93.7 > 21.1 yaş

Tablo 2: DMD ve BMD'nin Klinik Farkları (22)

DİĞER ORGAN SİSTEMLERİNİN TUTULUŞU

Kardiyak Tutulum

Duchenne Musküler Distrofi: Normal kardiyak kasta bulunan distrofinin fonksiyonu, iskelet kasındakine benzer şekilde kas lifinin kontraksiyon-relaksasyon siklusu sırasında sarkolemanın bütünlüğünü korumaktır. Distrofin eksikliğinin yol açtığı kardiyak lif nekrozu, DMD'de görülen kardiyomiyopatiden sorumludur. Bunun dışında bu hastalarda görülen kardiyak iletim bozukluğuna ise purkinje ileti sistemindeki distrofin eksikliğinin neden olduğu düşünülmektedir (8).

Kalp kasına ait otopsi çalışmalarında; en belirgin dejeneratif değişikliklerin, posterobazal ve sol ventrikül lateral duvarına komşu bölgedeki

kas liflerinde görüldüğü ve bu bölgelerde miyokardiyal fibrozis izlendiği bildirilmiştir (58).

İleti sisteminde de değişiklikler gözlenir. Hastaların %90 kadarında elektrokardiyografi (EKG)'de değişiklikler görülür. Bu EKG değişiklikleri kardiyak tutulumun ilk göstergesi olabilir (58).

Ekokardiyografi kalp kasının kasılabilirliğinin değerlendirilmesini sağlar. DMD'li hastaların ekokardiyografik incelemelerinde; posterobazal ventrikül duvarının hipokinezisi sıklıkla görülür. Ventriküllerin iç boyutu genellikle normalden küçüktür. Fiziksel gelişim geriliği, hareketsizlik ya da miyokardiyal fibrozis bu duruma yol açan başlıca nedenlerdir. Kardiyak genişleme sık görülmez. (18).

EKG'de ve ekokardiyografide saptanan bu anormalliklere rağmen hastaların çoğunda kardiyak semptom gözlenmez. Konjestif kalp yetmezliği ve yaşamı tehdit eden kardiyak aritmiler genellikle hastalığın ileri evrelerinde ortaya çıkar. DMD'deki iskelet kas yıkımının hızla ilerlemesine rağmen, EKG ve EKO bulgularının yavaş progresyon göstermesi hastalığın ilginç yönlerinden biridir. Buna karşın hastaların %10-40 kadarı kardiyak yetmezlik nedeniyle ex olur (23).

Becker Musküler Distrofi: BMD'de gözlenen kardiyomiyopatinin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Kardiyomiyopati hayvanlarda yapılan çalışmalar, distrofin ya da DAG'daki anormalliklerin kardiyak yetmezliğe yol açabileceğini düşündürür. BMD'li hastaların kalp kaslarında yapılan histolojik çalışmalarda miyosit hipertrofisi, kas nekrozu ve fibrozis gözlenmiştir (44). DMD'deki kardiyak tutulum oranı yaşla artmasına rağmen, BMD'li hastalarda kas güçsüzlüğünün şiddeti ya da hastalığın gidişi ile uyumlu olmayan ciddi kardiyomiyopatiler görülebilir. Hatta kardiyak tutulum hastalığın ilk bulgusu olarak karşımıza çıkabilir (8). DMD'li hastalarda ölüm genellikle solunum yetmezliği nedeni ile olur. Buna karşın, BMD'li hastaların büyük bölümü kardiyak yetmezlik nedeniyle kaybedilir. Ayrıca hafif kas güçsüzlüğü olan BMD'li hastalarda bile ağır kalp yetmezliği görülebilmektedir (8,44).

Gastrointestinal Sistem (GİS)

DMD'li hastalarda yutma güçlüğü, orafaringeal, özofajiyal ve gastrik disfonksiyon görülebilmemesine rağmen GİS tutulumunun prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca DMD'li hastalarda abdominal ağrı, distansiyon ve ani kusma epizodundan oluşan akut gastrik dilatasyon sendromu gözlenebilir ve bu tablo nadiren ölüme yol açabilir. GİS bulgularının distrofin eksikliğinin yol açtığı düz kas dejenerasyonu sonucunda geliştiği düşünülmektedir (23).

Santral Sinir Sistemi (SSS)

DMD'de ana klinik bulgu olan kas güçsüzlüğüne bazı hastalarda mental retardasyonun da eşlik edebildiği uzun yıllardan beri bilinmektedir. Ancak mental retardasyonun nedeni ve mental retardasyonla moleküler bulgular arasında ilişki olup olmadığı sorusu halen hastalığın en çok ilgi çeken ve tartışılan yönlerinden biridir.

DMD'li hastaların %30-50'sinde orta ya da ciddi derecede mental retardasyon görülür ve ortalama Intelligence Quotient (IQ) normalin 1-2 standart sapma aşağısındadır (11,56). DMD'li kardeşlerin IQ düzeyleri birbirine yakındır. Fakat etkilenmemiş kardeşler normal zekaya sahiptir (11). Performans zekadan çok verbal yetiler ve hafıza fonksiyonları etkilenir (10). Hastaların % 67-100'ünde konuşmanın geciktiği bildirilmiştir. Zaman zaman DMD taşıyıcılarında da entellektüel bozukluklar görülebilmektedir (11).

Mental retarde DMD'li hastaların beyin görüntüleme çalışmaları, zeka etkilenmesini açıklamada başarısız kalmıştır. Yoshioka ve arkadaşları (1980) 30 DMD'li çocuğun bilgisayarlı beyin tomografisini inceledikleri bir çalışmada, hastaların %67'sinde yaşla artan hafif serebral atrofi olduğunu, ancak serebral atrofi ve IQ düzeyi arasında herhangi bir korelasyon saptamadıklarını bildirmişlerdir (71). Septien ve arkadaşları (1991) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 10 yaşın üzerindeki tüm DMD'li çocuklarda bir

miktar kortikal atrofi olduğu saptanmıştır (61). Fosfor-31 manyetik rezonans spektroskopide, DMD'li çocuklarda beyinde metabolit oranlarında değişiklikler saptanmış, ancak bu değişiklikler ile IQ düzeyleri arasında bir korelasyon kurulamamıştır (65).

DMD'li hasta beyinlerinin postmortem mikroskopik incelemelerinde; farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda beyinde histopatolojik herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Buna karşın bazı çalışmalarda ise mental etkilenmesi olan DMD'li hastaların beyinlerinde dentritik gelişim bozukluğu, Purkinje hücre kaybı, pakigiri ve gliozis olduğu bildirilmiştir (20,34).

DMD'de gözlenen mental retardasyonun nedenini açıklayabilmek için bir çok hipotez ortaya atılmıştır. Bazı yazarların söylediğinin tersine, DMD'de gözlenen mental anormalliklerin, yalnızca fiziksel dizabiliteye, motor gelişimdeki geriliğe ve bunların sonucunda gelişen eğitim problemlerine bağlı olmadığı gösterilmiştir. Çünkü bu hastalarda mental retardasyon, erken yaşlarda bile saptanabilmekte ve kas güçsüzlüğünün ilerlemesi ile progresyon göstermemektedir. Ayrıca benzer fiziksel dizabiliteye sahip spinal musküler atrofil hastalarda mental retardasyon görülmez (10).

Hoffman ve arkadaşları damar duvarında yer alan düz kas hücrelerindeki distrofin eksikliğinin fetal beyinde vasküler yetmezliğe yol açabileceğini ve bu yetersizlik sonucunda nonprogresif mental retardasyon ortaya çıkabileceği fikrini ortaya atmışlardır (33). Ancak bu hipotez, mental retarde DMD'li bir hastanın, diğer DMD'li kardeşlerinde de görülen mental retardasyonun varlığını açıklayamamaktadır.

Yapılan bir çok çalışmada DMD gen ürünlerinin kas ve beyinde aynı olmadığı, genin 5 ucunun beyin ve kasta farklı olduğu ve her iki dokunun ilk ekzonlarının dokuya spesifik olduğu gösterilmiştir (61). Yani beyinde kastan bağımsız bir distrofin gen ekspresyonu söz konusudur. DMD ile ilişkili mental reterdasyonun, beyin distrofin ekspresyonundaki anormalliklerin ve beyin distrofin lokusundaki mutasyonların sonucunda olduğu düşünülmektedir. Distrofin, serebellum ve hipokampal formasyon gibi kognitif fonksiyon ve

öğrenme ile ilişkili alanlarda da bulunmaktadır. Bu yerleşim, DMD’de görülen mental bulguları ve verbal IQ’nun sıklıkla neden etkilendiğini açıklayabilir (61,31).

BMD’de mental etkilenme DMD’ye oranla daha ender görülür (53). BMD’de defektif distrofin yapımına yol açan out-of-frame mutasyonların olduğu, buna karşın DMD’de distrofinin hiç yapılamamasına yol açan in-frame mutasyonların olduğu ve bu farklılık nedeniyle BMD’de mental retardasyonun daha az görüldüğü şeklinde bir düşünce öne sürülmüştür. Ancak DMD’li hastalarda, kas güçsüzlüğünün şiddeti ile mental retardasyon arasında direkt bir ilişki kurulamaması bu hipoteze karşıt bir görüş olarak ileri sürülmektedir (53).

LABORATUVAR BULGULARI

Biyokimyasal Bulgular

Hem DMD hem BMD’de serumda kreatin kinaz (CK), difosfofruktoz aldolaz, pirüvat kinaz, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), glukoz fosfat izomeraz, laktat dehidrogenaz (LDH), karbonik anhidraz 3 ve enolaz miktarı artar . Ancak serum CK düzeyindeki artış en belirgin ve en ısrarlı laboratuvar bulgusudur. Ayrıca CK, yalnızca iskelet, kalp ve beyin dokusunda önemli miktarlarda bulunur. Bu nedenle serum CK düzeyi ölçümü tanı için kullanılan en güvenilir testdir. DMD’de serum CK aktivitesi yaşamın ilk 3 yılı boyunca artar, 3 yaş civarında pik yapar (normalin 50-100 katı) ve daha sonra kas kitlesindeki azalma nedeniyle her yıl %20 oranında bir düşüş gösterir. Hastalığın çok ileri evreleri hariç herhangi bir yaşta serum CK düzeyi normalin 10 katından az ise DMD tanısı koymaktan kaçınmak gerekir. BMD de ise serum CK düzeyi normalin 20-100 katı kadar yükselir (23).

Elektromiyografi (EMG)

Kısa süreli, düşük amplitüdü, polifazik motor ünit potansiyeller (MÜP) EMG'de saptanabilen bulgulardır. Sıklıkla incelenen kaslardan erken enterferans örneği elde edilir. Ancak ileri derecede atrofik kaslarda bu tipik miyojenik MÜP değişiklikleri elde edilemeyebilir. Ayrıca yukarıda sayılan EMG bulguları distrofinopatiler için spesifik değildir. Primer kas lifi tutuluşu ile giden tüm hastalıklarda benzer bulgular elde edilir. Bu nedenle EMG kesin tanı koymada değil, kaslar distrofileri spinal kaslar atrofiler, inklüzyon cisimciği miyoziti ve miyotonik distrofi gibi hastalıklardan ayırmada kullanılabilir (23).

Kas Biyopsi Bulguları

Distrofinopatili hastaların histokimyasal ve enzim boyaları ile hazırlanan kas biyopsi örneklerinin ışık mikroskopisi ile yapılan incelemelerinde izlenen değişiklikler diğer progressif kas distrofileri hastalarda görülenlere benzer . Bu değişiklikler:

*Küçük ve büyük çaplı liflerin birlikte olduğu hafiften ileri dereceye dek değişebilen lif çapı farklılığı.

*Normalde sarkolemmaya yakın yerleşimde olması gereken nükleusların merkeze kayması şeklinde görülen merkezi nükleus sayısında artış.

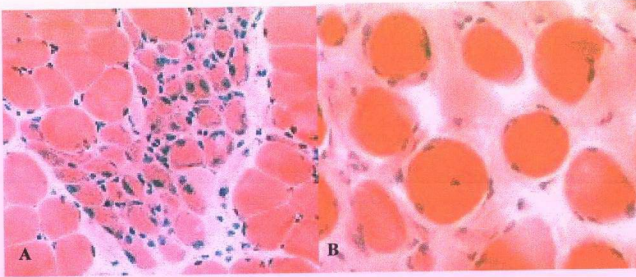
*Kas liflerinde yarıma (splitting).

