

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**İKİ YAŞTAN KÜÇÜK DUCHENNE MUSKÜLER DİSTROFİ TANISI
ALAN ÇOCUKLARIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ**

**DR. DAMLA KAZAR AĞAÇKIRAN
UZMANLIK TEZİ**

ANKARA

2019

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**İKİ YAŞTAN KÜÇÜK DUCHENNE MUSKÜLER DİSTROFİ TANISI
ALAN ÇOCUKLARIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ**

**DR. DAMLA KAZAR AĞAÇKIRAN
UZMANLIK TEZİ**

ANKARA

2019

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyesi olan tez danışmanım çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Haluk TOPALOĞLU'na çalışmanın oluşmasında, içeriğinin düzenlenmesinde ve tez sonuçlarının yorumlanmasında akademik bilgi ve deneyimleri ile katkıda bulunduğu, çalışma boyunca bana destek olduğu ve bana her daim bilimin ışığıyla yol gösterdiği için tüm samimiyetimle teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazımı aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Öğretim Üyesi Dr. İbrahim Öncel ve Dr. Ceren Günbey'e,

Bu çalışmada beni destekleyen bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocaları Prof. Dr. Aynur Ayşe Karaduman ve Prof. Dr. Ergun Karaağaoğlu'na,

Yetişmemde emeği olan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan sevgili eşim ve aileme saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Damla Kazar Ağaçkiran

Ağustos, 2019

ÖZET

Kazar Ağaçkiran D.2019. İki yaştan küçük Duchenne muskülerdistrofi tanısı alan çocukların klinik özellikleri

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Çocuk Nöroloji Bilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Ankara.

Amaç: Duchenne muskülerdistrofi (DMD) 3600-6000 canlı erkek doğumda bir görülen, Xp21 geninde delesyon, duplikasyon veya diğer mutasyonlar sonucunda distrofin sentez bozukluğunun neden olduğu, kas lifi dejenerasyonu ile giden, kalıtsal ve progresif bir hastalıktır. DMD'li erkek çocuklarının ilk bebeklik döneminde miyopatinin histolojik ve laboratuvar (kreatin kinaz yüksekliği) göstergeleri varsa da klinik olarak asemptomatiktir. İlk 2 yılda kaba motor alanda gelişim geriliği görülür. Belirtiler 3-5 yaşta farkedilir hale gelir. İlerleyen yıllarda lomber lordozda belirginleşme, gastroknemius psödohipertrofisi gibi bulgular ortaya çıkar. Ortalama tanı 3-5 yaşta konabilir. Çalışmamızda 2 yaş altında tanı alan hastaların klinik özellikleri incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nöroloji Bilim Dalı'nda 15 Şubat-15 Haziran 2019 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

Hastanemizde Ocak 2014-Ocak 2019 tarihleri arasında 2 yaş altı, DMD tanısı genetik incelemeler ile konulan (çoklu ligasyon-bağımlı prob amplifikasyon, polimeraz zincir reaksiyonu ve distrofin gen sekanslaması) hastalar belirlendi. Hastalar tanı yaşları, başvuru nedenleri, başvuru anındaki fizik muayene bulguları, kaba-motor, dil ve bilişsel-sosyal alandaki gelişimleri, prenatal, natal, postnatal dönemdeki klinik özellikleri, kreatin kinaz (CK) düzeyi ve karaciğer fonksiyon testleri, anne ile baba arasında akrabalık olup olmadığı, annede ve annenin akrabalarında hastalık öyküsü açısından gözden geçirildi.

Bulgular: Çalışmaya ortalama $41,54 \pm 20,32$ ay (6-113 ay) arasında 127 DMD tanılı çocuk dahil edilmiştir. Çocukların tanı yaşı $14,5 \pm 6,5$ ay (5 gün-24 ay)

arasında değişmekteydi. Çocukların tanı anındaki doktora başvuru sebepleri %84,3'ü (n=107) tesadüfen bakılan CK değerinde yükseklik saptanması, %7,1'i (n=9) yürümede gecikme, %3,1'i (n=4) karaciğer enzimlerinde yükseklik, %3,1'i (n=4) ailede DMD öyküsü olarak belirlendi. Çocukların tanı aldıkları sırada %6,3'ünde (n=8) yaşına göre konuşmasında gerilik yine aynı oranda kaba motor alanda da gerilik tespit edildi. Çocukların tamamında genetik mutasyon çalışılmış olup %78'inde (n=99) delesyon, %3,9'unda (n=5) duplikasyon, %14,1'inde (n=18) nokta mutasyon saptanmış, %3,9'unda (n=5) ise mutasyon saptanamamıştır. Çocukların %4,7'sine (n=6) kas biyopsisi yapılarak tanı verildi. Annede DMD taşıyıcılığı incelendiğinde tüm annelerin %4'ünde (n=5) DMD taşıyıcılığı tespit edildi.

Sonuç: İki yaş altında DMD tanısı alan çocuk sayısı artış göstermektedir. Bu özellikte olan çocuklar yaklaşmakta olan genetik kökenli yeni tedavi protokolları için uygun bir veri tabanı oluşturabilirler, zira günümüzde bu tür araştırmalar genelde 5 yaştan büyük çocuklarda yapıldığından daha küçük yaş için yeterli deneyim yoktur ya da sınırlıdır.

Anahtar kelimeler: Duchenne musküler distrofisi, CK yüksekliği, musküler distrofi

ABSTRACT

Kazar Aaçkiran D.2019. Clinical features of children diagnosed with Duchenne muscular dystrophy under two years

Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Thesis in Pediatrics, **Ankara.**

Aim: Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a hereditary and progressive disease of muscle fiber degeneration caused by deletion, duplication or other mutations in the Xp21 gene, occurring one in 3600-6000 live male births. Although there are histological and laboratory (creatine kinase) indicators of myopathy in infancy in boys with DMD, they are clinically asymptomatic. In the first 2 years of life delayed gross motor development is encountered. Symptoms become noticeable at 3-5 years of age. In later years, signs such as prominent lumbar lordosis and gastrocnemius pseudohypertrophy appear. The average diagnosis can be made at 3-5 years. In this study, clinical features of patients diagnosed under 2 years of age were examined.

Materials and Methods: This study was carried out at Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Child Health and Diseases, Department of Child Neurology between 15 February and 15 June 2019, retrospectively from medical charts.

Between January 2014 and January 2019, patients under 2 years of age diagnosed with DMD (multiple ligation-dependent probe amplification, chromosome microarray and dystrophin gene sequencing) were identified in our hospital. Patients' age at diagnosis, reasons for evaluation, physical examination findings at the time of evaluation, gross motor development, speech and cognitive-

social development, prenatal, natal, postnatal clinical characteristics, creatine kinase (CK) level and liver function tests, and family history.

Results: 127 patients with a diagnosis of DMD between 41.54 ± 20.32 months (6-113 months) were included in the study. The age of diagnosis ranged from 14.5 ± 6.5 months (5 days-24 months). At the time of diagnosis 84.3% (n = 107) incidentally had elevated CK value, 7.1% (n = 9) had delayed walking, and 6.3% (n = 8) of the patients had delayed speech skills. Genetic mutation was studied in all patients with 78% (n = 99) deletions, 3.9% (n = 5) duplication, 14.1% (n = 18) point mutations, whereas in 3.9% (n = 5) mutation could not be detected. The diagnosis was made by muscle biopsy in 4.7% (n = 6) of the patients. DMD carriage was detected in 4% (n = 5) of all mothers.

Conclusion: CK elevation in blood is a valuable parameter for the early diagnosis of DMD. New treatment modalities are under development are promising for DMD. Thus, the age of diagnosis becomes more important. Early diagnosis may lead to early interventions and treatment as well as genetic counselling.

Keywords: Duchenne muscular dystrophy, increased CK, muscular dystrophy

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİL-RESİM DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇLAR.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. MuskülerDistrofi.....	3
2.1.1.Distrofinopatiler.....	3
2.1.1.1.Duchenne MuskülerDistrofi.....	8
2.1.1.2.Becker MuskülerDistrofi.....	12
2.1.1.3. Tanısal tetkikler.....	12
2.1.1.4. Tedavi Yöntemleri.....	15
2.1.1.5. Rehabilitasyon.....	20
2.1.1.6. İntermitan form.....	21
2.1.1.7 DMD ilişkili Dilate Kardiyomiyopati.....	22
2.1.1.8 Myoglobinuri İle Giden Kas Krampları.....	22
2.1.1.9 Kadın DMD/BMD taşıyıcıları.....	22
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	23
4.BULGULAR.....	24
5.TARTIŞMA.....	29
6.SONUÇLAR.....	36
7.KAYNAKLAR.....	38
8.EKLER.....	45
Ek.1. Çalışma vaka kayıt formu.....	45
Ek.2. Etik Kurul Onay Formu.....	46

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAV	Adeno-assosiy� viral vektör
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
AV	Atriyovenriküler
BMD	Becker muskülerdistrofi
CK	Kreatin kinaz
CPISPRs	Kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats)
DMD	Duchenne muskülerdistrofi
DMPK	Distrofi myotonik protein kinaz
DUX4	Double homebox protein 4
DRP	Distrofin ilişkili protein
EDMD	Emery dreifus musk�lerdistrofisi
FSHD	Fasioskapulohumeral musk�lerdistrofisini
GGG	Global gelişme geriliği
KDa	Kilodalton
KMD	Konjenital muskülerdistrofi
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1(insulin like growth factor-1)
LDH	Laktat dehidrogenaz
LGMD	Limb girdle muskülerdistrofi
MLPA	Multipleks ligasyon prob amplifikasyonu
TNF-a	Tümör nekrosis faktör-alfa
IFN-gamma	İnterferon gamma
IL-4	İnterlökin-4
IL-10	İnterlökin-10

TABLolar DİZİNİ**Sayfalar**

Tablo 1. DMD'li çocukların tanı anında doktora başvuru nedenleri.....	37
Tablo 2. Genetik analizler.....	38
Tablo 3. Genetik mutasyonlar.....	38
Tablo 4. Delesyon sıklıkları.....	39
Tablo 5. Nokta mutasyonları.....	39
Tablo 6. Takipteki çocukların gelişim durumları.....	40

ŞEKİL-RESİM DİZİNİ	Sayfalar
Şekil 2.1. Distrofin-glikoprotein kompleksi.....	16
Şekil 2.2.Utrofin ilişkili protein kompleksi.....	20
Resim 2.1. DMD progresyonu 2 yaşta bulgular hafif, 8 yaşında belirgin lumbar lordoz, 15 yaşında ilerleyen skolyoz ve tekerlekli sandalyeye bağımlı.....	21
Resim 2.2. Gower's bulgusu.....	22
Resim 2.3. Distrofinopati. İmmünohistokimyasal boyamada (İHK).....	26
Resim 5.1 DMD'de genetik tanı algoritması.....	45

1.GİRİŞ – AMAÇ

Musküler distrofiler kasın yapısal proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkan iskelet kasının progresif dejenerasyonu sonucu gelişen güçsüzlük ile karakterize kalıtsal hastalıklardır.

Musküler distrofilerin en sık görülen formu olan distrofinopatiler, Duchenne musküler distrofi (DMD), Becker musküler distrofi (BMD), X'e bağlı dilate kardiyomyopati, kas krampları ile giden myoglobini, klinik bulgu veren ve vermeyen kadın taşıyıcılar şeklinde sınıflandırılır. Distrofinopatiler X kromozomuna bağlı genetik geçiş ile kalıtılır. X kromozomunun kısa kolundaki Xp21 lokusunda distrofin proteinini kodlayan *DMD* geninin delesyon, duplikasyon veya nokta mutasyonları sonucunda distrofin sentez bozukluğu meydana gelir [1-5]. Distrofin eksikliği kas liflerinde dejenerasyon ve nekroza neden olurken, kas lifleri zaman içinde yerini bağ ve yağ dokusuna bırakır.

Duchenne musküler distrofisi 3600-6000 canlı erkek doğumda bir görülür [2]. Etkilenen çocuklarda özellikle kaba motor gelişim basamaklarında gerilik görülür. Hastaların çoğunda erken çocukluk döneminde parmak ucunda yürüme, güçsüzlük, merdiven çıkmada zorluk gibi bulgular vermeye başladığında DMD'den şüphelenilir ve bu hastalar ortalama 4-5 yaş civarında tanı alırlar [6]. Progresif kuvvet kaybı ile seyreden DMD hastalarında ambulasyon genellikle ergenlik döneminde yitilir ve çocuk tekerlekli sandalyeye bağlı hale gelir. Hastalık ilerledikçe, solunumsal, kardiyak ve ortopedik problemler ortaya çıkar. Olguların %75'i solunum yetmezliği, %20'si kalp yetmezliği, geri kalanı da pnömoni, pulmoner emboli, kalp ritim problemleri nedeniyle kaybedilmektedir. Hastalarda ortalama ölüm yaşı 19'dur. [2, 7]

Motor gerilikle birlikte bilişsel fonksiyonların da etkilendiği bilinmektedir [5]. DMD'li çocuklarda bilişsel ve sosyal alanda gerilik, dikkat dağınıklığı, öğrenme güçlüğü ve davranış problemleri ile 2-3 yaş civarında bulgu vermektedir. Ortalama tanı yaşından yaklaşık olarak 3 yıl önce bilişsel fonksiyonlarda bozulmaların tespit edilebildiği bilinmektedir [4].

DMD'nin erken teşhisi hastaların takip ve tedavisinde önemlidir. Genetik danışmanlık verilmesi, erken dönemde fizik tedavi ve rehabilitasyona başlanması, mutasyona özgü tedaviler ve yakın gelecekte beklenen gen tedavileri için erken tanı büyük önem taşımaktadır. Ancak son 30 yılda DMD'li hastaların tanı yaşında herhangi bir gerileme kaydedilmediği gösterilmiştir [1, 4, 7-9]. Ailede DMD öyküsü olmayan hastaların semptomlar ortaya çıktıktan bir yıl sonra ilk kez bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirildiği, bu değerlendirmeden ortalama bir yıl sonra nöromusküler uzman tarafından muayene edildiği ve tanı yaşının ortalama 4.9 yıl olduğu görülmüştür [4]. Vry ve arkadaşlarının çalışmasında ise semptomların ortaya çıkmasından bir nöromusküler uzman tarafından değerlendirilip tanı konulmasına kadar geçen sürenin 1 yıl olduğu saptanmıştır [10].

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Nöroloji Bilim Dalı'nda Ocak 2014 ile Ocak 2019 tarihleri arasında takip edilmiş, 2 yaş altında tanı almış olan DMD hastalarının demografik ve klinik özellikleri değerlendirilmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Musküler Distrofi:

Distrofi terimi, Yunanca'da beslenme anlamına gelen *trophe* kelimesinden köken alır ve anormal büyümeyi ifade eder. Tarihsel olarak kas distrofisi terimi kasta fibrozis, kas lifi boyutlarında değişiklik ve kas çekirdeğinin anormal yerleşimi gibi histopatolojik değişikliklere neden olan genetik kökenli ilerleyici miyopatileri tanımlamak için kullanılmıştır. Musküler distrofiler ekstrasellüler matriks proteinlerini, transmembran ve membran ilişkili proteinleri, sitoplazmik enzimler ve nükleer matriks proteinlerini kodlayan genlerin mutasyonu sonucu ortaya çıkan heterojen bir hastalık grubudur [11].

Musküler distrofiler distrofinopatiler (DMD, BMD), Fasioskapulohumeral Musküler Distrofi (FSHD), Limb Girdle Musküler Distrofi (LGMD), Emery Dreifus Musküler Distrofi (EDMD), konjenital musküler distrofiler ve miyotonik distrofiler şeklinde sınıflandırılır.

2.1.1.Distrofinopatiler:

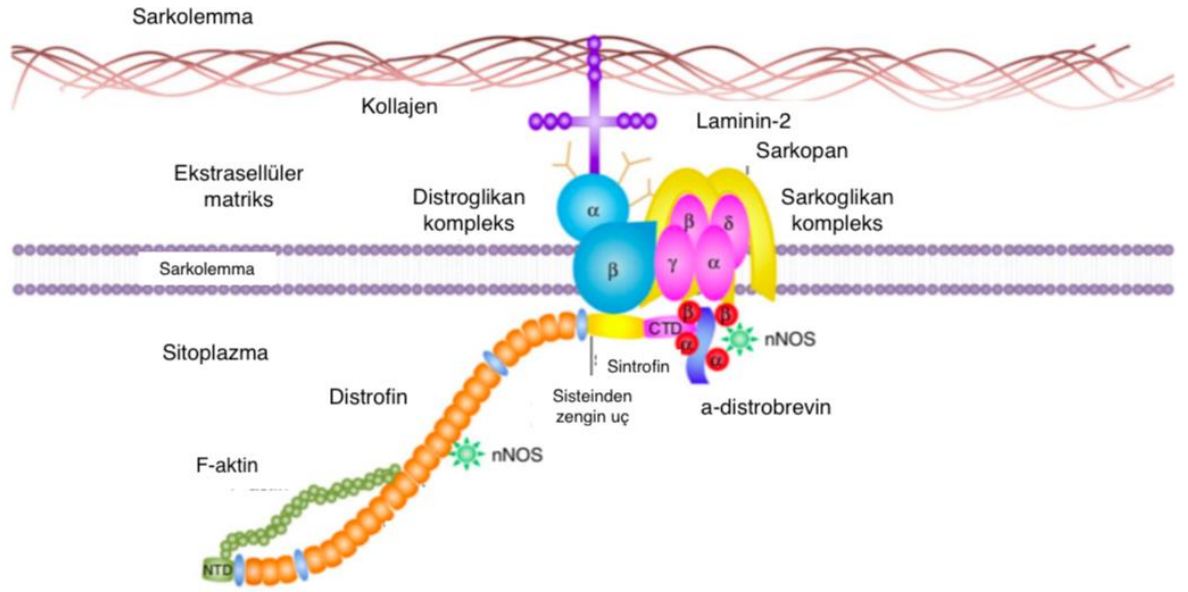
Distrofinopatiler DMD, BMD, ara formu, asemptomatik CK yüksekliği, kas krampları ile giden myoglobinuri, DMD ilişkili dilate kardiyomyopati ve DMD/BMD taşıyıcılığı olmak üzere 7 farklı alt grup içerir. En ağır tipi DMD'dir.

DMD geni Distrofin proteininin sentezinden sorumlu olan, X kromozomunun kısa kolunda Xp21.2 bölgesinde 79 ekzondan oluşan insanda tanımlanmış en büyük gendir.

Distrofinin 4 fonsiyonel bağlantı noktası vardır; Amino ucu (ekzon 1-8), çubuk uç (ekzon 9-63), sisteinden zengin uç (ekzon 64-69) ve hücre iskeletinde bulunan ve hücre dışı protein kompleksleri ile iletişim sağlayan proteinlere bağlanan karboksi ucu (ekzon 70-79).

Distrofin kas hücre zarında (sarkolemma) glikoproteinlerle kompleks oluşturarak hücre membranını stabilize eder [12]. Distrofin aynı zamanda aktin ve

intermediate filamenleri ve mikrotübülleri transmembran komplekse bağlar. Distrofin büyük bir protein olup tüm distrofinle bağlantılı proteinlere distrofin ilişkili proteinler ya da distrofin glikoprotein kompleks ismi verilir. Distrofin glikoprotein kompleks distroglikan, sarkoglikan ve sintrofin/distrobrevinden oluşur. Distroglikan α -distroglikan ve β -distroglikan proteinlerinden, sarkoglikan α -sarkoglikan, β -sarkoglikan, γ -sarkoglikan, δ -sarkoglikan ve sarkospan proteinlerinden, sintrofin/distrobrevin α -sintrofin, β 1-sintrofin, β 2-sintrofin, α -distrobrevin, β -distrobrevin proteinlerinden oluşur [13] (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Distrofin-glikoprotein kompleksi [14]

Distrofin eksikliğinde, distrofin glikoprotein kompleksi ve diğer bağlantılarla birlikte sarkolemanın stabilizasyonu bozulur, kasılmaya bağlı oluşan mekanik stres sarkolemaya hasar verir ve kas liflerinde dejenerasyon ve nekroza oluşur. Ekstrasellüler matris laminin, kollajen, fibronektin ve proteoglikanlar gibi birçok önemli proteini bünyesinde barındırır. Distrofin glikoprotein kompleks, sarkolemayla bu proteinler arasında köprü görevi görür.