*Endomiziyal bağ dokusunda değişik derecelerde artış.

*Hiperkontrakte liflerin görülmesi.

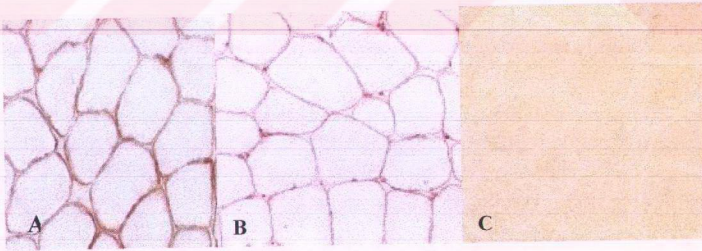
*Küçük gruplar halinde bozofilik rejener ve nekrotik lifler.

* Endomiziyal bağ dokusunda mononükleer hücrelerin varlığıdır (39).



Sekil 5: Grup nekrozu (A) ve endomiziyal bağ dokusu artışı (B).

Bu histopatolojik bulguların saptandığı hastalarda distrofine yönelik immunohistokimyasal boyalarla hazırlanan preparatlarda kas liflerinin subsarkolemmal bölgesinde bulunması gereken distrofine ait herhangi bir boyanmanın olmaması DMD, normalden daha az bir boyanma ise BMD tanısı koydurur (1,4,16).



Şekil 6: Normal (A), BMD (B) ve DMD (C)'li kas biyopsi örnekleri.

DİSTROFİN EKSİKLİĞİNİN PATOFİZYOLOJİSİ

Distrofinin kesin fonksiyonu, distrofinopatilerdeki öncü patolojik olayların dizisi ve kas lifi nekroz paterni henüz tam olarak anlayamamıştır. Distrofin eksikliğinin yol açtığı statik bir membran defektine karşın, klinik tablonun neden progresif seyirli olduğu, distrofin eksikliği doğumdan itibaren olmasına rağmen neden etkilenen çocukların yaşamlarının ilk 3-4 yılında normal göründükleri ve distrofin eksikliği olan tüm hayvanların benzer klinik gidiş göstermedikleri gibi sorular, distrofin eksikliğinin hastalığın ortaya çıkışı için yeterli bir faktör olmadığını, bu eksikliğin yaşa ve türlere bağlı olarak patofizyolojik bir kompleksi başlattığını düşündürmektedir (28).

Farklı türlerde yapılan çalışmalar, distrofin yokluğuna kasın verdiği yanıtın erken dönemde oldukça benzer olduğunu ortaya koymuştur. Bu değişiklikler yüksek CK düzeyi, grup miyofibril nekrozu, kas hipertrofisi ve lif çap farklılıklarıdır. Kedi ve sıçan modellerinde hastalık bu aşamada kalırken, insan ve köpeklerde progresif kas güçsüzlüğü ortaya çıkmaktadır. Distrofin eksikliğinin bu farklı sonuçlarına dayanılarak, DMD'nin iki fazlı bir hastalık olduğu düşünülebilir. Distrofin eksikliğinin primer hücresel sonuçları tüm türlerde ortaktır ve hastalığın nekrotik/hipertrofik dönemini oluşturur (Faz I). Ancak bazen membran defekti olasılıkla enflamatuar hücreler tarafından düzenlenen yeni bir olaylar zincirini başlatabilir. Kas dokusu, yineleyen dejenerasyon/rejenerasyon siklusu sırasında homeostazını sürdüremezse, fizyolojik tamir mekanizmaları patolojik hale döner (Faz II). Bu evrede hücrelerin rejenerasyon kapasitesi hem tüketilir hem inhibe edilir (28).

Faz I: Distrofin eksikliğinin erken sonuçları: Sızıntılı Membran Teorisi:

Mohni ve Engel (1975), DMD'li çocukların kas liflerinde plazma membran defektleri (delta lezyonları) olduğunu bildirmişlerdir. Distrofin eksikliği nedeni ile oluşan bu lezyonlar, miyofibrillerin içine ve miyofibrillerden dışarıya intrasellüler ve/veya ekstrasellüler materyallerin düzensiz geçişine yol açarak membran stabilitesini bozmaktadır (28,29,46).

Miyofibriller İçine Sızma:

Delta lezyonlarının, myofibriller içine ekstrasellüler materyalin geçişine izin verdiği anlaşılmıştır. Özellikle miyofibrillerin içine kalsiyum girişinin, patogeneizde önemli rol oynadığı dşinlmektedir. DMD ve BMD'de bir çok kas lifinin aşırı şekilde artmış kalsiyum içerdiği saptanmıştır. Kalsiyum artışı da muhtemelen proteazların aktivasyonu yolu ile kas liflerinin ölümüne yol açmaktadır.

Miyofibrillerden Dışarı Sızma:

Kreatinin kinaz (CK) ve tüm kas spesifik enzimlerinin hastaların serumunda yüksek miktarda saptanması intrasellüler içeriğin dışa sızdığını düşündürmektedir (28).

Faz II: Distrofin Eksikliğinin Uzun Süreli Sonuçları

I. faz tüm canlılarda benzer olmasına rağmen yaş ilerlemesi ile köpek ve insanlarda klinik seyir giderek kötüleşir ve II. faza geçerler. Kedi ve fareler ise I. fazda kalırlar. İnsan ve köpeklerdeki klinik ktleme histopatolojik değişiklikler ile direkt olarak koreledir. Bu fazda göze çarpan  histopatolojik özellik; progresif fibrozis, rejenerasyonun yapılamaz hale gelişi ve progresif lif yitimidir. Bu değişiklikler de kas gszlğine ve kas yıkımına yol açar. Kedi ve sıçanlarda olay I. aşamada kalırken, insanlarda niye II. faza geçtiği bilinmemektedir. (28)

Gorospe ve arkadaşları sitoplazmik içeriklerin ekstrasellüler bölgeye sızmasının mikroçevrenin değişmesine yol açtığını, bu değişikliklerin de kas hcreti tarafından doku hasarı olarak algılanıp yara tamir mekanizmalarının aktive olduğunu belirtmişlerdir (28). Gerçekten de yara tamiri ile ilgili hücreler (polimorf nüveli lökositler, mast hücreleri, makrofajlar, lenfositler ve fibroblastlar) DMD'nin patofizyolojisinde çok önemli yer tutarlar (43).

DMD'lı hastaların perimisial ve endomisial alanlarında saptanabilen enflamatuar hücrelerin büyük bölümü makrofajlar ve CD₄ T helper / inducer T hücreleridir (43). Özellikle Mast hücrelerindeki artış önemlidir. Çünkü bu artış klinik şiddet ve histopatolojik fibrozis ile koreledir. Ayrıca distrofin içeriğinin normal bulunduğu diğer miyopatilerde genellikle mast hücre içeriğinde artış

saptanmaz. Mast hücrelerinin yüksek oranda grup nekrozu alanlarında gözlenmesi , bu hücrelerinin miyofibrilleri nekroza götüren proteaz, sitotoksik sitokinler ve fosfolipaz gibi mediatörler salgıladıklarını düşündürür. Ancak distrofin eksikliğinde görülen mast hücre artışının neden mi sonuç mu olduğu bilinmemektedir (29).

Growth faktörler ve sitokinlerin de progresif fibrozisin patogenezinde önemli olabileceği gösterilmiştir. Mineo ve ark. DMD'li kas örneklerinin sarkolemmaya hemen bitişik bölgede ve ekstrasellüler matrikste çok yüksek transforming growth faktör-beta1 immunreaktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Transforming growth faktör-beta1, endomisial fibrozisin olduğu diğer miyopatilerde gözlenmemiştir (46). Ayrıca temel fibroblast growth faktörün de DMD'deki aşırı fibrozisin patogenezinde belirgin bir rol oynadığı düşünülmektedir (17).

Distroglikan ve sarkoglikan kompleksler de distrofinopatilerde sekonder eksiklik gösterir. Bu eksikliklerin, subsarkolemmal hücre iskeleti ve ekstrasellüler matriks arasındaki bağı kopararak DMD patogenezinde rol oynadığı sanılmaktadır. Çünkü kas nekrozuna yol açan diğer nöromusküler hastalıklarda bu proteinlerde azalma saptanmamıştır (42).

DİSTROFİN GENİ VE DİSTROFİNİN DOKU DAĞILIMI

X kromozomunun kısa bacağında yer alan (Xp21) distrofin geni, insanda bugüne dek saptanmış en büyük gendir ve tüm X kromozomunun %1-1.5'ünü oluşturur. Distrofin geninin büyüklüğü 2.4 megabaz kadardır. Ancak genin yalnızca % 0.6'sı distrofin mRNA'sını şifreler. Genin şifreleme ile ilgili dizilerine ekzon adı verilir. Şifreleme ile ilgili olmayan bölümler ise intron adını alır. Distrofin geninde intronlar genin % 99.4'ünü oluşturur. Distrofin geni intronlar tarafından 79 ekzona bölünmüştür (2).

Distrofin geninde birbirinden bağımsız en az yedi promotör saptanmıştır(3). Her bir promotör hücreye spesifiktir ve distrofinin 7 farklı izoformu ile ilgilidir. Bu promotörlerin 3'ü, kortikal (C), kas (M) ve purkinje

(P) olarak adlandırılır ve bunlar proteinin tüm uzunluğunu içeren distrofin formlarını kodlar. C promotörü kortikal nöronlarda ve hipokampusun bir bölümünde, P promotörü serebellar purkinje hücrelerinde bulunur. M promotörü ise tüm vücut kaslarında yer alır (2,3). Ancak beyinde bazı glial hücrelerde de düşük düzeyde saptanmıştır. Distrofinin diğer 4 izoformu (apodistrofinler) ise distrofinin uzunluğunun tümüne sahip değildir. Daha kısa yapıdaki bu distrofinler retinal (R) , beyin-3 (B3) Schwan hücre (S) ve genel (G) promotörler tarafından yönetilir ve sırasıyla 260, 140, 116 ve 71 kilodaltonluk proteinler ürünlerler (3,4). R tipi distrofin retinada, S tipi distrofin ise yalnızca periferal sinirlerde yer alır. G distrofin kas dışındaki tüm dokularda, ve en çok da beyinde bulunan izoformdur. Bu izoform, beyinde nöronlarda bulunur ve başlıca sinaptik plazma membranında yerleşmiştir. G distrofininin normal nöronal fonksiyonu korumada rol oynadığı düşünülmektedir. B3 distrofin izoformunun ise nöropil ve glia hücrelerine lokalize olduğu sanılmaktadır. Distrofinlerin farklı formlarının neden en yüksek oranda kasta değil de beyinde buldukları bilinmemektedir (3).

Farklı promotörler tarafından oluşturulan distrofin izoformları ve buldukları bölgeler Tablo 3’de gösterilmiştir.

DİSTROFİN İZOFORMU	EKSPRESYON YERİ
427 kD Kas (M)	İskelet, Kardiyak ve Düz Kas
427 kD Kortikal (C)	Kortikal Nöronlar, Hipokampus, Retina
427 kD Purkinje Hücre (P)	Serebellar Purkinje Hücreleri
Dp 260 Retinal (R)	Retina, Az Miktarda Beyin ve Kardiyak Kas
Dp 140 Beyin 3 (B3)	Glial Hücreler
Dp 116 Schwan Hücre (S)	Periferal Sinir, Schwan Hücreleri, Bazı Glial Hücre.
Dp 71 Genel (G)	Kas Haricinde Tüm dokularda

Tablo 3: Distrofin izoformları ve hücre lokalizasyonları.