Distrofin proteininin *DMD* geninin farklı promotör bölgelerinden sentezlenen farklı ağırlıktaki izoformları vardır. Beyin, kas ve purkinje hücrelerinde sentezlenen distrofinler yaklaşık 427 kilodalton (kDa), glial hücrelerdeki 71 kDa, schwann hücrelerindeki 116 kDa, retinadaki 260 kDa ağırlığındadır. [15] Bazı distrofin izoformlarının eksikliği ya da azlığı klinik bulgularla ilişkilendirilmiştir. 427 kDa ağırlığındaki izoform eksikliğinde daha çok nöromusküler tutulumdan sorumlu olan iken, Dp140 ve Dp71 izoformları bilişsel fonksiyonlarda bozulmadan sorumludur [16]

Distrofin beyinde en fazla neokorteks ve hipokampüste bulunmakta, serebellar distrofinin çoğunu purkinje hücrelerinden üretilenler oluşturur [17]. Distrofin çizgili kasta ağırlıklı olarak nöromusküler ve miyotendinöz kavşakta bulunur. Kalp kasında, plazma membranında bulunurken hücrelerin birleşme noktalarında yoktur. Düz kaslarda ise diğer kas gruplarına oranla plazma membranında daha az bulunurken, veziküler membranlarda yoğunluktadır [18]. Distrofinin Dp427 izoformu çizgili ve düz kas, serebral korteks, hipokampus ve purkinje hücrelerinde üretilir ve genetik mutasyonlar sonucu ortaya çıkan eksikliğinde DMD hastalığı ortaya çıkar.

DMD ve BMD hastalarında *DMD* geninde en sık görülen mutasyonlar delesyonlardır. DMD'li çocukların %50-65'inde ve BMD'li çocukların %65-70'inde hastalığa genetik delesyonlar neden olur. [19]. Hastaların %5-10'nunda duplikasyon görülür. Delesyon ve duplikasyonlar bir ya da birden fazla ekzonda olabilir. DMD ve BMD'de delesyon ve duplikasyonlar en sık iki 'hotspot' olarak adlandırılan bölgede olur. 'Hotspot' alanları intronların uzun olduğu alanlardır. Bunlardan birincisi genin 5' ucuna yakın olan 3-7 ekzonlar arasındaki mutasyonlardır ve sıklığı yaklaşık olarak %30 oranındadır. İkinci 'hotspot' bölge 44-53 ekzonlar arasındaki mutasyonlardır ve bunlarda yaklaşık olarak %70'ini oluşturur [20]. DMD'li hastaların %20-25'inde nokta mutasyonları (anlamsız, çerçeve kayması, kesme mutasyonları) hastalığa neden olur [21].

Hayvan deneyleriyle distrofin eksikliği olan kas liflerinde kasılmalarla tetiklenen sarkolemmal delinmeler gösterilmiştir. Distrofin ilişkili protein komplekslerinin sarkolemmadaki fonksiyonu normal distrofin sentezine bağlıdır. DMD'li çocuklarda distrofin ilişkili protein komplekslerinde azalma saptanmıştır

[22]. Distrofinde azalma sarkolemmada zayıflığa ve stabilizasyonunun bozulmasına ve bu da kas kasılmaları sırasında plazma membranında yırtıklara sebep olur. Hücre içine kalsiyum akışı başlar ve bu hücre içi proteolitik enzimleri aktive eder. Kademeli olarak şiddetlenen kas nekrozu oluşur [23]. Çalışmalarda kalsiyumun sadece hücre içinde değil sarkolemmal boşlukta da biriktiği, bu durumun sarkolemmadaki hasarı arttırarak kalsiyum girişini kolaylaştırdığı gösterilmiştir [24]. Kalsiyum ikincil mesajcı olarak kas kasılması için gerekli sinyal yolağını aktive eder. Fare deneylerinde hücre içi kalsiyum artışının proinflammatuar nükleer faktör kappa B (NF-kb)'yi aktive ettiği ve nöronal nitrik oksit sentetaz üretimini azalttığı gösterilmiştir [25]. Nitrik oksit vazodilatasyona neden olarak egzersiz sırasında kaslarda kan akışını arttırır ve erken yorulmaya engel olur. Nitrik oksit üretilmediğinde egzersizin erken dönemlerinde yorgunluk meydana gelir [25].

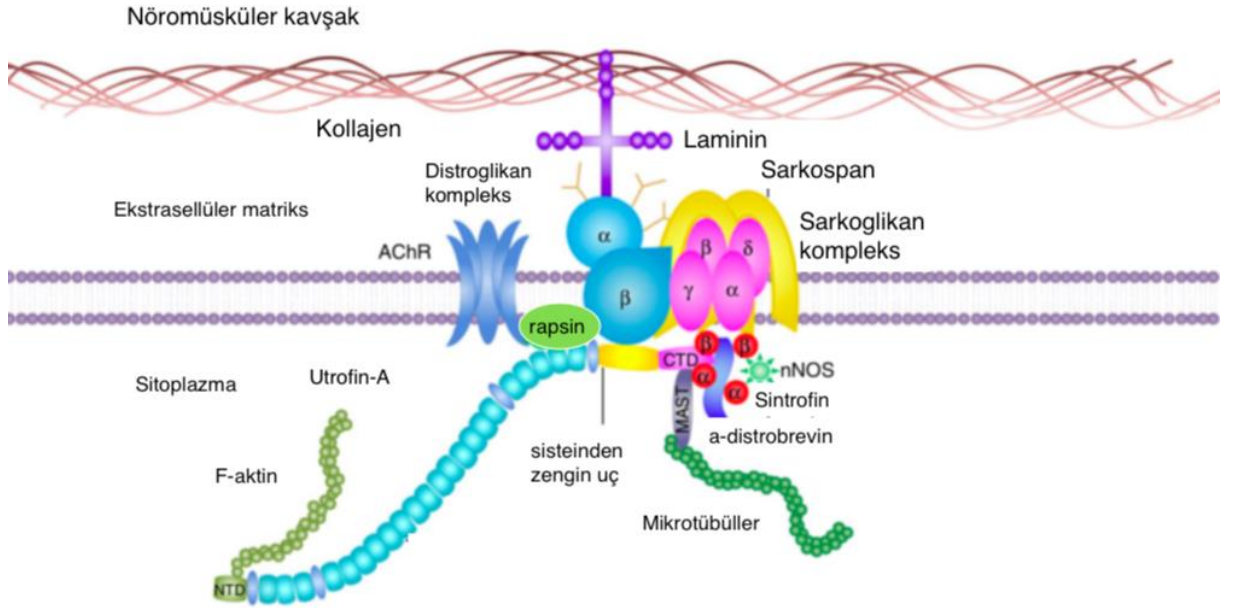
Hasarlı kaslardan inflammatuar sitokinler salınır. Bu durum inflamasyonun artmasına ve hastalığın progresyonuna sebep olur. Normal kaslarda yoğun egzersiz sırasında homeostatik sürecin bir parçası olarak geçici bir inflamasyon oluşur ancak distrofik kaslarda bu inflammatuar yanıt daha uzun sürelidir ve kalıcı hasar bırakır. Kasta primer immun yanıtı oluşturan hücreler makrofajlar, nötrofiller ve T lenfositlerdir ve hayvan deneylerinde, hasardan 2-4 hafta sonra dokuda gösterilmişlerdir [26]. Makrofajlar primer immün yanıtı başlatan hücrelerdir. Kas hücrelerinde yıkımı başlatır, proinflammatuar sitokin salınımına sebep olur, proteolitik sistemi aktive eder ve kas rejenerasyonunu inhibe eder [26-29]. Distrofik kasta 2 tür makrofaj vardır. M1 makrofajlar proinflammatuar özellikte olup inflammatuar sitokinler ve nitrik oksit salgılayarak kas yıkımına sebep olurken, M2 makrofajlar anti-inflammatuar özellik gösterip uydu hücre aktivasyonu ile kas rejenerasyonunda görev alır. İnflamasyonun erken dönemlerinde makrofaj aktivasyonu ve inflammatuar sitokin salınımında kas hücrelerinin rolü yokken ilerleyen dönemlerde kas hücreleri tarafından salınan sitokinler uzun süreli makrofaj aktivasyonuna sebep olur. İskelet kaslarından ve M1 makrofajlardan salınan TNF- α ve IFN- γ M1 makrofaj aktivitesini hızlandırarak M1'in M2 makrofaja dönüşümünü engeller, bu da M2 makrofajların görevi olan uydu hücrelerin olgun kas hücrelerine dönüşümünü engeller. IFN-gamma kas liflerinde nekroza sebep olarak distrofik fenotipin ortaya çıkmasına öncülük ederken IL-4 ve

IL-10 ise M2 makrofaj aktivasyonuna öncülük eder. Hayvan çalışmalarında IL-10 verilen distrofinopatili farelerin M2 makrofaj oluşumunu hızlandırdığı ve kas rejenerasyonunu tetiklediği görülmüştür [30].

Hasarlı kas lifleri çevresinde mast hücreleri bulunur. Mast hücre degranülasyonu sonucunda membran yıkımına sebep olan triptaz, karboksipeptidaz, TNF- α ve histamin salınımı olur. Bu faktörler kas nekrozuna öncülük ederler. Hayvan deneylerinde mast hücre degranülasyonu inhibe edilmiş distrofinopatili farelerde kas nekrozunun azaldığı görülmüştür [31].

DMD fare modeli ile yapılan çalışmalarda distrofin eksikliğinde sarkolemanın kas kasılmasıyla hasarlandığı ancak insanlara göre klinik bulguların daha hafif olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmalarda utrofin seviyesinin arttığı, distrofin eksikliğinde artan utrofinin distrofinle benzer görev üstlendiği görülmüştür [32]. Utrofinin farelerde hücre membranında bulunan glikoprotein ve glikolipidlerin yapısına katılarak hasarı azalttığı gösterilmiştir [33].

Utrofin ya da distrofin ilişkili protein (DRP) 395 kDa ağırlığında, 6q24 kromozomunda yer alan distrofin homolog gen tarafından üretilen, yapısal olarak distrofine benzeyen bir proteindir (Şekil 2.2). Utrofin kas sinir ve kan damarı hücre membranında, schwann hücre membranında, uterin düz kas liflerinde ve miyoblastlarda bulunur. Distrofin tüm sarkolemma boyunca yer alırken utrofin iskelet kasında sadece nöromusküler ve miyotendinöz kavşaklarda yer alır [34]. Fetal dönemde utrofin kavşak dışındaki bölgelerde de yer alsa bile ilerleyen dönemlerde yerini distrofine bırakır [35]. Musküler distrofili hayvan modellerinde distrofin eksikliğinde utrofinde kompanse edilebilir bir artış olduğu görülmüştür [36]. DMD'li erkek hastalarda da nöromusküler ve miyotendinöz kavşak dışındaki alanlarda utrofin üretiminin arttığı gösterilmiştir. DMD'li erkeklerde utrofin yükselişinin hastalığın klinik seyrinde hafifletici bir faktör olduğu ve yokluğunda hastalığın daha ilerleyici olabileceği düşünülmektedir. Distrofin ve utrofin eksikliği olan bir vakada DMD'nin daha ağır seyirli ilerlediği görülmüştür [37].