Distrofinopatilerde en çok görülen moleküler defekt delesyondur. Delesyonlar DMD'de mutasyonların %60-65'inden, BMD'de ise daha fazlasından sorumludur (30). DMD'de saptanan delesyonlar gen içinde rasgele bir dağılım göstermezler. Özellikle iki bölgede toplanma eğilimindedir. En sık görüldüklere yer genin orta kısmıdır. İkinci sıklıkta ise genin 5' ucuna yakın bölümünde yoğunlaşma gösterirler (48). Distrofin geninde delesyona eğilimli sıcak bölgelerin olduğunu düşündüren bu lokal dağılımın nedeni bilinmemektedir. DMD'de hastaların %6 kadarında mutasyonun nedeni parsiyel gen duplikasyonlarıdır. %30-35 vakada ise delesyon ya da duplikasyon saptanamaz. Nokta mutasyonları ya da mikrodelesyonların bu vakalarda hastalığın nedeni olduğu düşünülmektedir (4,51). BMD'li hastaların %85'inde delesyon ve duplikasyon, %15'inde ise nokta mutasyonlar olduğu gösterilmiştir (48).

Delesyonlar, ya distrofin cDNA probu kullanılarak Southern blot analiz yöntemi ile, ya da genin delesyona eğilimli exonlarını büyütme için oluşturulan primerler (Polymerase chain reaction - PCR) kullanılarak saptanabilir (7, 23). PCR tekniği ile genin spesifik bölgeleri bir milyon kat büyütülebilir. Delesyonların büyük bölümünün distrofin geninin iki bölgesine lokalize olması, PCR ile 79 exonun sadece bir bölümünün incelenmesini yeterli kılar. Gerçekten yalnızca seçilmiş 18 exonun incelenmesi ile delesyonların %98'i gösterilebilir. Bu nedenle günümüzde PCR ile delesyonların araştırılması, distrofinopatilerin moleküler tanısında ilk adım olarak kullanılmaktadır (48). Distrofin geninin çok büyük olması küçük mutasyonların saptanmasını teknik olarak güçleştirir (2). Parsiyel gen duplikasyonları quantitative Southern blot analizi ile saptanabilir (23, 48).

Gen delesyonu saptanan hastaların ailelerinde, sonraki kuşaklar için prenatal tanı % 100 doğrulukla yapılabilmektedir. Bu nedenle, DMD'li bir hastada delesyonun gösterilmesi, bu ailede taşıyıcıların saptanması ve prenatal tanı için çok önemlidir.

Delesyon ve duplikasyonun büyüklüğü ile klinik fenotip arasında korelasyon olup olmadığı bugüne dek bir çok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Daha geniş delesyona sahip hastaların klinik bulgularının da daha ağır olacağı düşünülmüş ancak bu tür bir ilişki kurulamamıştır. Yapılan çalışmalarda; BMD'li bazı hastalarda distrofin proteinini kodlayan dizilerin % 50'sini ortadan kaldıran delesyonlar saptanmışken, DMD'li bazı hastalarda ise sadece çok küçük delesyonlar olduğu görülmüştür (4,48). Bu beklenmedik bulgular, Monaco ve ark .tarafından "Reading Frame" teorisi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Nükleotid dizilerini doğru üçlülere ayıracak sıralamaya open reading frame denir. Frame shift (şifre kayması) ya da out-frame olarak adlandırılan mutasyonlar genin kodlayıcı bölgesine bir veya birkaç nükleotid girmesi veya bu bölgeden nükleotid kaybolması şeklinde olan mutasyonlardır. Bu mutasyonları izleyen bütün kodonlardaki üçlü nükleotid dizileri değişir ve böylece bütün aminoasitlerin dizilimi değişir. Bazı durumlarda ise frame shift mutasyonlar erken bir durducu kodon ortaya çıkararak protein sentezinin erken sonlanmasına neden olur, yani open reading frame sürdürülemez. Frame shift mutasyonlar tipik olarak karboksi terminalinin eksik olduğu distrofin molekülünün sentezi ile sonuçlanır (48). Bu da distrofinin DAP yolu ile membrana bağlanmasında bozulma, ciddi distrofin eksikliği ve DMD fenotipine yol açar. Nonframe shift delesyon ya da in-frame delesyon ise kodonları bölmeden ortadan kaldırır, distrofin geninde sonradan gelen kod sırasını bozmaz. Karboksi terminalinin korunduğu, yarı fonksiyonel defektif distrofin meydana gelir. Bu da kliniğe BMD fenotipi olarak yansır (48).

DMD'de delesyonlar exon 3-30 (genin 5' ucu) ve exon 44-55 (genin 3' bölgesi) arasında toplanmıştır. Ciddi BMD'de 1-12. exonda, klasik BMD'de 12-60. exonda, hafif BMD'de 64-72. exonda delesyon daha sık saptanmıştır (23). İlk kas exonu ve kas promoter bölgesinin delesyonu kas güçsüzlüğünün hiç olmadığı ya da çok az olduğu ciddi dilate kardiyomyopati ile sonuçlanır (70).

KALITIM

X kromozomunun kısa kolunun 21. bandında (Xp21) mutasyon meydana geldiği zaman DMD ya da BMD fenotipi ortaya çıkar. Yani DMD ve BMD X'e bağılı resesif olarak geçiş gösterir. Bu nedenle hastaların hemen hemen tümü erkektir ve kadınlar taşıyıcıdır (30, 48). Nadiren Turner Sendromu (X0), Turner Mozaik Sendromu (X/ XX, X/XX/XXX), X kromozomunun yapısal anormalliği ya da X otozomal translokasyonu bulunan kadınlarda da hastalık görülebilir (23, 72).

DMD 10^{-4} mutasyon hızına sahiptir. Her gün 8×10^7 sperm üretimi yapan normal bir erkek her 10-11 saniyede DMD geni içeren yeni mutasyonlu bir sperm üretir. DMD olgularının 1/3'ü X kromozomundaki spontan mutasyonlara bağılı yeni mutasyonlar sonucu oluşur (3,4). Yeni mutasyonlar sıklıkla embriyonik gelişimin erken evrelerinde olur ve germ line mozaisizmle sonuçlanır. (3). Olguların 2/3'ü ise kalıtsaldır, yani hastalık taşıyıcı annelerden aktarılır. DMD genetik olarak letal bir hastalık olmasına karşın, BMD'li erkeklerin üreme çağına kadar yaşayabilmeleri ve üreme yeteneklerinin oldukça yüksek olması nedeniyle (normalin % 70'i) kendi kızlarına da geni geçirebilirler. Bu nedenle BMD genleri yüksek oranda kalıtsaldır ve vakaların sadece %10 – 15'i yeni mutasyonlar sonucu oluşur. (48)

OLGULAR –YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Kas Hastalıkları Polikliniği, DEÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nörolojisi Bölümü'nde ve Behçet Uz Çocuk Hastanesi'nde klinik olarak Distrofinopati tanısı ile izlenen ve 24'ü akraba olmayan 28 Duchenne Musküler Distrofi ve 9'u akraba olmayan 13 Becker Musküler Distrofi olgusu olmak üzere toplam 41 hasta çalışmaya alındı.

Tüm olguların anamnezleri tekrar değerlendirildi. Hastalığın başlangıç yaşı, başlangıç semptomları, yürüme yeteneğini kaybetme yaşı araştırıldı. Tüm hastaların soygeçmişleri ayrıntılı olarak sorgulandı ve pedigrileri çizildi. Nörolojik, kardiyak bakıları ve mental incelemeleri yapıldı. Serum kas enzim düzeyleri belirlendi. Hastaların tümünün EMG'leri primer kas lifi tutulumu ile uyumluydu. Tanı; anamnez, klinik bulgular, serum CK ve LDH düzeyleri ile EMG bulgularına dayanılarak konuldu. Beş yaşından önce klinik bulguların başladığı ve 12 yaşın altında yürüme yeteneğini kaybeden hastalar DMD, beş yaşından sonra başlayan, progresyonu yavaş olan ve 15 yaşın üzerinde yürüyebilen hastalar BMD olarak kabul edildi.

Hastaların tümünde genetik inceleme yapıldı. Distrofin geninde delesyon saptanan hastalar distrofinopati olarak değerlendirildi ve bu hastalara kas biyopsisi uygulanmadı. Herhangi bir delesyon saptanmayan ya da tek ekzon delesyonu saptanan hastalarda distrofinopati tanısının doğrulanabilmesi için kas biyopsisi yapıldı ve alınan materyal immunohistokimyasal olarak distrofin boyaları ile boyanarak kas dokusunda distrofinin varlığı değerlendirildi. Delesyon saptanmayan ancak klinik olarak DMD düşünülen 1 hasta ile BMD düşünülen 1 hastanın kas biyopsisinde distrofin normal olarak saptanması ile bu hastalarda distrofinopati tanısı dışlandı ve bu iki hasta çalışmadan çıkarıldı. Ayrıca delesyonu saptanmayan üç hastada kas biyopsisi yapılamadı.

GENETİK İNCELEME

DNA İZOLASYONU

EDTA'lı tüplere alınan 10 ml kan 50 ml'lik plastik tüplere aktarıldıktan sonra üzerine 40 ml soğuk distile su eklenerek hızlı bir şekilde 2-3 dakika çalkalandı. 10 dakika 3500 rpm'de santirfüj edilerek eritrositlerinden arındırıldı. Aynı işlem 25 ml soğuk distile su ilavesi ile tekrarlandı. Örneklerin üzerine 3 ml Nuclei Lizis (10 mM Tris, 400 mM NaCl 2, mM Na₂ EDTA, pH: 8.2) tamponu eklenerek örnekler resüspande edildi. %10'luk SDS, proteinaz K (2 mg/ml) eklenip 1 gece 37°C de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 1 ml satüre amonyum asetat ilavesi ile 15 dakika oda ısısında bekletildi ve 4500 rpm de hücreler çöktürüldü. Örneklerden toplanan süpernatana 2 katı oranında oda ısısındaki absolü etanol eklenerek DNA'lar çöktürüldü. Çöken DNA'lar pipet ucuyla toplanarak %70'lik etanolde yıkandı, havada kurutuldu ve içinde TE tampon (10 mM Tris HCL pH: 7.4, 1 mM EDTA pH:8) bulunan ependorf tüplerde oda ısısında DNA çözülene kadar bırakıldı. Toplanan DNA'lar analiz edilinceye kadar -20°C de saklandı.

DNA MİKTARININ SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEM İLE ÖLÇÜLMESİ

Spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda optik dansitenin okunması DNA derişimini, 260 ve 280 nm dalga boyundaki okunmalar ise DNA'nın saflığını verir. Bu oranın 1.8-2 olması DNA'nın saflığını gösterir. Bu bulgulardan faydalanılarak DNA örneklerinin saflığı kontrol edildi ve miktarı saptandı.

DNA'NIN PCR'DA ÇOĞALTILMASI VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Klinik olarak DMD tanısı almış 28, BMD tanısı almış 13 hasta erkek çocuğa ait DNA'lar multiplex polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifiye edildi. Delesyon analizi, delesyon yönünden sıcak bölge olan genin 5' ucuna ve merkezine ait 19 ekzonun (promotör, 4, 8, 12, 13, 17, 19, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53) primerlerini içeren multiplex PCR setleri kullanılarak yapıldı. Yukarıdaki ekzonlara ait primerlerle değişik kombinasyonlar yapılarak ilgilendiğimiz ekzondaki delesyonlar analiz edildi.

Çalışmalarımızda delesyon görülmeyen sağlıklı bir bireyin DNA'sı kontrol grubu olarak kullanıldı. Herhangi bir DNA kontaminasyonu olup olmadığını anlamak için ise içerisinde DNA'nın bulunmadığı bir PCR reaksiyonu hazırlanarak kontaminasyonlar test edildi. Çalışmalarda hiç bir DNA kontaminasyonuna rastlanılmadı.

PCR ürünleri %3 NuSieve + %1 Agaroz içeren veya %1.5 Agaroz içeren jellerde 1 X TBE (trisborat - EDTA tampon) tamponu içerisinde yürütüldü. Jel içerisine 0.5 g/ml etidyum bromür ilave edildi. Jeller ultraviyole ışığı altında incelendi ve delesyona uğrayan ekzonlar tanımlandı.

MENTAL DEĞERLENDİRME

Hastaların zeka testleri bir psikolog tarafından Wechsler ölçekleri kullanılarak yapıldı. Wechsler ölçekleri farklı zihinsel işlevleri değerlendiren alt testlerden oluşmuştur. Her iki ölçekte sorular basitten karmaşığa doğru gittikçe zorlaşır ve sözel IQ, performans IQ ve toplam IQ olmak üzere üç tür puan elde edilir. Alt testlerden alınan puanlar (ham puanlar), standardizasyon grubunda aynı yaşta deneklerin aldıkları puanların dağılımlarına göre hazırlanmış cetveller esas alınarak, standart puanlara (ölçülmüş puanlara) dönüştürülür. Sözel ve performans bölümlerinin standart puanlarının toplamı da ayrı bir cetvelde zeka bölümüne çevrilir. Zeka bölümü çocuğun kendi

yaşıtlarına göre, zihin işleyişi yönünden ne kadar ileride veya geride olduğunu gösteren bir sayısal ölçüdür.

Sözel bölüm; genel bilgi, yargılama, aritmetik, benzerlikler ve sözcük dağarcığı olmak üzere 5 alt testten oluşmuştur. Sayı tekrarı sözel bölümün ek testidir. Performans bölümünde; resim tamamlama, küplerle desen, resim düzenleme, parça birleştirme, sayı sembolleri olmak üzere 5 alt test vardır. Labirentler, performans bölümünün ek testidir. Bu testlerde; aritmetik, sayı sembolleri, küplerle desen, resim düzenleme, parça birleştirme ve resim tamamlama süre göz önüne alınarak değerlendirilmektedir.

WECHSLER ZEKA ÖLÇEĞİ UYGULAMA KURALLARI

1. Çocukların yaşları ay, gün, yıl olarak hesaplandı. 6-16 yaş arası deneklere Wechsler çocuk zeka ölçeği (WISC-R), 16 yaş üstü deneklere Wechsler yetişkin zeka ölçeği (WAIS) uygulandı.
2. Deneklere yönergede verilen talimatların dışında yardımda bulunulmadı.
3. Teste başlamadan önce deneğin çevresine ve teste uyumu için ön görüşme yapıldı.
4. Kronometre teste başlamadan önce deneğe tanıtıldı.
5. Tüm deneklere testler bir oturumda verildi.
6. Test odası gürültüden uzak ve iyi aydınlatılmıştı. Test masası düzgün ve görüş alanının altında idi.
7. Test odasına denek dışında kimse alınmadı.
8. Tüm alt testlerin verilme sırası ve başlama kuralları yönergelerde belirtildiği gibi uygulandı.
9. Tüm alt testlerde zaman sınırlaması yönergelerde belirtildiği şekilde uygulandı.
10. WAIS resim tamamlama alt testinde Amerika Birleşik Devletleri haritası ve bayrağı deneklere sorulmadı.
11. WISC-R'nin güvenilirliğini etkileyeceği için ellerini ve kollarını kullanmakta belirgin kısıtlılığı olan iki DMD'li hastaaya (26 ve 27 numaralı

hastalar) test uygulanmadı. Bu hastaların okul başarıları göz önüne alınarak IQ düzeyleri normal olarak kabul edildi.

Hastaların zeka düzeyleri aşağıdaki puanlara göre belirlendi:

Çok yüksek zeka	130 ve üzeri
Yüksek zeka	120-129
Parlak zeka	110-119
Normal zeka	90-109
Künt normal zeka	80-89
Sınır zeka	70-79
Hafif mental retardasyon	69-50
Orta mental retardasyon	50-35
Ağır mental retardasyon	35-20
İleri ağır mental retardasyon	20'nin altı

KARDİYAK DEĞERLENDİRME

Pediyatrik kardiyoloji ve erişkin kardiyoloji bölümlerinden iki uzman tarafından 26 DMD'li ve 11 BMD'li hastanın ekokardiyografik (2 boyutlu, M-Mode, Doppler ekokardiyografi) değerlendirilmesi yapıldı, sol ve sağ ventrikül boyutları ve sistolik fonksiyonları, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları çalışıldı. Biri BMD'li (9 numaralı hasta) biri DMD'li (19 numaralı hasta) olmak üzere 2 hastaya EKO incelemesi yapılamadı.

Ağırlıklara göre saptanan normal sağ ventrikül (RVD), sol ventrikül (LVD) ve interventriküler septum (IVSD) çapları Tablo 4’de gösterilmiştir.

AĞIRLIK	RVD	LVD	IVSD
0-11.5 kg	0.3-1.5	1.3-3.2	0.4-0.6
11.5-22 kg	0.4-1.5	2.4-3.8	0.5-0.7
22-34 kg	0.7-1.8	3.3-4.5	0.6-0.7
34-45 kg	0.7-1.6	3.5-4.7	0.7-0.8
45-56 kg	0.8-1.7	3.7-4.9	0.7-0.8
56-90 kg	1.2-1.7	4.4-5.2	0.7-0.8

Tablo 4: Ağırlıklara göre saptanan normal değerler

İSTATİSTİK

İstatistiksel analizler SPSS istatistik programında yapıldı. Delesyon varlığı/mental retardasyon arasındaki ilişki ve delesyon varlığı/kardiyak bulgu arasındaki ilişki ile genin 2 sıcak bölgesinden biriyle kardiyak ve mental semptomlar arasında ilişki olup olmadığı araştırılırken ki-kare, ejeksiyon fraksiyonu ile genetik bulgular değerlendirilirken korelasyon testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

KLİNİK BULGULAR

Bu çalışmada; 24'ü arasında akrabalık ilişkisi olmayan 27 Duchenne Musküler Distrofi ve 8'i arasında akrabalık ilişkisi olmayan 12 Becker Musküler Distrofi olgusu olmak üzere toplam 39 hasta değerlendirmeye alınmıştır. DMD'li hastaların yaş ortalaması 9.65 ± 3.05 (6-18), BMD'li hastaların yaş ortalaması 19.71 ± 9.74 (10-48) olarak saptanmıştır.

DMD'li hastalarımızın çoğunda ailelerin farketmediği ilk yakınmalar alt ekstremitte güçsüzlüğü, merdiven çıkma ve koşmada güçlük şeklinde idi. Hastaların 2'sinde konuşma ve yürümede gecikme, 4 hastada da yürüme güçlüğü ilk yakınmalardı.

BMD'li hastaların başlangıç yakınmaları ise; 9 hastada alt ekstremitte güçsüzlüğü, 2 hastada ise baldır kaslarında psödohipertrofiler şeklindeydi.

Hastalar soygeçmiş özelliklerine göre incelendiğinde; sadece DMD'li 5 hastanın (tüm hastaların %16'sı) kardeşleri dışındaki akrabalarında benzer hastalık öyküsü vardı. BMD'li hastaların hiçbirinde familyal bir yükünlük yoktu. Ancak DMD'li hastalar arasında üç ayrı aileden ikişer kardeş olmak üzere toplam altı kardeş (10-11, 12-13, 16-17 No'lu olgular), BMD'li hastalar arasında ise aynı aileden beş kardeş vardı (3-4-5-6 ve 7 No'lu olgular).

DMD'li hastaların soygeçmiş, anamnez ve klinik durumları Tablo 5'de, BMD'li hastaların özellikleri Tablo 6'da verilmiştir.

HASTA NO	YAŞ	BAŞLANGIÇ YAŞI	İLK YAKINMA	KLİNİK DURUM	SOYGEÇMİŞ ÖZELLİĞİ
1.	7	4	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Var
2.	9	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
3.	11	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımla Yürüyor	Yok
4.	10	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
5.	9	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Var
6.	12	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
7.	9	2.5	Konuşma ve yürümede gecikme. (2.5 yaşında)	Yardımsız Yürüyor	Yok
8.	8	3	Yürüme güçlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
9.	8	3.5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
10.	9.5	4	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Var
11.	7	3	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Var
12.	11	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
13.	6.5	5.	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
14.	7	2	Yürüme güçlüğü	Yardımla Yürüyor	Yok
15.	16	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
16.	8	4	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
17.	8	4	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
18.	8	3	Yürüme güçlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
19.	7	1.5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
20.	6	1.5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
21.	11.5	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
22.	8	4	Konuşma ve yürümede gecikme (4 yaşında)	Yardımla Yürüyor	Var
23.	6	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Var
24.	10.5	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
25.	10	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımla Yürüyor	Yok
26.	15	2.5	Yürüme güçlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
27.	18	5	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok

Tablo 5: DMD'li hastaların klinik özellikleri

HASTA NO	YAŞ	BAŞLANGIÇ YAŞI	İLK YAKINMA	KLİNİK DURUM	AİLE ANAMNEZİ
1	15	6	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımla Yürüyor	Yok
2	16	9	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
3	14	9	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
4	18	9	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
5	21	11	Baldır Kaslarında Genişleme	Yardımsız Yürüyor	Yok
6	17	13	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
7	10	10	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
8	47	26	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
9	15	9	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok
10	16	8	Baldır Kaslarında Genişleme	Yardımsız Yürüyor	Yok
11	26	15	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Sandalyeye Bağımlı	Yok
12	19	7	Alt ekstremitte güçsüzlüğü	Yardımsız Yürüyor	Yok

Tablo 6: BMD'li hastaların klinik özellikleri

GENETİK BULGULAR

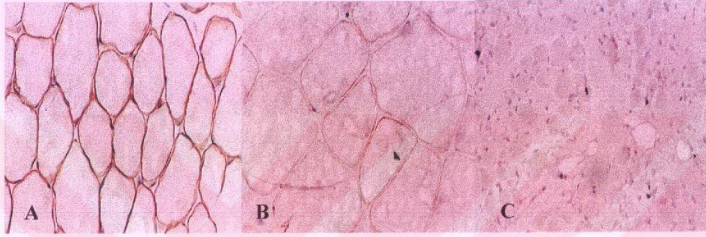
Aralarında akrabalık olmayan 32 hastanın 25'inde delesyon saptanmıştır (%78). DMD'li 24 hastanın 20'sinde (%83), BMD'li 8 hastanın 5'inde (%63) delesyon olduğu gösterilmiştir.

Duchenne Musküler Distrofili hastalardan 18'inde (%66.66) genin 2. sıcak bölgesinde (44-55. Ekzonlar), 3'ünde (%11.11) genin 1. sıcak bölgesinde (3-30. Ekzonlar) delesyon saptanmıştır. 2 hastada (%7.41) saptanan delesyonların ise 1. sıcak bölgede başlayıp 2. sıcak bölgede de sürdüğü görülmüştür. Dört hastada (%14.82) ise herhangi bir delesyon saptanmamıştır. Hastaların 3'ünde (% 11.11) saptanan delesyonlar tek ekzon delesyonu şeklindeydi.

Becker Musküler Distrofili hastaların 8'inde (%66.66) 2. sıcak bölgede, 1 hastada (%8.34) 1. sıcak bölgede delesyon saptanmıştır. BMD'li 3 hastada

(%25) ise herhangi bir delesyon saptanamamıştır. Bu hastaların sadece 1'inde (%8.34) tek ekzon delesyonu vardı.

Tek ekzon delesyonu saptanan 3 DMD'li hastanın kas biyopsileri yapıldı. Distrofine yönelik immunohistokimyasal inceleme ile bu hastaların tanısı doğrulandı (Şekil 7). Tek ekzon delesyonu saptadığımız BMD'li hastanın genetik incelemesi Boğaziçi Üniversitesi'nde yineleni. Bu merkezde elde edilen sonuç bizimki ile uyumlu olduğu için hastanın tanısı doğrulanmış oldu.



Şekil 7:Normal (A), BMD (B) ve DMD (C)'li hastalarımızın biyopsi örnekleri.

Hem DMD'li (4 hasta) ve hem de BMD'li (3 hasta) gruptan delesyon saptanamayan 7 hastanın 4'üne kas biyopsisi uygulanabildi ve bu dört hastanın da önceki tanıları doğrulandı. Biyopsi uygulamasını kabul etmeyen hastalardan ikisi DMD'li (24,26 no'lu hasta), biri BMD'li (11 no'lu hasta) grupta yer almaktadır.

Hastaların delesyonları tablo 7'de gösterilmiştir.

MENTAL BULGULAR

Çalışmaya alınan 39 distrofinopati olgusunun 37'sine Wescsler zeka testleri uygulandı. DMD'li grupta yer alan 2 hastaya (26 ve 27 No'lu hastalar) ellerini kullanamadıkları için zeka testi yapılamadı. Ancak bu hastaların okul başarılarını göz önüne alındığında zeka düzeyleri normal olarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan tüm hastaların ortalama sözel puanı 76.16 ± 23.65 (40-111), ortalama performans puanı 78.41 ± 21.23 (42-108) ve ortalama toplam puanı 76.11 ± 21.85 (40-109) olarak bulunmuştur.