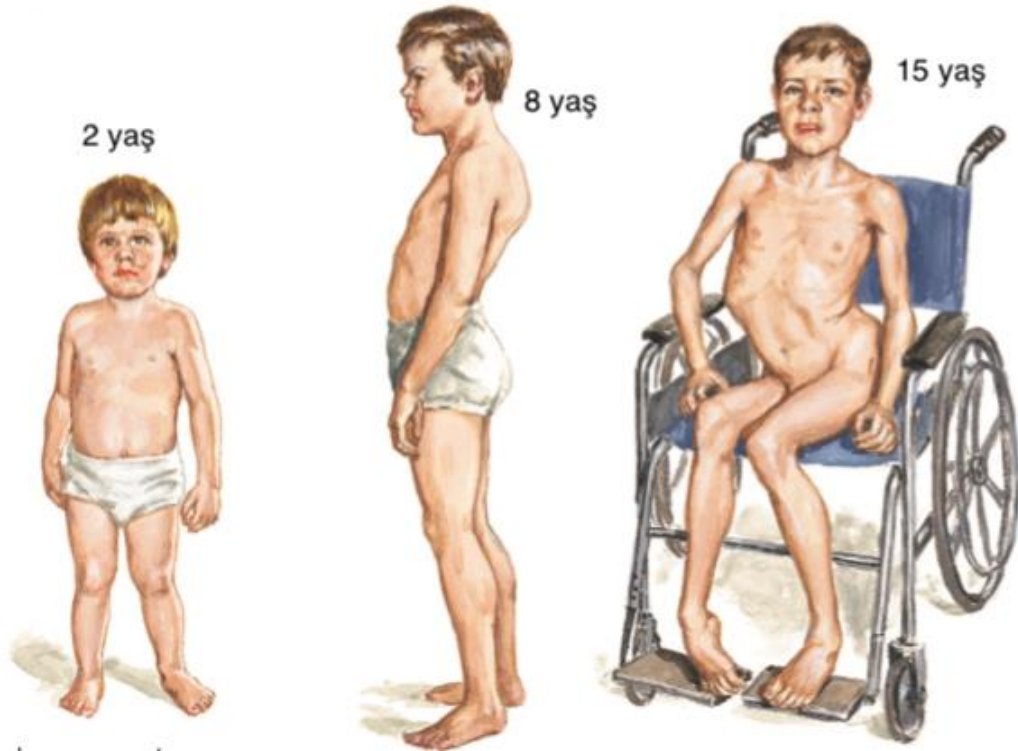
Şekil 2.2. Utrofin [14]

2.1.1.1. Duchenne Musküler Distrofisi:

Progresif musküler distrofiler ilk olarak 1852 yılında Meryon tarafından tanımlanmıştır [38]. 1861 yılında Duchenne DMD'yi serebral sebeplere bağlı hipertrofik parapleji olarak tanımlamıştır. 1868 yılında kas hipertrofisi hastalığının tanı kriterleri arasına eklenmiştir [6]. Kingston ve ark. 1983'te moleküler genetikteki gelişmeler sonrası DMD ve BMD'nin Xp21'deki bir mutasyona bağlı gelişen iki allelik bir hastalık olabileceğini ifade etmişlerdir. Bakker ve ark. 1985'te taşıyıcıların tespiti ve prenatal tanının mümkün olduğunu ortaya koymuşlar, aynı yılda Kunke ve ark. Xp21'deki geniş delesyonu tespit etmişlerdir [12]. Monaco ve ark. ise 1986'da insandaki bilinen en büyük gen olan distrofin genini klonlamayı başarmışlar, bu gelişmenin ardından tedavide ve gen terapisinde birçok çalışma başlatılmıştır [11].

DMD hastalarında doğumda miyopatinin histopatolojik ve laboratuvar (CK yüksekliği) göstergeleri mevcut olsa bile, klinik olarak asemptomatiklerdir. Çocuklarda klinik olarak görülen en sık bulgu ilk 2 yaş içinde kaba motor alanda gelişim geriliğidir. Ortalama yürüme yaşları 18 ay civarındadır. Erken çocukluk döneminde global gelişme geriliği (%42), yürümede gecikme (%20), parmak

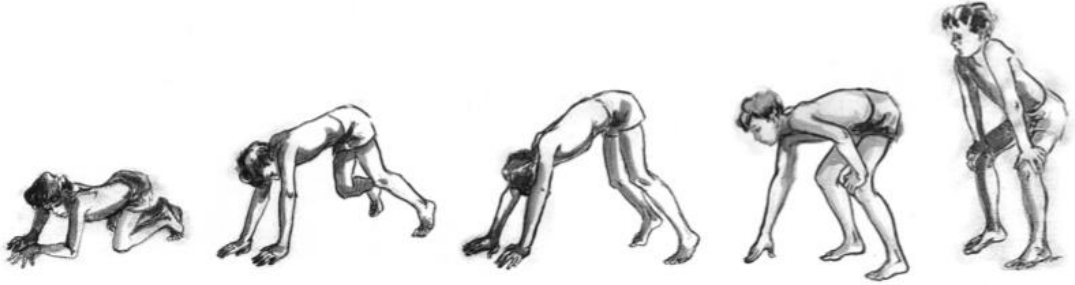
ucunda yürüme ya da düz tabanlık (%30), öğrenme güçlüğü (%5), konuşmada gecikme (%3) sık görülen bulgulardır [39]. Üç yaş civarında semptomlar aileler tarafından farkedilir hale gelir. Hastalar yerden kalkarken, zıplarken, merdiven çıkarken zorluk yaşarlar. 3-6 yaş arasında lomber lordozda belirginleşme, Gower's bulgusu ve gastroknemius psödohipertrofisi gibi bulgular görülür. Ayrıca süt çocukluğu döneminde boy ve ağırlık persantilleri normal olan çocukların erken çocukluk döneminde persentil eğrilerinde gerileme olur.



Resim 2.1. DMD progresyonu: 2 yaşta bulgular hafif iken, 8 yaşında artmış lomber lordoz, 15 yaşında ambulasyon kaybı (Netter koleksiyonu, tıbbi illüstrasyonlar, 2.baskı Elsevier,2013, sayfa 265)

Fizik muayenede gastrokinemius başta olmak üzere kuadriseps, gluteal, deltoid ve de infraspinatus kaslarında hipertrofi görülür, kas dokusunda yağ ve bağ doku birikimi sonucu olan bu duruma psödohipertrofi adı verilir. Alt ekstremitelerde daha fazla etkilenir. Sternokleidomastoid, levator ani, eksternal sfinkter, yüz ve göz kaslarında tutulum olmaz [40, 41]. Gastrokinemius ve soleus kasları ve tibialis posterior kası hastalığın ileri evrelerine kadar diğer kaslara göre daha güçlüdür. Tibialis anterior ve peroneal kaslarda erken dönemde güçsüzlük belirgindir. Bu

güçsüzlük parmak ucunda yürümeye ve ayaklarda pes ekinovarus deformitesine yol açar. Hastalık ilerledikçe derin tendon refleksi azalarak kaybolur. 10 yaşından önce triseps, biceps ve patella refleksi %50 oranında alınmaz. Brakiosefalik refleks daha uzun süre sebat ederken aşıl refleksi hastalığın ilerleyen dönemlerinde bile 1/3 oranında korunmuştur [42].



Resim 2.2. Gower's bulgusu (Julianna Wittre'in çizimleri, Cenevre, İsviçre)

DMD'li hastalarda 6-10 yaş arasında özellikle aşıl tendonunda, iliotibial bantlar ve kalçada olmak üzere %70 oranında eklem kontraktürü gelişir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde dizlerde ve dirseklerde de kontraktürler gelişir. Oniki yaş civarında tekerlekli sandalye bağımlı olurlar. Bu süreçle birlikte daha önce kas kuvvetsizliğine bağlı oluşmaya başlayan vertebra eğriliği, hareket azlığı ve paraspinal kasların progresif zayıflaması ile skolyoz giderek artar. [43].

DMD'li hastalarda kemik mineral dansitesinde azalmaya bağlı olarak kemik kırıkları görülür. Progresif kas güçsüzlüğü, DMD'de oluşan inflamatuvar süreçte salınan sitokinler, kortikosteroid kullanımı ve D vitamini yetersizliği DMDli hastalarda osteoporozun başlıca sebepleri arasındadır. Yaşları 1 ile 25 yaş arasında değişen 378 DMD hastası ile yapılan çalışmada hastaların %21'inde hayatlarının bir döneminde kemik kırıkları olduğu tespit edilmiştir. Bunların en sık sebebi ise düşme olarak belirlenmiştir.[44] Vertebra kırıkları ise %32 oranında olup glukokortikoid tedavisi ile ilişkilendirilmiştir [45].

Zayıflayan solunum kasları ile birlikte 8-9 yaşlarında bozulmaya başlayan solunum fonksiyonları, skolyozun da tabloya eklenmesiyle progresif olarak kötüleşir. Hastaların takibinde solunum fonksiyon testleri değerlendirilerek, gerek olduğu takdirde solunum destek cihazları önerilmelidir. Yapılan çalışmalarda invazif olmayan mekanik ventilatör desteği verilen hastalarda ortanca sağ kalım süresi 27 yaş iken ventilatör desteği verilmeyenlerde 19 yaş olarak saptanmıştır [46].

DMD'li hastalarda dilate kardiyomiopati ve kardiyak iletim defektleri görülebilir. Supraventriküler taşikardi başta olmak üzere aritmi sıklığı artmıştır. Sol ventrikül posterobazal duvarda fibrotik değişiklikler DMD li hastalarda sık görülen bir bulgudur. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde fibrozis artarak sol ventrikül lateral duvarına doğru yayılır. Posterior papiller kasların tutulmasıyla mitral yetmezlik gelişir. DMD'de kardiyak semptomlar 12-14 yaşından sonra başlar. Subklinik ya da klinik kardiyak tutulum DMD/BMD'de %90 oranındadır. DMD'de kardiyak tutulum mortalitenin %20'sinden sorumludur. 328 DMD'li hasta ile yapılan çalışmada hastaların 3'te 1'inde kardiyomiopatinin 14 yaşında, hastaların yarısında 14-18 yaş arası ortaya çıktığı gösterilmiştir [47, 48].