DMD'LI HASTALARIN DELESYONLARI		BMD'LI HASTALARIN DELESYONLARI	
Hasta No	Delesyon Bölgesi	Hasta No	Delesyon Bölgesi
1	45-52	1	Delesyon Saptanmadı
2	45-53	2	45-53
3	46-53	3	45-48
4	46-49	4	45-48
5	53	5	45-48
6	48-51	6	45-48
7	19-44	7	45-48
8	49-52	8	45-48
9	45-50	9	Delesyon Saptanmadı
10	46-50	10	45-47
11	46-50	11	Delesyon Saptanmadı
12	45-53	12	13
13	45-53		
14	44		
15	46-49		
16	8-17		
17	8-17		
18	45-52		
19	45-52		
20	49-50		
21	Delesyon Saptanmadı		
22	Delesyon Saptanmadı		
23	4-19		
24	Delesyon Saptanmadı		
25	50		
26	Delesyon Saptanmadı		
27	12-44		

Tablo 7: DMD ve BMD'li hastaların delesyon bölgeleri

DMD'li hastalarda ortama sözel puan: 70.80 ± 21.31 (40-111), ortalama performans puanı: 75.84 ± 19.98 (42-108) ve ortalama IQ: 72.44 ± 21.64 (40-104) olarak hesaplanmıştır.

BMD'li hastalarda ise ortalama sözel puan: 85.50 ± 22.97 (40-111), ortalama performans puanı: 82.00 ± 20.58 (42-110) ve ortalama IQ: 83.75 ± 21.15 (40-109) olarak saptanmıştır.

Tüm hastalar dikkate alındığında 8'inde hafif düzeyde (IQ:50-69), 4'ünde orta düzeyde (IQ:35-50) olmak üzere 12 hastada mental retardasyon saptanmış ve aralarında akrabalık bağı olmayan 32 hastada; mental retardasyon oranı % 37.5 olarak bulunmuştur. Bu hastalardan 11'i DMD'li grup içinde, 1'i ise BMD'li grup içinde yer almaktaydı. Aralarında akrabalık bağı olmayan DMD'li hastalardaki mental retardasyon oranı % 45.83, BMD'li hastalardaki mental retardasyon oranı ise % 12.5 olarak saptanmıştır. Her iki grup arasında sayısal açıdan belirgin fark olmasına karşın, istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p=0.2$).

Delesyon saptanan ve kardeş olmayan 25 hastanın 10'ununda (% 40), delesyonu negatif olan 7 hastanın 2'sinde (% 28.57) mental retardasyon saptanmıştır. Ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.68$).

Saptanan delesyonlar ile mental retardasyon arasındaki ilişki araştırıldığında; mental retardasyon ile ilişkili özel bir ekzon tespit edilememiştir. Ancak delesyon saptanan mental retarde 10 hastanın 9'undaki delesyonların, genin 2. sıcak bölgesi olan 42-55 ekzonlarda yerleştiği gözlenmiştir. Diğer hastanın delesyonunun ise 1. sıcak bölgede (3-30). ekzonlar arası) başlayıp 2. sıcak bölgede de sürdüğü izlenmiştir.

DMD ve BMD'li hastaların Wechsler zeka ölçekleri ile değerlendirilen sözel, performans ve toplam zeka puanları tablo 8 ve 9'da sunulmuştur.

HASTA NO	Sözel Puan		PERFORMANS PUAN		Tüm Puan	
	Std. Puan	Zeka Böl.	Std. Puan	Zeka Böl.	Std. Puan	Zeka Böl.
1	36	81	36	79	72	79
2	18	56	3	42	21	43
3	24	64	45	92	69	95
4	6	40	18	53	24	45
5	22	62	21	58	43	57
6	25	66	30	72	55	66
7	15	53	18	53	33	50
8	10	46	32	74	40	55
9	29	72	32	74	61	70
10	12	49	20	57	32	50
11	10	46	18	53	28	47
12	36	81	46	94	82	103
13	38	84	37	81	75	81
14	19	57	27	69	46	59
15	52	103	47	95	99	99
16	40	87	50	100	90	92
17	46	95	55	107	104	101
18	13	47	21	58	34	51
19	43	90	50	100	93	94
20	33	77	45	92	78	83
21	6	40	10	43	16	40
22	24	66	35	78	59	68
23	50	100	43	90	93	94
24	48	97	32	74	80	85
25	58	111	56	108	106	104

Tablo 8:DMD'li hastaların Wechsler ölçekleri ile saptanan zeka puanları

HASTA NO	Sözel Puan		PERFORMANS PUAN		Tüm Puan	
	Std. Puan	Zeka Böl.	Std. Puan	Zeka Böl.	Std. Puan	Zeka Böl.
1	36	81	44	92	80	85
2	12	49	30	72	42	56
3	6	40	9	42	15	40
4	53	96	45	94	98	103
5	57	98	51	100	108	99
6	36	82	25	69	61	75
8	48	90	11	61	59	76
9	57	110	25	64	82	86
10	58	111	54	105	112	109
7	52	103	57	110	109	107
11	24	67	35	81	59	72
12	56	99	45	94	101	97

Tablo 9: BMD'li hastaların Wechsler ölçekleri ile saptanan zeka puanları

KARDİYAK BULGULAR

Duchenne Musküler Distrofili 27 hastanın 26'sında ekokardiografik (EKO) inceleme yapılabilmektedir. Bu 26 hastada ekokardiografik (2 boyutlu, M-Mode, Doppler ekokardiografi) değerlendirme ile sol ve sağ ventrikül çapları ve sistolik fonksiyonlar çalışılmıştır. İki boyutlu ekokardiografide segmental analiz ile çalışmaya alınan 26 olgunun hiçbirinin sol ventrikül duvarında hipokinezi saptanmamıştır.

Sol ventrikül sistolik ve diastolik çapları; olguların ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde, beş olguda (3-16-17-23 ve 27 No'lu hastalar) normalin üst sınırında saptanmıştır. Sol ventrikül sistolik ve diastolik çaplarının normalin altında olduğu hiçbir olgu bulunamamıştır.

Sol ventrikül sistolik fonksiyonlarının bir göstergesi olan ejeksiyon fraksiyonu DMD'li hastalarda ortalama 57.38 ± 8.49 olarak saptanmıştır. Bu normal %74 (64-83) değeri göz önüne alındığında yaklaşık %20'lik bir

azalmayı göstermektedir. Ejeksiyon fraksiyonu 8 olguda (3-7-12-16-17-20-24 ve 27 No'lu hastalar) normalin alt sınırı olan % 55'in altında bulunmuştur.

Bir olguda (15 No'lu hasta) asimetrik septal hipertrofi, bir olguda (25 No'lu hasta) mitral valv prolapsusu (MVP) saptanmıştır. Doppler ekokardiyografi ile 3 hastada (16-17 ve 20 No'lu hastalar), kardioloji tarafından klinik önemi olmadığı söylenen pulmoner yetersizlik (PY) ve triküspit yetersizliği (TY) saptanmıştır.

Ekokardiografide, dilate kardiyomiopati bulgusu olarak sol ventrikülde ileri derecede kasılma bozukluğu, yaşa ve ağırlığa göre kardiyak boşluk çaplarında ileri derecede artma ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda ileri derece azalma (%45'in altında), bir olgu (27 No'lu hasta) dışında saptanmamıştır.

DMD'li hastalarda yaş arttıkça sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun azaldığı izlenmiş ve bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.036$)

Ekokardiyografi yapılabilen BMD'li 11 hastanın ekokardiyografik (2 boyutlu, M-Mode, Doppler ekokardiyografi) değerlendirilmesinde sol ve sağ ventrikül çapları ve sistolik fonksiyonları çalışılmıştır.

Sağ ventrikül sistolik ve diyastolik çapları 3 hastada (4-5 ve 11 No'lu hastalar) normalden yüksek bulunmuştur.

Sol ventrikül sistolik ve diyastolik çapları ise 5 hastada (4-5-8-11 ve 12 No'lu hastalar) normalden yüksek bulunmuştur.

İnterventriküler septum ve sol ventrikül arka duvar kalınlıklarının 2 hastada (8 ve 10 No'lu hastalar) arttığı gözlenmiştir.

Sol ventrikül sistolik fonksiyonlarından sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun, BMD'li hastalarda ortalama 54.54 ± 9.11 (%37-68) olduğu saptanmıştır. Bu değer, normallerin ortalamasına göre (%74) yaklaşık %25'lik bir düşüşü göstermektedir. Ejeksiyon fraksiyonu, BMD'li 5 hastada (4-6-8-11 ve 12 No'lu hastalar) normalin alt sınırından (% 55'in altında) daha düşük bulunmuştur.

BMD'li hastalarda yaş ilerledikçe ejeksiyon fraksiyonunun düştüğü gözlenmiş, ve yaş ile ejeksiyon fraksiyonu arasındaki bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.048)

DMD ve BMD'li hastaların tümü göz önüne alındığında sol ventrikül sistolik çaplarındaki genişleme ile yaş arasında korelasyon saptanamamıştır (p=0.89).

Delesyonlar ile ejeksiyon fraksiyonu arasında da bir ilişki gözlenmemiştir (p=0.57). Ayrıca kardiyak bulgulara spesifik olan bir ekzon saptanamamıştır. Ancak genin 1. sıcak bölgesinde delesyon saptanan tüm olgularda sol ventrikül çapında genişleme ve ejeksiyon fraksiyonunda azalma şeklinde belirgin kardiyak tutulum bulguları olduğu görülmüş ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.004). Ancak BMD'li hastalarda böyle bir ilişki kurulamamış, sol ve sağ ventrikül çapında genişleme ve ejeksiyon fraksiyonunda azalma şeklindeki kardiyak etkilenmenin genin 2. sıcak bölgesinde delesyonu olan BMD'li hastalarda da olabileceği görülmüştür.

Hastaların sağ ventrikül çapları (sağ VD), sol ventrikül çapları (sol VD) ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (sol vent. EF) tablo 10 ve 11'de gösterilmiştir.

No	Sağ VD	Sol VD	IVSD	Sol Vent. EF	Ağırlık	Ek Bulgu
1	0.71	4.81	0.66	%63	47	Yok
2	1.06	4.00	0.78	%62	55	ASD
3	0.70	4.50	0.81	%68	38	Hafif-Orta TY
4	2.30	5.10	1.00	%51	56	Yok
5	2.40	5.00	0.90	%58	63	Yok
6	0.98	4.22	0.77	%47	56	Hafif MVP, TY
7	0.94	3.94	0.63	%68	24	Yok
8	1.80	5.70	1.15	%45	96	Hafif-Orta MY
9						
10	1.09	4.92	1.17	%57	80	Yok
11	2.20	5.40	0.90	%37	55	Yok
12	1.13	5.31	0.81	%52	59	Hafif PY

Tablo 11: BMD'li hastaların EKO bulgula

İsim	Sağ VD	Sol VD	IVSD	Sol Vent. EF	Ağırlık	Ek Bulgu
1	1.03	3.28	0.94	%66	23	Yok
2	0.75	3.75	0.98	%58	26	Yok
3	1.80	4.60	0.69	%51	30	Yok
4	0.58	3.2	0.63	%55	20	Yok
5	0.80	2.03	0.61	%60	21	Yok
6	0.88	4.16	0.66	%67	33	Yok
7	1.26	3.12	0.77	%53	19	Yok
8	1.22	3.91	0.66	%59	25	Yok
9	0.55	3.06	0.66	%62	18	Yok
10	1.31	3.43	0.88	%60	36	Yok
11	0.56	3.66	0.66	%54	21	Yok
12	0.47	3.05	0.80	%53	22	Yok
13	0.50	2.49	0.58	%60	16	Yok
14	0.71	4.32	0.49	%62	25	Yok
15	1.04	3.69	0.60	%58	47	Asim. Sept. Hipertrofi
16	0.66	3.80	0.84	%50	19	Hafif PY
17	0.98	3.84	0.84	%53	20	Hafif PY
18	0.98	3.52	0.70	%65	22	Yok
19						
20	0.66	3.33	0.89	%58	27	Hafif TY,PY
21	0.44	3.94	0.82	%66	32	Yok
22	0.56	3.14	0.84	%55	22	Yok
23	0.61	3.84	0.75	%67	20	Yok
24	1.8	3.90	0.70	%52	28	Yok
25	0.77	3.50	1.04	%53	38	Hafif MVP
26	0.75	3.94	0.81	%69	60	Yok
27	3.60	7.17	0.85	%26	42	LV Dilatas.

Tablo 10: DMD'li hastaların EKO bulguları

TARTIŞMA

Distrofinopatiler; X kromozomunun kısa bacağında yer alan distrofin genindeki (Xp21) mutasyonlar sonucu ortaya çıkan hastalıklardır. Bu X kromozomuna bağlı genetik geçiş nedeniyle hastalık erkek cinstе görülmektedir. Ancak Turner (XO) ve Turner mozaik sendromu (X/XX, X/XXX), X kromozomunun yapısal anormalliği ve X otozomal translokasyonu gibi ender durumlardaki kadınlarda da ortaya çıkabilmektedir (9,23).

Distrofin genindeki mutasyonlar genellikle delesyon şeklindedir. Daha az sıklıkta tek nokta mutasyonları ve duplikasyonlar da görülmektedir.

Çeşitli çalışmalarda DMD ve BMD'li hastalardaki delesyon oranının % 60-65 olduğu bildirilmektedir (5,41,52,60). Ancak daha düşük oranda delesyon saptayan çalışmalar da vardır. Örneğin Arjantin'de 75 DMD/BMD hastasında yapılan bir çalışmada %32 oranında delesyon saptanmıştır (6). Ülkemizde ise 1993 yılında Gökğöz ve ark. 76 DMD ve 5 BMD hastasında PCR'la yaptıkları bir çalışmada delesyon görülme oranını % 52 olarak bulmuşlardır (30). Dinçer ve ark. ise 1996'da yaptıkları ve 57 DMD, 7 BMD ve 1 intermediate musküler distrofil hastanın PCR ile 15 ekzonunu inceledikleri çalışmada % 58 oranında delesyon saptamışlardır (19).

Bizim çalışmamızda; aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 32 hastanın incelenmesi sonucu % 78'lik bir delesyon oranı saptadık. Bu oran daha önce ülkemizde yapılmış çalışmalara göre daha yüksektir. Bizim hastalarımızda daha yüksek oranda delesyon saptanmasının nedeni; önceki çalışmalara oranla bizim, daha fazla sayıda ekzon (19 ekzon) incelememize bağlı olabilir. Nicholson LVB ve ark. da DMD ve BMD'li akraba olmayan 92 hastada yaptıkları çalışmada delesyon/dublikasyon oranını bizim sonuçlarımıza benzer şekilde (hastaların % 81.5'unda delesyon) bulmuşlardır. Klinik tanının kas biyopsisi ile doğrulanması nedeni ile delesyonu negatif olan ve klinik olarak distrofinopatiler ile karışan diğer musküler distrofi tiplerini dışladıklarını ve bu nedenle mutasyonların daha yüksek oranda saptandığını belirtmişlerdir (50).

Delesyonların dağılımı gen içinde rastgele olmayıp genellikle iki ana bölgede toplanır. Bu bölgelerden biri genin santral bölgesinde yer alan ve 3 ucu denilen 2.sıcak bölge, diğeri ise 5 ucunda yer alan 1.sıcak bölgedir.

Hindistan'da yapılan bir çalışmada incelenen 160 DMD'li hastada saptanan delesyonların % 69.7'sinin 45-55. ekzonlarda (2.sıcak bölge) olduğu bildirilmiştir (5). Klamut ve ark. ise bu çalışmalardan farklı olarak saptadıkları delesyonların %50-60'ının 1.sıcak bölgede, %30'unun ise 2.sıcak bölgede olduğu belirtmişlerdir (38). Ülkemizde ise Gökgöz ve ark. delesyonların %89'mın distrofin geninin santral bölgesinde, % 11'inin ise proksimal sıcak bölgede saptandığını bildirmişlerdir (30). Dinçer ve ark.'nın 57 DMD, 7 BMD ve 1 intermediate hastayı içeren çalışmalarında delesyonlarının %68'inin 44. ekzondan başladığını ve 2.sıcak bölgede yer aldığını belirtmişlerdir (19). Bizim hastalarımızda saptanan delesyonlar % 81.25 oranında genin santral bölgesinde, % 18.75'i ise genin 3 bölgesinde yer almaktadır. En sık olarak da 46-49. ekzon delesyonu saptanmıştır. Üçü DMD'li, biri BMD'li olmak üzere toplam dört hastamızda tek ekzon delesyonu olduğu ve bu hastalar ile multipl ekzon delesyonu olan diğer hastalar arasında başlangıç yaşları, kas güçsüzlüğünün şiddeti ve güçsüzlüğün dağılımı açısından bir fark olmadığı görülmüştür. Bu bulgular da tek ekzon delesyonu olan hastaların kliniğinin multipl ekzon delesyonu olan hastalarinkine kadar ağır olabileceğini bildiren çalışmalarla uyumluydu (24, 48, 68).

Distrofinopatilerde henüz daha hastalığın progresyonunu durdurabilen herhangi bir tedavi yönteminin bulunamaması, prenatal tanı ve taşıyıcıların saptanmasının önemini artırmaktadır. Distrofinopatili bir hastanın delesyonunun saptanması, bu ailede taşıyıcıların saptanması ve sonraki gebeliklerde gerekecek prenatal tanı için esastır. Olguların sadece 1/3'ü spontan yeni mutasyonlar sonucu oluşur, 2/3'ü ise kalıtsaldır (23, 48). Yani hastalık taşıyıcı anneden erkek çocuğa aktarılır. Olgularımızdan 5'inde (%16) kardeşleri dışındaki bir akrabasında benzer hastalık öyküsü vardı. Familial olgularımızın bu oranı, olguların 2/3'ü kalıtsal olduğu için beklenenden daha düşüktür. Bunun nedeni hastalarımızın dayılarının olmamasına bağlı olabilir.

Sporadik ve familial olgularımız arasında delesyon lokalizasyonu açısından fark saptanmamıştır. Familial 5 olgumuzun 4'ünde delesyon saptanmış ve bu delesyonların 3'ü genin 3 ucunda, 1'i 5 bölgesinde gözlenmiştir. Baranjini ve ark. familial olgularda (%40), izole olgulara (%30) göre daha sık delesyon saptadıklarını bildirmişlerdir (6). Familial olgularımızın tümü DMD'li hastalardı. Oysa BMD olgularında familial özellik daha sık olarak beklenmektedir. Çünkü BMD'li erkekler üreme yaşına dek yaşayabilmekte ve üreme yeteneklerinin de fazla (%70) olması nedeniyle hastalıklı geni kız çocuklarına geçirebilmektedirler.

Distrofinopatilerin en sık görülen formları olan Duchenne Musküler Distrofi (DMD) ve Becker Musküler Distrofi (BMD)'deki ana klinik tablo; iskelet kas güçsüzlüğüdür. Ancak distrofin, iskelet kası dışında miyokard kası, düz kaslar, beyin, periferik sinirler ve retina gibi başka dokularda da yaygın olarak bulunduğu için distrofinopatilerde bu doku ve organlara ait klinik bulgular da ortaya çıkabilmektedir (3,4,8,65). Bu nedenle distrofinopatilerde beyin ve kardiyak patolojiler sıkça araştırılmaktadır.

DMD'li hastalarda görülen mental retardasyon ve IQ düzeyi konusunda yapılmış pek çok çalışma olmasına rağmen, uzun yıllar mental retardasyon, hastalığın en az anlaşılan yönlerinden biri olarak kalmıştır. DMD'de, değişen oranda fakat genellikle önemli derecede mental retardasyon görülür. Yayınlanan çalışmalarda DMD'li hastalardaki mental retardasyon sıklığı % 18-63 arasında değişmektedir (55). Lindlöf ve ark. ise daha düşük oranda mental anormallik saptamışlar, inceledikleri 90 DMD'li hastanın 14'ünde (%16) mental retardasyon olduğunu bildirmişlerdir (40). Emery, DMD'li hastalardaki IQ değerlerini hastaların % 20'sinde 70'in altında, % 3'ünde ise 50'nin altında bulmuştur (22). Biz DMD'li hastalarımızdaki mental retardasyon oranını %46 olarak saptadık. Bu hastaların %17'sinde orta derecede mental retardasyon (IQ 50'nin altında), %29'unda hafif düzeyde mental retardasyon (IQ:50-70 arasında) izlenmiştir. ortalama IQ 72.44±21.64 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızdaki mental değerlendirme sonuçları, Rapaport ve ark.'nın bildirdiği sonuçlara benzemektedir. Rapaport ve ark. 148 DMD hastasında

yaptıkları çalışmada, hastaların ortalama IQ düzeylerini 71.76 ± 17.30 olarak bulmuşlar ve hastaların % 50'sinde mental retardasyon olduğunu saptamışlardır (55).

Delesyonun varlığı ile mental retardasyon arasında ilişki olup olmadığı bir çok çalışmada araştırılmış ve genellikle delesyon varlığı ile entellektüel bozukluk arasında anlamlı korelasyon kurulamamıştır. Lindlöf ve ark. delesyonu olan DMD ve BMD hastalarında % 50, delesyonu olmayan hastalarda ise % 54 oranında mental retardasyon saptadıklarını bildirmişlerdir (40). Rapaport ve ark.'nın 1991'deki çalışmalarında; delesyonu olan ve olmayan hastaların ortalama IQ düzeyleri arasında bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir (55). Bushby KM ve ark.'da 74 DMD hastasını içeren bir çalışmada; delesyonu olan ve olmayan hastaların IQ düzeyleri arasında fark saptamamışlardır (13). Bizim çalışmamızda da delesyonu olan ve olmayan hastalar arasında mental retardasyon sıklığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Genin spesifik bir bölgesi ve delesyonun lokalizasyonu ile mental retardasyon arasında bir ilişki olup olmadığını araştıran çok sayıda çalışma vardır. Lindlöf ve ark. 52. ekzonda delesyonu olan bazı hastalarda mental retardasyon görüldüğünü bildirmişlerdir (40). Rapaport ve ark'da 52. ekzondaki delesyonun mental tutulum için önemli olduğunu ve bu ekzonda delesyonu olan hastaların %70'inde mental retardasyon izlendiğini belirtmişlerdir. (55). Bizim hastalarımızda 52. ekzon delesyonu ile mental retardasyon arasında ilişki saptanmamıştır. 52. ekzonda delesyonu olan 8 hastanın 4'ünde mental retardasyon gözlenmiş, 4'ünde IQ normal bulunmuştur.

Birçok çalışmada genin 3' ucundaki delesyonlar ile IQ düzeyindeki düşüklüğün birliktelik gösterdiği ve bu bölgenin kognitif fonksiyonlarda önemli olabileceği bildirilmektedir. Lindlöf ve ark. 40-50. ekzon arasındaki delesyonların mental tutulumda önemli olduğunu belirtmişlerdir (40). Bushby KM ve ark 74 hastayı içeren çalışmalarında, distrofin geninde özel bir bölgenin mental tutulumla ilişkili olmadığını, ancak genin 3' bölgesindeki delesyonlarda

mental retardasyonun daha sık görüldüğünü belirtmişlerdir (13). Ayrıca Kekou ve ark. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada mental retardasyonu olan ve delesyon saptanamayan bazı hastalarda, genin 3' bölgesinde nokta mutasyonlar olduğu gösterilmiştir (37). Bizim hastalarımızda da mental retardasyonlu hastalarda özel bir delesyon tipi gözlenmemekle birlikte, bu hastalardaki delesyonlar genin 3' ucunda belirgin olarak daha sık saptanmıştır. Delesyonu saptanan ve mental retardasyonu olan hastaların 9'unda delesyon genin santral bölgesinde yer almış, yalnızca 1'inde 5' bölgesinde başlayıp genin santral bölgesinde devam etmiştir.