Çalışmalarda DMD'li hastalarda erken dönemde kognitif alanda gecikmenin olduğu görülmüştür. Gelişimin değerlendirilmesi için yapılan standart testlerde süt çocuklarında bilişsel-sosyal ve dil alanlarında gerilik görülme sıklığının yüksek olduğu saptanmıştır [49, 50]. DMD'li hastalarda otizm spektrum bozukluğu, dikkat dağınıklığı ve hiperaktivite bozukluğu, hastalık progresyon gösterdikçe artan oranda obsesif kompulsif bozukluk ve anksiyete bozukluğu görülebilir [51-53]. Bilişsel fonksiyonlarda bozulma distrofin izoformlarından Dp140 ve Dp71 mutasyonlarında daha sıktır. Dp140 ve Dp71 fetal beyinde üretilmeye başlayıp embriyonik dönemden erişkin yaşa kadar artar. Dp71 hipokampus ve serebral korteksteki sinaptik membranlarda, mikrozomlarda ve mitokondride bulunur. Bu iki izoformun ekspresyonundaki azalmayla bilişsel fonksiyonlardaki kayıp arasında anlamlı ilişki bulunmuştur [16].

DMD'li hastalarda gastrointestinal sistem düz kaslarında da tutulum olup intestinal hipomotilite, psödoobstrüksiyon, akut gastroparezi, akut gastrik dilatasyon görülebilir [54]

2.1.1.2. Becker Musküler Distrofi:

BMD distrofinin parsiyel eksikliğine bağlı ortaya çıkan DMD ile aynı genetik yapıya sahip ancak daha hafif seyirli bir hastalıktır. İlk kez 1955 yılında Becker, Kiener ve Walton tarafından DMD'nin daha hafif bir formu olarak tanımlanmıştır [55, 56]. DMD ile karşılaştırıldığında BMD'de klinik bulguların ortaya çıkma yaşı daha geç ve değişkendir. Semptomların görülme yaşı 5-60 yaş arasındadır, ortalama 12 yaş civarında ilk bulgular görülür. Hastaların %50'sinde 10 yaşa kadar, %90'ında 20 yaşa kadar klinik bulgular belirgin hale gelir. Pelvik ve uyluk kasları daha erken tutulur, gastroknemius hipertrofisi eşlik eder ancak tüm hastalarda görülmeyebilir. Proksimal alt ekstremitte kaslarından sonra omuz kuşak kasları da etkilenebilir. Bushby ve arkadaşlarının yaptığı 67 BMD hastasını kapsayan çalışmada hastaların %16,4'ünde proksimal alt ekstremitte kaslarında, %83,6'sında üst ekstremitte kaslarında zayıflık olduğu gösterilmiştir [57]. Skolyoz ve kontraktür gelişimi DMD'ye oranla daha az sıklıktadır. Kardiak tutulum %60-70 oranındadır ve ölümlerin %50'sinden sorumludur. Aritmi açısından dikkatli olunmalıdır [58].

2.1.1.3. Tanısal tetkikler:

Laboratuvar bulguları: CK yüksekliği distrofinopatilerdeki en önemli laboratuvar bulgusudur. CK yaş aralığı ve cinsiyete göre farklılık göstermekle birlikte 0-90 gün arası üst limit 300U/L, 3-12 ay arası 170U/L, 13-24 ay arası 160 U/L olarak belirlenmiştir [59]. Serum CK düzeyi 5 yaş öncesinde BMD'de üst limitin 20-200 katı, DMD'de 50-200 katı kadar artış gösterir. DMD'li bir çocuğun ilk 3 yaş içinde serum CK değeri genellikle üst limitin 10 katına kadar artar. Serum CK düzeyi DMD'nin klinik bulguları ortaya çıkmadan yenidoğan döneminden itibaren yüksektir. 2 ile 3 yaş arası en yüksek seviyeye ulaşır. Sonrasında distrofin eksikliğine bağlı kas yıkımı progresif olarak arttığı için CK düzeyi de azalır [60].

AST ve ALT karaciğer hasarını gösteren testlerdendir. AST hem sitozolik hem de mitokondriyal bir enzim olup, karaciğer, kalp kası, iskelet kası, böbrek, beyin, pankreas, akciğer, lökosit ve kırmızı küreler gibi çok sayıda dokuda

bulunmaktadır. ALT ise sitozolik bir enzim olup karaciğerde en yüksek konsantrasyonda yer almaktadır. Bu enzimlerin serum düzeylerindeki artış, aminotransferazlardan zengin dokulardaki hasara veya bu enzimlerin seruma sızmasına yol açan membran hasarına bağlıdır. AST ve ALT yüksekliği olan hastalar miyopatiyi dışlamak için mutlaka CK bakılmalıdır. Hiçbir klinik bulgu olmaksızın tesadüfen bakılan transaminazların yüksekliğinden yola çıkılarak kas hastalığı erken tanınabilmektedir. Piruvat kinaz, glukoz fosfat izomeraz, enolaz, karbonik anhidraz 3, laktat dehidrogenaz gibi enzimler de BMD ve DMD’de serum düzeyleri artan diğer enzimlerdir [61].

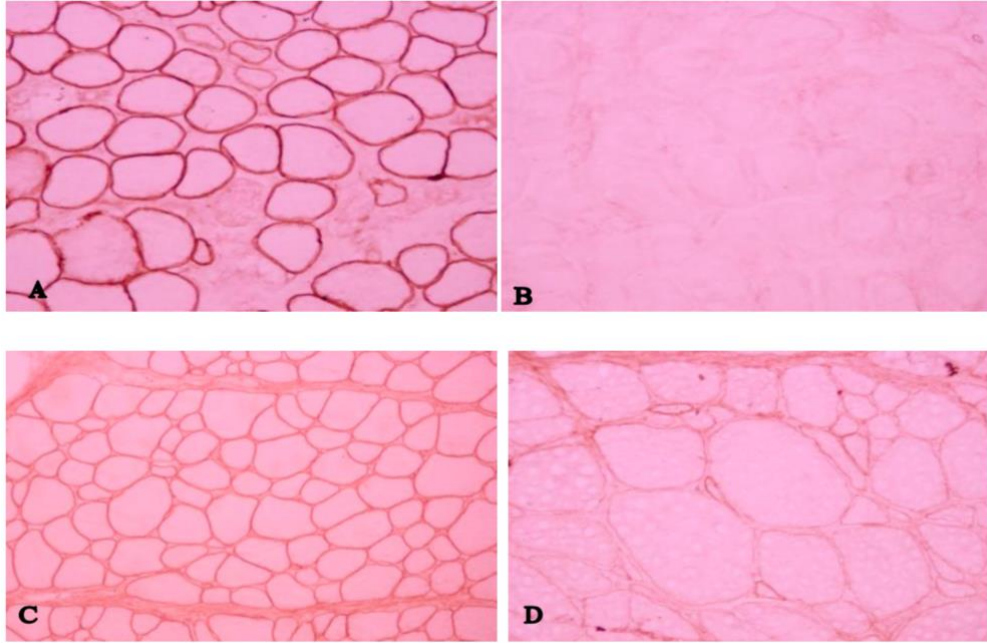
Serum CK düzeyi DMD ilişkili kardiyomyopatide genellikle artar ancak normal olduğu olgularda rapor edilmiştir [62].

DMD ve BMD hastalarında myoglobinemi sık görülen bir bulgudur. Sağlıklı insanlarda ağır egzersiz sonrasında myoglobin seviyesi 2 saat içinde en yüksek değerine ulaşır, ardından düşmeye başlar. 10-18 saat sonra CK düzeyi en yüksek değerine ulaşır. CK düzeyi en yüksek seviyede iken myoglobin değeri normale döner [63-65]. Ancak DMD’li hastalarda hafif egzersizlerle tetiklenen kas hücre membran hasarı sebebiyle CK ve myoglobin düzeyi erken dönemde artar.

Kas biyopsisi: Distrofik kas incelendiğinde dejenerasyon, rejenerasyon ve hipertrofik kas lifleri izlenir. Kas dokusunun büyük oranda bağ ve yağ dokusu ile yer değiştirdiği görülür. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde endomisyal ve perimisyal fibrosis gelişir. Hastalığın erken döneminde kas lifleri arasında boyut farkı olup, hipertrofik lifler görülür. İlerleyen dönemlerde dejenerasyon arttıkça kas lifleri normalden daha da küçük olarak izlenir [66].

BMD’nin mikroskopik bulguları DMD’ye göre daha hafiftir. Endomisyal fibrosis, nekroz, dejenerasyon ve rejenerasyon daha azdır.

İmmün histokimyasal inceleme: Antidistrofin antikoru distrofinin çubuk, amino ve karboksi ucuna bağlanır [67, 68]. DMD’li hastalarda antidistrofin antikoru kullanılarak yapılan incelemede distrofin eksikliğinde bu antikolar bağlanmaz ve sarkolemma görüntülenemez (Resim-2.3).



Resim 2.3. Distrofinopati. İmmünohistokimyasal boyamada distrofinle pozitif boyanma, normal kontrol (A); distrofin ile negatif boyanma (Duchenne musküler distrofisi) (B); normal kontrol (C); distrofinle soluk boyanma (Becker musküler distrofisi) (D).

Moleküler Genetik Testler ile Tanı: Distrofinopati grubunda en sık görülen genetik mutasyonlar delesyon, duplikasyon ve nokta mutasyonlardır. Delesyon mutasyonları %60-70, duplikasyonlar %5-10'dur. Nokta mutasyonları anlamsız, çerçeve kayması, kesme mutasyonları olup DMD'de %20-25, BMD'de %20-30 oranındadır [21, 69].

Büyük delesyonlar duplikasyon ve duplikasyonlar polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve multipleks ligasyon prob amplifikasyonu (MLPA) ile tespit edilir [70, 71]. Nokta mutasyonlar ise yeni nesil sekanslama yöntemi ile genin tüm egzonları incelenerek tespit edilir. Tüm bu modern tanı teknikleri ile %93-96 oranında hastalar tanı alır. Standart moleküler tanı testlerinde egzonlar ve yakın intron kısımları incelenir. Bu yöntemlerle intronların daha içerde kalan kısımlarında oluşan mutasyonlar atlanabilir. Bu bölgelere psödo-egzon adı verilir. Ters

transkripsiyon yöntemi ile üretilen komplementer DNA'da psödo-ekzon mutasyonları gösterilebilir. Geriye kalan hasta grubu için kas biyopsisi gereklidir.

Prenatal Tanı: 10-12. haftalarda koryon villus örnekleme ile 15-18. haftalarda amniyosentez ile kromozom analizi yapılır. Elde edilen DNA'dan ailede bilinen bir mutasyon varsa ona bakılır ya da distrofin gen sekanslaması yapılır [72].