Dp 140 izoformunun amino terminali ekzon 42-52 bölgesinde şifrelenir ve bu bölgede olan delesyonlar da mental retardasyonun sık görülmesinin nedeni olabilir. Ancak DMD'li hastalarda gözlenen mental retardasyon sadece serebellar purkinje hücreleri ve beyine spesifik promotörlerdeki delesyonlarla açıklanamamış ve günümüzde birçok distrofin izoformundan hangisinin kognitif problemlerden sorumlu olduğu tam olarak anlaşılamamıştır (31). Örneğin Rapaport ve arkadaşları ekzon 18'de delesyonu olan ve P promotörünün etkilendiği bir hastada IQ düzeyini normal olarak bulmuşlardır (56). Bu nedenle multipl distrofin izoformlarının ilişkisinin kognitif bozukluklarda rol oynadığı düşünülmektedir. Son yıllarda, ciddi mental retardasyonun distrofinin karboksi terminalinde prematüre çeviri sonlanması ile oluştuğu düşünülmektedir. Nigro ve ark tarafından yapılan çalışmada mental retarde hastalarda karboksi terminal bölgesinde nokta mutasyonları olduğu gösterilmiştir (51). Bu mutasyonların, Dp 116 ve Dp 71 izoformunun karboksi terminalini de etkileyebilmesi nedeni ile, mental retardasyonun bu proteinlerin yokluğu nedeni ile ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.

DMD'li kardeş hastalar arasındaki mental bakı bulgularının benzer olduğu bilinmektedir (23, 31). Bizim DMD'li 6 kardeş hastanın IQ düzeyleri birbirine yakın olarak bulunmuştur.

BMD'li hastalarda kognitif bozukluklara daha az rastlanmakla birlikte, sıklığı tam olarak bilinmemektedir (53). Melo ve ark. tarafından 1995'te 22 BMD hastasında yapılan bir çalışmada ortalama IQ:85.9 olarak bulunmuş ve

bu hastaların sadece birinde hafif düzeyde mental retardasyon saptanmıştır (45). Bizim akraba olmayan 8 BMD'li hastamızın yalnızca 1'inde mental retardasyon izlenmiş ve mental retardasyon oranı %13 olarak saptanmıştır. Ortalama IQ düzeyi 83.75+21.15 olarak saptanmıştır. DMD'li hastalardaki mental retardasyon oranı (%46) ile karşılaştırıldığında BMD'li hastalarda mental retardasyonun belirgin şekilde daha düşük oranda olduğu gözlenmiştir. BMD'li 5 kardeşin birinde saptanan mental retardasyonun, -bu çocuğun farklı dismorfik özellikleri nedeni ile- farklı bir hastalığın komponenti olabileceği düşünülmüştür.

Distrofinopatilerde kardiyomiyopati de sık görülen klinik bulgulardan biridir. Kardiyomiyopati özellikle BMD'li hastalarda DMD'li hastalara oranla daha sık görülür. BMD'de görülen kardiyak tutulumun şiddetinin, iskelet kas güçsüzlüğünün şiddeti ile uyumlu olmadığı ve semptomu olmayan hastalarda bile subklinik kardiyak tutulum bulgularının olabileceği birçok çalışmada gösterilmiştir. (54, 63) Bunun, kardiyak sorununun farkında olmayan ya da kardiyak bir yakınması olmayan ve bedensel faaliyetlerini sürdürmeye devam eden BMD'li hastalarda, sürdürülen mekanik yüklenmenin, distrofin eksikliği olan myokard dokusunda hasarlanmaya yol açması sonucu geliştiği düşünülmektedir (63).

BMD'li hastalarda yapılan EKO çalışmalarında; değişik oranda kardiyak tutulum bulguları bildirilmiştir. Steare ve ark. tarafından kardiyak yakınması olmayan 19 BMD'li hastada yapılan çalışmada; hastaların %37'sinde sol ventriküler dilatasyon ve % 63'ünde global hipokineziye bağlı sistolik fonksiyon bozukluğu saptanmıştır (63). Melacini ve ark., 31 BMD'li hastayı ekokardiyografik açıdan değerlendirmiş ve hastaların % 52'sinde sağ ventrikül tutulumu, % 10'unda sol ventrikül tutulumu saptamışlardır (44). Sol ventrikül tutulumu ileri yaştaki hastalarda gözlenirken sağ ventriküldeki bozukluğunun erken yaşlarda bile görülebildiği bulunmuştur. Angelini ve ark. tarafından 125 BMD'li hastada yapılan çalışmada; hastaların %65'inde sağ ventrikül volümünde artış, hastaların %25'inde sol ventrikül dilatasyonu saptanmış ve hastaların %25'inde ejeksiyon fraksiyonunda düşüklük saptanmıştır (15).

Azalmış ejeksiyon fraksiyonu ve sol ventrikül volüm artışı yaşla korele bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmaların aksine sağ ventrikül çaplarında genişleme sol ventriküle göre düşük oranda bulunmuştur. BMD'li 11 hastanın 3'ünde (%27), sol ventrikül çapında genişleme ise 5 hastada (%45) saptanmıştır. Ejeksiyon fraksiyonundaki düşüklük yaşla korele bulunmuştur.

Kardiyak tutulumla genotip arasında korelasyon kurma amacıyla yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir. Kardiyak bulgularla genotip arasında ilişki olmadığını belirten çalışmalar yanında genin spesifik bölgeleri ile korelasyon kuran çalışmalar da vardır. Hoogerwaard ve ark. tarafından 1997 yılında 27 BMD hastasında yapılan çalışmada; mutasyon tipi ve dilate kardiyomyopati arasında bir ilişki saptanmamıştır (32). Saito ve ark. 21 BMD'li hastada yaptıkları çalışmada da kardiyak disfonksiyon ve delesyon dağılımı arasında ilişki saptanmamıştır (57). Yoshida ve ark. 1.exon civarındaki delesyonların iskelet kas tutulumu olmadan seçici kardiyak tutulumla sonuçlandığını belirtmişlerdir (70). Buna karşın Melacini ve ark. ise 49'. ekzon delesyonunun kardiyak tutulumla ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (44). Yazaki ve ark., distrofin geninin 5' ucunda mutasyonu olan BMD hastalarının iskelet kas güçsüzlüğüne oranla ciddi kardiyak disfonksiyon göstermeye eğilimli olduklarını bildirmişlerdir (69). Bizim çalışmamızda da genin 5' bölgesinde delesyon saptanan DMD ve BMD hastalarının tümünde kardiyak tutulum olduğu görülmüş ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

ÖZET

Bu çalışmada klinik olarak DMD tanısı alan 27 (arasında akrabalık ilişkisi olmayan 24) hasta, BMD tanısı alan 12 (arasında akrabalık ilişkisi olmayan 8) hasta klinik ve genetik yönden incelenmiştir. DMD'li hastaların yaş ortalaması 9.65 ± 3.05 , BMD'li hastaların yaş ortalaması 19.71 ± 9.74 olarak bulunmuştur.

Genetik incelemede delesyon yönünden sıcak bölge olan genin 5' ucuna ve merkezine ait toplam 19 ekzonu kapsayan primer çitfleri kullanılmıştır. Hastalarımızdaki toplam delesyon oranı %78 (25/32) olarak bulunmuştur.

Hastalar mental ve kardiyak açıdan incelenmiş; mental ve kardiyak bulguların genetik bulgularla arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Mental değerlendirme Weschsler ölçekleri kullanılarak yapılmıştır. 70 puan altı mental retardasyon olarak kabul edilmiştir. DMD'li hastaların %45.83'ünde, BMD'li hastaların %12.5'unda, tüm hastaların %38'inde mental retardasyon saptanmıştır. DMD hastalarda toplam IQ, 72.44 ± 21.64 BMD'li hastalarda 83.75 ± 21.15 olarak saptanmıştır. Mental retardasyondan sorumlu özel bir ekzon bölgesi saptanmamasına rağmen, mental retardasyonu olan ve delesyonu saptanın 10 hastanın 9'unda delesyon genin merkezinde gözlenmiş, yalnızca 1 hastanın delesyonunun 5' bölgesinden başlayıp genin merkez bölgesinde de devam ettiği gözlenmiştir.

Otuz yedi hastanın 2 boyutlu M. Mode Dopler ekokardiyografi ile ekokardiyografik değerlendirmesi yapılmıştır. 26 DMD'li hastanın 5'inde sol ventrikül çaplarının artmış olduğu, 8'inde ejeksiyon fraksiyonunun düşük olduğu saptanmıştır. 11 BMD'li hastanın 3'ünde sağ ventrikül, 5'inde sol ventrikül çaplarının artmış olduğu 5 hastada da ejeksiyon fraksiyonunun düştüğü izlenmiştir. DMD'li hastalarda ortama ejeksiyon fraksiyonu $\%57.38 \pm 87.49$, BMD'li hastalarda ortalama ejeksiyon fraksiyonu $\%54.54 \pm 9.11$ olarak saptanmıştır.

Kardiyak bulgulara spesifik olan bir ekzon bölgesi saptanmamıştır. Ancak genin 5' ucunda delesyon saptanan hastaların tümünde kardiyak tutulum olduğu gözlenmiş ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.004$).

ÖNERİLER

- Klinik olarak DMD düşünülen 1 hasta ile BMD düşünülen 1 hastanın, genetik ve patolojik incelemeleri bu tanıları dışlamamızı sağlamıştır. Bu nedenle DMD ve BMD tanısı yalnızca klinik olarak konulamayacağı ve mutlaka genetik inceleme ve/veya kas biyopsisinde immunohistokimyasal metodlarla distrofin araştırılması gerektiğini,
- BMD'li hastaların % 12.5'inde mental retardasyon izlenirken DMD'li hastaların % 45.83'ünde mental retardasyon saptanmıştır. DMD' li hastalarda yüksek oranda mental retardasyon saptanması nedeniyle, bu hastalarda eğitim programları düzenlemek için zeka testi yapılması gerektiğini,
- Delesyonu pozitif olan mental retarde hastaların 9'unun delesyonunun 2. sıcak bölgede, sadece 1'inin 1. sıcak bölgede olması çok dikkat çekici bir bulgudur. Genin 3' ucunda delesyonu saptanan hastalar mental retardasyon açısından incelenmesi gerektiğini
- Genin 5' ucunda delesyonu saptanan 5 hastanın hepsinde ejeksiyon fraksiyonunun düşük olması ve sol ventrikül çapının artmış olması nedeniyle bu bölgede delesyonu saptanan hastaların kardiyak tutulum açısından izlenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