2.1.1.4. Tedavi Yöntemleri:

Glukokortikoid tedavisi: Mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte dejenerasyona uğrayan kasta inflammatuar ve fibrotik süreci azaltarak membran stabilizasyonu sağladığı düşünülmektedir. Steroid tedavisine güçsüzlüğün aşikar hale geldiği 4 yaş civarında başlanır. Tedavide oral prednizon ya da deflazakort yaygın olarak kullanılır [54]. Steroid kullanımının uzun dönemde motor fonksiyonların kaybında gecikme, solunum fonksiyonu ve skolyoz üzerine olumlu etkisi çalışmalarla gösterilmiştir. Distrofinopatilerde yaşam süresini belirleyen en önemli faktörlerden biri olan kardiyomiyopati gelişimini de geciktirir. Steroidin 9 metrelik yürüyüş testlerinde, merdiven çıkma ve oturur vaziyetten ayağa kalkar pozisyona geçme sürelerinde azalma sağladığı bildirilmiştir. 103 hasta ile yapılan bir çalışmada steroid tedavisi ve plasebo karşılaştırılmış, merdiven çıkma süresinde plasebo grubuna göre hastaların %43'ünde azalma gözlemlenmiştir [73, 74]. Yapılan bir diğer çalışmada 1 ay ve daha az steroid tedavisi alanlarla 1 yıl ve daha uzun süre steroid tedavisi alan hastalar karşılaştırılmış. Yaşları 2 ile 28 yaş arasında değişen 440 DMD'li hasta 10 yıl boyunca izlenmiş. 1 yıl ve daha uzun steroid tedavisi alanlarda hastalık progresyonunun geciktiği görülmüştür. Motor fonksiyonlarda gecikme steroid tedavisini daha kısa alan grupta ortalama 2,1 yaş iken diğer grupta 4,4 yaş olarak görülmüştür [75].

Prednizon dozu ile ilgili olarak kesin bir öneri olmamakla birlikte yaygın olarak 0,75mg/kg/g dozunda kullanılır. Yapılan bir çalışmada 1,5mg/kg/g yüksek doz steroid tedavisinin 0,75mg/kg/g doz ile karşılaştırıldığında kas gücü açısından anlamlı bir fark olmadığı ancak yan etkilerinin çok fazla olduğu, daha düşük dozda (0,3mg/kg) verildiğinde de daha az etkili olduğu görülmüştür [2]. Bir diğer

çalışmada haftada 10mg/kg şeklinde kullanımın günlük 0,75mg/kg dozdan kullanımına üstünlüğün olmadığı görülmüştür [76].

Steroidin 6 ile 18 ay kullanımından sonra ortaya çıkan ve en sık karşılaşılan yan etkiler kilo alımı ve aşırı kılınmadır [73, 74, 77]. Diğer uzun dönem yan etkilerinde ise lineer boy uzamasında yavaşlama, pubertede gecikme, uzun ve vertebra kemik kırıkları, akne, gastrointestinal etkiler ve davranış değişiklikleri görülür. Ancak ciddi obezite ya da hayatı tehdit edici diğer yan etkiler oluşmadığı sürece steroid tedavisine devam edilmelidir. Yan etkiler oluştuğunda steroid dozu kademeli olarak %25-35 oranında azaltılır. 0,3 mg/kg/g'ne kadar azaltılabilir [2].

Metformin ve L-sitrulin: Metformin ve sitrulin birlikte verildiğinde kaslarda NO düzeyini artırır. Aynı zamanda hücre içinde artan siklik adenosin monofosfatla (AMP) aktiflenen protein kinaz düzeyi artarak mitokondride oksijen radikallerinin oluşumunu engeller. Kas harabiyeti azalır [78].

İdebenon: Antioksidan özelliği olan benzokinon ailesinine ait koenzim Q10'nin sentetik bir analogudur. Solunum fonksiyonlarında azalmayı engeller, kardiyoprotektif özelliktedir. Özellikle steroidi tolere edemeyen hastalarda önerilen yayımlar vardır [78].

Vomarolon: Yan etkileri daha az olan bir glukokortikoid türevidir. Hayvan deneylerinde steroid yan etkileri göstermeden kas gücünde artış sağladığı görülmüştür. İnsanlarda klinik çalışmalar hala sürmektedir [78].

Tamoksifen: Selektif östrojen reseptör modülatörüdür. Postmenapozal kadınlarda ve erkeklerde östrojenin çoğu kaslardan salgılanır. Östrojen kasılmaya bağlı oluşan membran hasarını engeller, kas rejenerasyonunu hızlandırır. Tamoksifen meme dokusunda antiöstrojenik etki gösterirken kas ve kemik dokuda östrojenik etki gösterir. Bu etkisi ile umut vaat eden bir ilaçtır [79]. İsviçre'nin Basel kentinde 2017'de başlatılan faz-3 insan çalışması hala devam etmektedir.

İnsülin benzeri büyüme faktörü (insülin like growth factor-IGF-1): Hayvan deneylerinde kas hücrelerinde uydu hücrelerin çoğalmasını ve

farklılaşmasını sağlayarak kas rejenerasyonunu artırır. Çalışmaları devam etmektedir [78].

Fosfodiesteraz-5 inhibitörleri: siklik guanozin monofosfat düzeyini azaltarak vazodilatasyona ve kas gevşemesine sebep olur. Kan akışı hızlanır. Ancak klinik çalışmalarda yarar sağlamadığı görülmüştür [78].

Miyostatin inhibitörleri: Miyostatin uydu hücreleri inhibi ederek kas rejenerasyonunu durdurur. Bu tedavi yöntemi ile miyostatin inhibe edilerek kas rejenerasyonunun artırılması hedeflenir. Histon deasetilaz inhibitörleri de miyostatin düzeyini düşürür. Givinostat, bir histon deasetilaz inhibitörü olup farelerde yapılan çalışmalarda kas rejenerasyonunda artış sağladığı ve fibrosisi engellediği görülmüştür [78].

Utrofin modülatörleri:

Distrofin benzeri molekül olarak adlandırılan utrofin DMD'de distrofin görevini üstlenerek kas harabiyetini önler. Fetal hayatta utrofin daha yaygınken postnatal dönemde azalarak yerini distrofine bırakır. Bu amaçla üretilen birtakım tedaviler vardır.

Ezutromid utrofin modülatörü olup yapılan hayvan çalışmalarında ezutromid verilenlerde utrofin düzeyinin 2 katına çıktığı ve DMD'de semptomlarının azaldığı görülmüştür. Faz-I ve faz-II çalışmaları devam etmektedir [78], ancak bu molekül kullanım alanı bulmamıştır.

Genetik tedaviler:

Distrofin geni çok büyük bir gen olduğu için %20'lik kısmına gen transferi yapılabilir. Gen tedavisinin başarılı olabilmesi için tüm kaslara ulaşması gerekir [14].

Adeno-assosiyatif viral (AAV) vektörler rekombinan AAV'lerle mikrodistrofin ya da minidistrofin genleri intravenöz yolla verilerek sistemik gen transferi hedeflenir [80, 81]. Altı hasta üzerinde yapılan bir çalışmada vektör tedavisi uygulandıktan sonra 4 hastada distrofin spesifik T hücre aktivitesi tespit edilmiş. Doksanıncı günde transgen ekspresyonunun olmadığı görülmüş. Gen tedavisi karşısındaki en büyük engel hücresel immünitedir[82-84].

Yeni gelişen bir başka gen tedavisi ise kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrar (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-CPISPRs) genom sistemidir. Bir vektör içinde gönderilen özgün DNA kökenli molekülün yine ek olarak gönderilen bir yardımcı enzim ile hatalı geni yerinde bulup kesip sonrasında düzeltme özelliğine dayanmaktadır [14]. Fareler üzerinde yapılan bir diğer çalışma ekzon 23'e ait kodlanmayan intronları gen düzeltme adı altında kesen kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrar (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-CPISPRs) genom sistemi ile kardiyak ve iskelet kaslarında distrofin protein sentezinde artış sağlanmıştır. [85, 86].

Ekzon atlama hatalı ekzonun çıkarılarak yeniden protein sentezinin gerçekleşmesidir. Üretilen protein daha kısa olmakla birlikte fonksiyoneldir. Kesin tedavi olmamakla birlikte klinik bulguları hafifletir. Eteplirsene ve drisapersene ekzon atlamada kullanılan iki antisensoligonükleotittir [87].

Eteplirsene, ekzon 51 ile hibrit oluşturarak bu ekzonda meydana gelen mutasyonu atlar. Daha kısa ancak fonksiyonel bir distrofin oluşumunu sağlar [88, 89]. Ondokuz DMD'li hastada yapılan bir çalışmada haftalık intravenöz eteplirsene tedavisinin doz arttıkça distrofin üretimini arttırdığı görülmüştür [90]. Yapılan farklı bir plasebo kontrol çalışmasında 12 DMD hastası 3'erli gruplara bölünerek 24 hafta boyunca haftalık intravenöz 30 mg/kg, 50 mg/kg eteplirsene ve plasebo verilmiş. Yirmidördüncü haftada 30 mg/kg doz eteplirsene alanlarla plasebo grubuna kas biyopsisi yapılmış. Otuz mg/kg/hafta eteplirsene alan hastalarda %23 oranında distrofinde artış saptanırken diğer grupta artış saptanmamış. Kırksekizinci haftada 30 mg/kg ve 50 mg/kg eteplirsene alan grubun distrofin artış oranları %52 ve %43 olarak bulunmuş. Bu sürede herhangi bir yan etki saptanmamış [91]. Eteplirsene ABD'de onay verilmekle birlikte Avrupa ülkelerinde verilmemiştir. Önerilen doz haftalık 30mg/kg ve intravenöz yolla 35-60 dakikada uygulanmasıdır. En sık görülen yan etkileri kusma, kontakt dermatit, artralji, denge problemleri, döküntü ve üst solunum yolu enfeksiyonlarında artıştır.

Drisapersen ekzon 51'i hedef alan bir diğer antisensoligonükleotittir. Yapılan çalışmalarda ilacın plasebo grubuna göre etkinliğinin daha iyi olduğu gösterilmekle birlikte hepatotoksik ve nefrotoksik yan etkileri görülmüştür [92].

Geç faz I veya faz II'de olan diğer ekzon atlama çalışmaları ekzon 44, 45, 53 ve 50 için devam etmektedir.

Stop kodonu okuyan ajanlar:

Nonsense mutasyonlarda stop kodon mRNA'da olması gereken gen lokusundan daha önce bir gen lokusuna yerleşir. DMD genine transfer edilen prematür yerleşimli stop kodon distrofinin oluşumunu engeler. Stop kodon okuyan ajanlar stop kodonu atlayarak distrofin üretimini sağlar.

Aminoglikozitler bu antibiyotikler ribozomlara bağlanarak stop kodonun yerine alternatif aminoasit üretimini sağlar ve distrofin eksiksiz şekilde sentezlenmiş olur. Distrofin eksikliği bulunan farelere verilen gentamisin tedavisi sonrasında distrofin seviyelerinin %20 arttığı, kasılmaya bağlı hasarın azaldığı görülmüştür. Yapılan insan çalışmalarında 6 aylık gentamisin tedavisi sonrasında distrofinin arttığı, CK düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. Ancak kas gücünde değişiklik olmamıştır. Gentamisin ile klinik yarar sağlanamamasına rağmen arbeksin denilen farklı bir aminoglikozit ile faz-II çalışmaları devam etmektedir. Ancak aminoglikozitlerin nefrotoksik ve ototoksik yan etkileri ve intravenöz yol ile uygulanıyor olmaları klinik kullanımda sınırlılık getirebilir [93].

Ataluren nonsense mutasyonlar protein sentezi gerçekleştiği sırada stop kodonun (prematür sonlanma kodonunu) erken devreye girmesiyle sentezi durdurur ve böylelikle distrofin üretimi gerçekleşmez. Ancak ataluren prematür sonlanma kodonunu atlayarak protein sentezinin devam etmesini sağlar [94]. Yapılan çok merkezli bir çalışmada ortalama yaşı 8 olan ve yürüyebilen 174 DMD'li hastaya yüksek doz ataluren, düşük doz ataluren ve de plasebo verilmiş. 48.haftada yapılan 6 dakikalık yürüyüş testinde düşük doz ataluren tedavisi alanların plasebo grubuna göre 30 metre daha az yürüdüğü görülmüş. Ancak yüksek doz ataluren tedavisi alanlar plasebo grubuna göre anlamlı oranda daha uzun mesafe yürüyebilmişler. Avrupa Tıbbi Ürünleri Değerlendirme Ajansı tarafından Mayıs 2015'te şartlı onay

verilmiştir. Bu molekül için ülkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından onay vardır. Kusma en sık karşılaşılan yan etkisidir. Bunun dışında iştahta azalma, kilo kaybı, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, baş ağrısı, öksürük, epistaksis, kabızlık, döküntü, bacak ağrısı, hematüri ve enüresisdir [95].

2.1.1.5. Rehabilitasyon: DMD'li hastalarda rehabilitasyon multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Kas güçsüzlüğüne ek olarak kardiyak, solunum, ortopedik, beslenme, kilo problemi, ağrı DMD ve BMD'de yaşam kalitesini etkileyen en önemli sebeplerin başında yer almaktadır. Bunun yanı sıra bilişsel ve sosyal alanda gerilik, konuşma geriliği, nöropskiyatrik problemler bu hastalık grubunun başlıca problemlerindedir. Bu durumların erken tespiti ve uygun rehabilitasyon ile hastaların yaşam kalitesi önemli ölçüde uygun koşullara getirilebilir [54, 96] .

Hastalar fiziksel aktivite için cesaretlendirilmelidir. Haftada 4 ile 6 kez kontraktürleri engellemek için ayak bileği, diz, kalça eklemleri için germe egzersizleri önerilir. İlerleyen dönemlerde germe egzersizleri el, dirsek ve boyun için de gereklidir [54]. Yürüyebilen hastalar her yıl, yürüyemeyen hastalar 6 ayda bir skolyoz açısından muayene edilmelidir. Yürüyemeyen hastalarda muayeneye ek olarak skolyoz grafisi de görülmelidir. 20 dereceden fazla olan eğriliklerde omurga cerrahisi açısından ortopedi bölümüne yönlendirilmelidir [97].

Hastaların her kontrolünde kiloları ve boyları ölçülmelidir. Obezite veya malnutrasyon açısından dikkatli olunmalı kalorileri hesaplanmalıdır. Özellikle kalsiyum ve D vitamini alımı yeterli olmalıdır. Önerilen günlük kalsiyum alımları 500 ile 1000mg/gündür. Kan serumunda 25-hidroksivitamin D düzeyi 30 ng/mL üzerinde tutulmalıdır [97].

DMD'li hastalarda steroid kullanıma bağlı lineer büyümede gecikme, pubertede gecikme ve adrenal yetmezlik görülebilir. Her 6 ayda yapılan muayenede ayakta boy uzunluğu, kol açıklığı, baldır ve uyluk uzunluğu ölçülmelidir. Yıllık boy uzama hızı 4 cm'den az ise ya da boy uzunluğu 3 persentil altındaysa endokrinoloğa yönlendirilmelidir. Puberta gelişim değerlendirilmesi 9 yaşından itibaren her 6 ayda bir yapılmalıdır. 14 yaşında puberteye girmemiş hastalar endokrinoloğa tarafından değerlendirilmelidir [97]. Uzun süreli egzojen steroid kullanımı hipotalamik

hipofizer aksı baskılar. Hastalar steroidi aniden kestikleri takdirde adrenal yetmezliğe girebilirler. Bu hasta ve ailesine detaylıca anlatılmalı, adrenal kriz hakkında bilgi verilmelidir.

Yirmi mg/gün ya da 2mg/kg/gün'den fazla prednizon tedavisi alan hastalara canlı aşı yapılması kontraendike olduğu belirtilmiştir. Steroid tedavisi öncesinde canlı aşılardan yapılmalıdır. Altıncı aydan sonra tüm DMD hastalarında influenza aşısı önerilmektedir [98].

Kardiyomiyopati erken tanısı ve takibi prognoz açısından büyük önem arz etmektedir. Tanı alan DMD hastaları kardiyoloji bölümüne yönlendirilmeli, elektrokardiografi ve ekokardiyografileri değerlendirilmelidir. Asemptomatik seyreden hastalar yıllık elektrokardiografi ve ekokardiyografi ile değerlendirilmelidir. Semptomatik seyreden hastaların takipleri kardiyologlar tarafından daha sık yapılmalıdır. Onbeş yaşına kadar ekokardiyografi noninvasif bir yöntem olarak kullanılabilir. Ancak hastalığın ilerleyen dönemlerinde skolyozdaki artış sebebiyle kalp net olarak görüntülenemeyebilir. Sonrasında kardiyak manyetik rezonans görüntülemesi kullanılabilir. DMD hastalarına kardiyak semptomlar başlamadan önce 10 yaş civarında anjiyotensin reseptör blokörü (ARB) ya da anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü başlanır [97, 99]. Bu tedavilerle sistemik vasküler direnç azaltılarak kardiyak output artırılır. Sistolik fonksiyonların korunması amaçlanır.

DMD'li hasta grubunda bir diğer prognostik öneme sahip durum ise solunum problemleridir. 5 ile 6 yaşlarında solunum fonksiyon testi ile vital kapasite ölçümü önerilir. Altı ayda bir vital kapasite, maksimum inspiratuvar basınç, maksimum ekspiratuvar basınç, kapiller kandaki oksijen saturasyonu ölçülmelidir. Anormal kilo alan hastalarda uyku apnesi açısından dikkatli olunmalıdır. Gün içinde yorgunluk, uyku hali, baş ağrısı, konsantrasyonda zorluk gibi durumlarda uyku bozukluklarını işaret eder [97].

2.1.1.6. Ara formu:

DMD'den daha hafif ve BMD'den daha ağır formu olarak nitelendirilebilir. 13 yaş civarında bulgu vermeye başlar ve 16 yaşında tekerlekli

sandalye bağımlı olurlar. Kardiyomyopati ve bilişsel fonksiyonlarda gecikme intermitan forma eşlik edebilir [100].

2.1.1.7 DMD İlişkili Dilate Kardiyomyopati:

DMD ilişkili dilate kardiyomyopati kalp kasında bulunan distrofinin üretilmemesinde kaynaklanır. Ekstremitte kaslarında zayıflığın hafif olduğu ya da eşlik etmediği 20-30 yaş civarında ortaya çıkan progresif, fatal seyirli konjestif kalp yetmezliği ile giden bir hastalıktır [101-103]. Kadın DMD taşıyıcılarında ise 40-50 yaş civarında bulgu verir. Kliniği çok daha hafif ve yavaş seyirlidir. Sadece kreatin kinaz yüksekliği görülür [104, 105].

2.1.1.8 Myoglobinuri İle Giden Kas Krampları:

Çocukluk döneminde başlayan kas zayıflığı olmadan egzersizle tetiklenen miyalji, kas krampları ve miyoglobininüri ile giden bir tablodur. Yapılan bir çalışmada aktivite ile tetiklenen kas krampları ve miyaljinin olduğu, aktivite dışında da yüksek kreatin kinaz düzeylerinin izlendiği ve hipertrofik gastrokniemiusun muayene bulgusu olarak dikkat çektiği belirtilmiştir. Bu hastaların distrofin geninde santral çubuk bölgesini kodlayan ekzon 10-22 de delesyon tespit edilmiştir. Western blot analizi ile yapılan distrofin incelemesinde distrofin miktraında azalma olmayıp ağırlığının azaldığı tespit edilmiştir [106-108]. Kas güçsüzlüğü olmasada egzersizle tetiklenen kas krampları ve eşlik eden mikroskobik miyoglobininurilerde distrofinopatiler akılda tutulmalıdır.

2.1.1.9 Kadın DMD/BMD taşıyıcıları:

Genellikle asemptomatik seyretmekle birlikte %2,5-7,8 arasında değişen sıklıkta hafif miyaljiden ciddi kas güçsüzlüğüne kadar gidebilen klinik semptomlar da gösterebilen taşıyıcılarda miyalji ve kas krampları %5, hafif ve orta kas güçsüzlüğü %17, dilate kardiyomyopati %8 oranında saptanmıştır. Asemptomatik taşıyıcılarda hafif kreatin kinaz yüksekliği ve az miktarda gastrokniemius hipertrofisi vardır [109].