LİTERATÜR

1. Adams RP, Victor M, Rapper A. The Muscular Dystrophies in: Principles of Neurology. Mc Graw-Hill 1997 p:1414-1431.
2. Ahn AH, Kunkel LM,. The structural and functional diversity of dystrophin. Nature Genetics. 1993 (3), 283-291
3. Amalfitano A, Rafael J, Chambelin JS. Structure and mutation of the dystrophin gene. In: Dystrophin ed: Brown SC, Lucy JA, Brown and Lucy. 1997, P: 1-26. Cambridge, Cambridge University Press.
4. Bakker E, Ommon GBV. Duchenne and Becker Muscular Dystrophy. In: Neuromuscular Disorders: Clinical and Molecular Genetics ed: Emery AEH Wiley 1999; p:59-85.
5. Banerjee M, Verma IC. Are there ethnic differences in deletions in the dystrophin gene? Am J Med Genet 1997, 20; 68(2): 152-7.
6. Baranzini SE, Giliberto F, Herrera M, et al. Deletion patterns in Argentine patients with Duchenne and Becker muscular dystrophy. Neurol Res 1998, 20: 409-414.
7. Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR, et al: Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: Dystrophin gene and protein studies Am J Hum Genet, 1991; 49:54.
8. Belacini P, Fanin M, Danieli G.A. and et al. Myocardial Involvement Is Very Frequent Among Patients Affected With Subclinical Becker's Muscular Dystrophy. Circulation 1996; 94: 3168-3175.
9. Berg G, Conte F: Duchenne muscular dystrophy in a female with a structurally abnormal X-chromosome. Neurology , 1974; 24: 356.
10. Billard, C. Gillet, P., Signoret, J.L. et al. Cognitive function in Duchenne muscular dystrophy. A reappraisal and comparison with spinal muscular atrophy. Neuromuscular Disorders, 1991; 2, 371-8.
11. Bresolin, N., Castelli, E., Cami, G.P. et al. Cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy. Neuromuscular Disorders, 1994; 359-69.
12. Buckle VJ, Guenet JK, Simmon-Chazottes D et al: Localization of a dystrophin related autosomal gene to 6q 24 in man and to mouse chromosome 10 in region of the dystrophin muscularis locus. Hum Genet 1993; 85: 324.
13. Bushby KM, Appleton R, Anderson LV. Deletion status and intellectual impairment in Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol 1995 Mar; 37: 260-9
14. Bushby KMD, Thambyayah M, Gardner-Medwin D: Prevalence and incidence of Becker muscular dystrophy. Lancet 337: 1022, 1991.
15. Angelini C, Fanin M, Fredo MP et al. Prognostic factors in mild dystrophinopathies J. Neurol Sci 1996; 142: 70-8.
16. Bushby KMD, Gardner-Medwin D: The clinical, genetic and dystrophin characteristics of Becker muscular dystrophy. J Neurol 240: 98, 1993.
17. D'Amore, P.A., Brown, R., Ku, P.t. et al. (1994) Elevated Levels of bFGF in the Serum of Patients with Duchenne Muscular Dystrophy. Annals of Neurology, 35, 362-5. .
18. D'orsogna L, O'shea JP, Miller G: Cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. Pediatr. Cardiol. 1988; 9: 205
19. Dinçer P, Topaloğlu H, Ayter Ş. Molecular deletion patterns in Turkish Duchenne and Becker muscular dystrophy patients. Brain Development 1996; 18: 91-94.
20. Dubowitz, V & Crome, L.. The central nervous system in Duchenne muscular dystrophy. Brain, 1969; 92: 805-8.
21. Emery AEH, Skinner R: Clinical studies in benign (Becker type) X-linked muscular dystrophy. Clin Genet 1976; 10: 189.
22. Emery AEH: Duchenne Muscular Dystrophy, 2 nd ed . New York, Oxford University Press, 1993

23. Engel GA, Yamato M, Fishbeck K. Muscular Dystrophies in: Myology ed: Engel GA, Armstrong CF, 1994; p: 1133-1187.
24. England S, Nicholson LVB, Johnson MA et al: Very mild muscular dystrophy associated with the deletion of 46% of dystrophin. *Nature* 1989; 343: 180
25. Errvasti JM, Ohlendic K, Kohl SD: Deficiency of a glycoprotein component of the dystrophin complex in dystrophic muscle. *Nature*, 1990; 345:315.
26. Fiez, J. A., Petersen, S.E., Cheney, M.K. & Raichle, M.E. Impaired non-motor learning and error detection associated with cerebellar damage. *Brain*. 1992; 115; 155-78.
27. Fukunaga H, Sonado Y, Atsuchi H, et al. Respiratory failure and its care in Duchenne muscular dystropie. *Clin Neurol*, 1991; 31:154.
28. Gorospe JRM, Nishikawa BK, Hoffman EP. Pathophysiology of dystrophin deficiency: a clinical and biological enigma. In *Dystrophin*, edd Brown SC, Lucky JA Cambridge CambridgeUniversity press 1997; pp 201-232
29. Gorospe, J.R.M., Tharp, M.D., Hinckley, J. Et.al. A Role for Mast Cells in the Progression of Duchenne Muscular Dystrophy? Correlations in Dystrophin-Deficient Humans, Dogs and Mice. *Journal of the Neurological Sciences*, 1994; 122, 44-56
30. Gökgöz N, Kuseyri F, Topaloğlu H. Screening of deletion and RFLP analysis in Turkish DMD/BMD families by PCR. *Clin Genet* 1993; 43:261-266
31. Görecki DC, Barnard EA. Expression of the dystrophin complex in the brain. In: *Dystrophin* edd: Brown SC Lucky JA. Cambridge University Press, 1997; 105-138.
32. Hoogerward EM, Vooght WG, Wilde AA, et al. Evolution of cardiac abnormalities in Becker muscular dystrophy over a 13 year peiod. *J Neurol* 1997; 244: 657-663
33. Hoffman, E.P. & Gorospe, J.R.M The Animal Models of Duchenne Muscular Dystrophy: Windows on the Pathophysiological Consequences of Dystrophin Deficiency. In *Current Topics in Membranes*, Vol. 38. Ordering the Membrane-Cytoskeleton Trilayer, eds. J. Morrow & M. Mooseker, .1991 pp. 113-54. New York: Academic Press.
34. Jagadha, V. & Becker, L.B.. Brain morphology in Duchenne muscular dystrophy a Golgi study. *Pediatric Neurology*, 1988 4, 87-92.
35. Kaminski HJ, Al-Hakim M, Leigh RJ et al: Extraocular muscles are spared in advanced Duchenne dystrophy. *Ann Neurol*, 1992; 32: 586.
36. Karpati, G., Carpenter S., Morris, G.E. et al. Localization and Quantitation of the Chromosome 6-Encoded Dystrophin-Related Protein in Normal and Pethological Human Muscle. *J. Neuropathol. Exp. Neurol*, 1993; 52:119.
37. Kekou K, Mavrou A, Florentin L, et al. Screening for minor changes in the distal part of the human dystrophin gene in Greek MDM/BMD patients. *Eur J Hum Genet* 1999 7(2): 179-87.
38. Klamut HJ, Gangopodhyoy DB, Wortan RG. Moleculer and functional analysis of the muscle spesific promoter region of the Duchenne musculer dystrophy gene. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 193-205.
39. Koido M, Aroholo K, Hoffman EP et al. Muscle histology in Becker muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 1991; 14: 1067.
40. Lindlof M, Kiuru A, Kaariainen H, et al. Gene deletions in X-linked muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 1989, 44(4): 496-503.
41. Lucotte G, David F, Levy C. Molecular deletion pattenrs in Duchenne muscular dystrophy patients. *Ann Genet* 1989; 32(4): 214-9.
42. Matsumura K, Tome FMS, Ionasesscu V et al: Deficiency of dystrophin associated proteins in Duchenne muscular dystrophy patients lacking the COOH-terminal domains of dystrophin, *J Clin Invest* 92: 866, 1993.
43. Mc Douall R.M., Dunn M.J. & Dubowitz, V.. Nature of the Mononuclear Infiltrate and the Mechanism of Muscle Damage in Juvenile dermatomyositis and Duchenne Muscular Dystrophy . *Journal of the Neurological Sciences*, 1990; 99: 199-217.
44. Melacini, P., Fanin, M., Danieli, G.A., et al. Cardiac Involvement in Becker Muscular Dystrophy . *J. Am. Coll Cardiol* 1993 Dec; 22(7): 1927-34.

45. Melo M, Lauriano V, Gentil V. Becker and limb-girdle muscular dystrophies: a psychiatric and intellectual level comparative study. *Am J Med Genet* 1995 Feb 27; 60 (1): 33-8
46. Mineo Y., Minota S., Sakurai H. et al. Expression of Transforming Growth Factor β 1 and Its Relation to Endomysial Fibrosis in Progressive Muscular Dystrophy. *American Journal of Pathology*. 1994; 144: 221-6.
47. Monaco AP, Nerve RL, Collecto C, et al. Isolation of candidate cDNAs for portions of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Nature* 1986; 323: 646-650.
48. Motosuo M, Duchenne/Becker muscular dystrophy: from molecular diagnosis to gene therapy. *Brain & Development*. 1996; 18: 167-172.
49. Mukoyama M, Kondo K, Hizawa K et al: Life spans of Duchenne muscular dystrophy patients in the hospital care group in Japan. *J Neurol Sci* 81: 155, 1987.
50. Nicholson LVB, Johnson MA, Bushby K. Integrated study of 100 patients with Xp21 linked muscular dystrophy using clinical, genetic, immunochemical and histopathological data. Part 1. Trends across the clinical groups. *J Med Genet* 1993; 30: 728-736.
51. Nigro, V., Nigro, G., Esposito, M.G. et al. Novel small mutations along the DMD/BMD gene associated with different phenotypes. *Human Molecular Genetics*, 1994; 3: 1907-8
52. Niemann-Seyde S, Slomski R, Rinisland F et al: Molecular genetic analysis of 67 patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Hum Genet* 1992. 90: 65
53. North KN, Miller G, Iannaccane S, et al. Cognitive dysfunction as the major presenting feature of Becker's muscular dystrophy. *Neurology* 1996; 46: 461-465.
54. Politano L, Nigro v, Nigro G, et al. Development of Cardiomyopathy in Female Carriers of Duchenne and Becker Muscular Dystrophies. *JAMA*, 1, 1996; 1335-38.
55. Rapaport, D., Passos-Bueno, M.R., Brandao, L. et al. Apparent association of mental retardation and specific patterns of deletions screened with probes cf56a and cf23a in Duchenne muscular dystrophy. *American Journal of Medical Genetics*, 1991; 39, 437-41.
56. Rapaport, D., Passos-Bueno, M.R., Takata, R.I. et al. A deletion including the brain promoter of the Duchenne muscular dystrophy gene is not associated with mental retardation. *Neuromuscular Disorders*, 1992; 2, 117-20.
57. Saito M, Kawai H, Akaike M, et al. Cardiac dysfunction with Becker muscular dystrophy. *American Heart Journal*. 1996; 132(3): 642-647.
58. Sanyol SK, Johnson WW. Cardiac conduction abnormalities in children with Duchenne's progressive muscular dystrophy: Electrocardiographic features and morphologic correlates. *Circulation* 1982; 66:857.
59. Samaha FJ, Quinlan JD. Dystrophinopathies: clarification and complication. *J Child Neurol* 1996; 11:13-20
60. Sestic J, Barisic N, Sostarko M, et al. Deletion screening of the Duchenne/Becker muscular dystrophy gene in Croatia population. *Coll Antropol* 1997 21(1): 151-6
61. Septien, L., Gras, P., Borsotti, J.P. et al. Mental development in Duchenne muscular dystrophy. Correlation of data of the brain scanner. *Pediatric*, 1991; 46, 817-19.
62. Specht LA, Shapiro F. Boys with Duchenne and Becker muscular dystrophy are clinically distinguishable of presentation. *Ann Neurol*. 1990; 28: 443.
63. Steare, S.E., Dubowitz, V., Benatar, A. Subclinical Cardiomyopathy in Becker Muscular Dystrophy. *Br. Heart J*. 1992; 68(3): 304-8.
64. Towbin JA, Hejtmanick JF, Brink P et al: X-linked dilated cardiomyopathy. Molecular genetic evidence of linkage to Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation* 87: 1854, 1993.
65. Tracey I., Scott R.B., Thompson, C.H. et al. Brain abnormalities in Duchenne muscular dystrophy phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy and neuropsychological study. *Lancet*, 1995; 345, 1260-4.
66. Walton JN: the inheritance of muscular dystrophy: Further observations. *Ann Hum Genet*, 1995; 21: 40.
67. Winder SJ, Knight AE, Kendrick-Jones J. Protein structure In: *Dystrophin*, ed: Brown SC, Lucky JA, 1997 Cambridge University Press pp 27-55

68. Winnard AV, Klein CJ, Covert DD et al: Characterization of translational frame exception patients in Dchnenne/Becker muscular dystrophy. Hum Mol Genet 2: 737, 1993.
69. Yazaki M, Nakamura A, Yoshida K Correlation of cardiac muscle involvement and the dystrophin gene abnormality in Becker muscular dystrophy Nippon Rinsho 1997 Dec; 55: 3142-7)
70. Yoshida K, Ikeda S, Nakamura A and et al. Molecular analysis of the Duchenne muscular dystrophy gene in patients with Becker muscular dystrophy presenting with dilated cardiomyopathy. Muscle Nerve 1993; 16(11): 1161-6.
71. Yoshioka M, Okuno T, Honda Y et al: Central nervous system involvement in progressive muscular dystrophy. Arch Dis Child 1980 55: 589,
72. Zatz M, Vianna-Morgante AM, Campos P et al: Translocation (X0) in a female with Duchenne muscular dystrophy: Implications for the localization of the DMD locus J Med Genet 18: 442, 1988