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Nöroloji Bilim Dalı'nda Ocak 2014 ile Ocak 2019 tarihleri arasında takip edilmiş, 2 yaş altında genetik tanı yöntemleri (kromozomal mikroarray, çoklu ligasyon-bağımlı prob amplifikasyonu, DMD gen sekanslaması) veya kas biyopsisi ile DMD tanısı alan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya kabul edilen hastaların hastane kayıtları, arşiv dosyalarından ve Hacettepe Tıp Fakültesi hastane enformasyon sisteminden incelendi. Veriler yaş, cinsiyet, akrabalık, aile öyküsü, başvuru şikayetleri, tanı sırasındaki nörolojik muayene bulguları ve ayrıntılı gelişim değerlendirmesi sonuçları, laboratuvar tetkikleri (CK ve karaciğer fonksiyon testleri), ekokardiyografi sonuçları, genetik analiz sonuçları, kas biyopsisi değerlendirmeleri ve son kontroldeki nörolojik muayene bulguları incelendi. **(Ek-1)**

Bu çalışma kapsamında kas biyopsilerine yeni bir histopatolojik boyama veya mikroskopik değerlendirme yapılmadı.

Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (GO-19/516). **(Ek-2)**

Hastaların ad, soyad, dosya numarası, kimlik numarası bilgileri kaydedilmedi.

Bütün istatistiksel analizler IBM SPSS for Windows Version 22.0 paket programı aracılığıyla yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma, ortanca (minimum – maksimum) değerler ile özetlendi. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile gösterildi.

4.BULGULAR

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Nöroloji Bilim Dalı'nda DMD tanısı ile takipli 127 erkek çocuk çalışmaya dahil edildi. Çocukların ortalama tanı yaşı $14,5 \pm 6,5$ ay (5 gün -24 ay) idi. Kliniğimize başvuru anındaki ortalama yaşları $41, 5 \pm 20,3$ ay (6-113).

Hastaların 69'unun (%54,3) kardeşi vardı. Altı hastanın (%8,68) kardeşinde CK yüksekliği saptandı. Bu kardeşlerden üçü DMD tanısıyla (%3,43), üçü asemptomatik CK yüksekliği nedeniyle takipliydi (%3,43). Altı hastanın kardeşinde ise farklı kronik hastalıklar olduğu saptandı (atipik otizm n=1, biliyer agenezi n=1, nörofibromatosis tip-1 n=1, kalp yetmezliği n=1, çölyak hastalığı n=1 ve tip 1 diabetes mellitus n=1).

Hasta çocukların 5'inin (%4) annesinde CK yüksekliği saptanmış olup asemptomatik seyretmekteydi.

Çocukların 20'sinde (%14,8) soygeçmişte anne tarafında DMD öyküsü varken, 1'inde (%0,8) asemptomatik CK yüksekliği mevcuttu. 106 hastada (%83,9) soygeçmişte anne tarafında DMD öyküsüne rastlanmadı.

Çocukların tanı anında nöromusküler uzmana başvuru sebepleri 107'sinde (%84,3) tesadüfen bakılan CK değerinde yükseklik, 9'unda (%7,1) yürümede gecikme, 4'ünde (%3,1) karaciğer enzimlerinde yükseklik, 4'ünde (%3,1) ailede DMD öyküsü, 2 'sinde (%1,6) oturur vaziyetten ayağa kalkarken zorlanma, 1'inde (%0,8) sık düşme şeklinde sıralandı. (Tablo-1) 2 yaş altında tanı alan DMD li hastalarının nöromusküler uzmana başvuru nedenlerini göstermektedir.

Tablo 1. DMD’li çocukların tanı anında doktora başvuru nedenleri

Doktora Başvuru Nedenleri	Kişi Sayısı N, (%)
Aile DMD öyküsü olanlar	4 (%3,1)
Tesadüfen CK yüksekliği	107 (%84,3)
KCFT yüksekliği	4 (%3,1)
Oturur vaziyetten ayağa kalkarken zorlanma	2 (%1,6)
Sık düşme	1 (%0,8)
Yürümede gecikme	9 (%7,1)
Total	127 (%100)

Kliniğimize başvuru anında çocukların 8’inde (%6,3) motor alanda gerilik, 8’inde (%6,3) konuşma alanında gerilik tespit edildi.

24 ay ve üzeri hastaların fizik muayenesinde Gower’s bulgusu incelendiğinde hastaların 13’ünde (%12,38) pozitif, 92’sinde (%87,61) negatif olarak bulundu.

Tanı, çocukların 8’ine (%6,3) PCR ile 96’sına (%75,6) MLPA ile, 16’sına (%12,6) DMD gen sekanslaması ile konulmuştu. Genetik analizlerle tanı konulamayan 5 (%3,9) hastaya kas biyopsisi yapılmış, bir hastaya ise tanısız kas biyopsisi yapılarak DMD tanısı konulduktan sonra MLPA ile gen mutasyon analizi yapılmıştı. (Tablo-2)

Çocukların tamamında genetik mutasyon çalışılmış olup 99’unda (%78) delesyon, 5’inde (%3,9) duplikasyon, 8’inde (%14,1) nokta mutasyonları, 5’inde (%3,9) ise mutasyon saptanmamıştır. (Tablo-3)

Tablo 2. Genetik analizler

Genetik analizler	Kişi Sayısı n, (%)
DMD gen sekanslama ile tanı	12 (%9,4)
MLPA ile tanı	96 (%75,6)
MLPA normal => DMD gen sekanslama ile tanı	5 (%3,9)
MLPA normal => PCR ile tanı	1 (%0,8)
MLPA normal => PCR normal => DMD gen sekanslaması ile tanı	1 (%0,8)
PCR ile tanı	7 (%5,5)
MLPA normal => DMD gen sekanslaması normal => Kas biyopsisi ile tanı	5 (%3,9)

Tablo 3. Genetik mutasyonlar

Genetik Mutasyonlar	Kişi Sayısı N, (%)
Delesyon	101 (%78)
Duplikasyon	5 (%3,9)
Nokta mutasyonu	18 (%14,1)
Mutasyon saptanamayan	5 (%3,9)

Tablo 4. Delesyon sıklıkları

En sık saptanan delesyonlar	Kişi sayısı N, %
45.-50.ekzon delesyonu	8 (%6,3)
48.-50. ekzon delesyonu	6 (%4,7)
45.ekzon delesyonu	5 (%3,9)
46.-48. ekzon delesyonu	4 (%3,1)

Tablo 5. Nokta mutasyonları

Nokta mutasyonları	Kişi sayısı N, %
Frameshift	5 (%3,9)
Nonsense	12 (%9,36)
Missense	1 (%0,8)

Çocukların 6'sına (%4,7) kas biyopsisi yapılarak tanı konulmuştur. Bu hastalardan 5'ine (%3,9) genetik mutasyon saptanmayan hastalardan oluşmaktadır. Bir hastaya kas biyopsisi sonrasında genetik analiz çalışılmıştır.

Çocuklardan 22'sinin (%17,3) ekokardiyografik incelemede normal kardiyak fonksiyonlarının olduğu, 105'inin (%82,7) ekokardiyografik incelemesinin olmadığı görüldü.

Kliniğimizde 4 yaş sonrasında takibine devam edilen 14 hastanın (%11) tamamı prednizolon tedavisi alıyordu.

Çocukların 14'ü (%11,1) tanı aldıktan sonra 3-5 yaş arası tekrar değerlendirilmişti. 3-5 yaş arasında yeniden değerlendirilen 14 hastanın 9'unda

(%64,2) kaba motor alanda gerilik, 2'sinde (%14,2) konuşma alanında gerilik, 1'inde (%7,14) bilişsel sosyal alanda gerilik ve 2'sinde (%14,2) global gelişme geriliği (GGG) tespit edilerek fizik tedavi ve rehabilitasyon ile özel eğitim süreçlerine başladı. (Tablo-6)

Tablo 6. Takipteki çocukların gelişim durumları

Takip	Kişi sayısı N, (%)
Kaba motor gerilik	9 (%64,2)
Konuşma alanında gerilik	2 (%14,2)
Bilişsel alanda gerilik	1 (%7,1)
GGG	2 (%14,2)

5. Tartışma

Duchenne müsküler distrofisi progresif kas erimesi ve kas güçsüzlüğüne yol açan, distrofin eksikliğinin sebep olduğu, X'e bağlı resesif geçişli bir hastalıktır [110]. 3600 canlı erkek doğumda 1 sıklıkta görülmektedir. DMD'li çocuklar doğumda, miyopatinin histopatolojik ve labaratuvar (CK yüksekliği) bulguları mevcut olsa bile, klinik olarak asemptomatiklerdir [111]. DMD li ocuklardailk 2 yaş içinde kaba motor alanda gelişim geriliği sık rastlanan bir bulgudur. Bu ocuklarda ortalama yürüme yaşı 18 ay olarak bildirilmiştir. İlk semptomlar sıklık sırasına göre global gelişme geriliği (%42), yürümede gecikme (%20), parmak ucunda yürüme ya da düz tabanlık (%30), öğrenme güçlüğü (%5), konuşmada gecikme (%3) şeklinde dir [39]. DMD'li çocuklarda semptomlar genellikle 3-5 yaş arasında aileler tarafından farkedilir hale gelir. Bu hastalar genellikle 12-14 yaşta tekerlekli sandalyeye bağımlı hale gelirler [112]. DMD'de yeni gelişen tedavi yöntemleri sebebiyle hastalığı erken tanımak daha büyük önem teşkil etmektedir. Erken tanı hastaların erken yaşta takip altına alınmasına, gelişebilecek komplikasyonları önlemede ve genetik bilgilendirmede oldukça önemlidir. Son yıllarda geliştirilen yeni tedavi yöntemleri, mutasyona spesifik tedaviler ile birlikte erken tanının önemi giderek artmaktadır.

Gowers bulgusu DMD'ye özgü değil, proksimal kas güçsüzlüğünün eşlik ettiği birçok nöromusküler hastalıkta gözlenebilen bir nörolojik muayene bulgusudur. Çalışmamızda 13 hastada (%12,38) Gower's bulgusu saptandı. Literatürde genellikle 3-6 yaş arasındaki DMD hastalarında pozitif olarak saptanan Gower's bulgusu çalışmamızda en erken 27.ayda tespit edildi [2].

Ciafaloni ve arkadaşlarının [4] çalışmasında aile öyküsü olmayan 156 DMD'li hasta incelenmiştir. Bu çalışmada hastaların ilk bulgusu ortalama 2,5 yaşında ortaya çıkmış olup 1,5 yaş öncesinde hastaların %58'inde motor gerilik olduğu tespit edilmiştir. Hastaların bir nöromusküler uzman tarafından değerlendirilme yaşı ortalama 4,6 olup, ilk kez serum CK düzeyi bakılma yaşı ve ortalama tanı yaşı sırasıyla 4,7 ve 4,9 olarak saptanmış. Bu çalışmada en erken tanı alan hasta 3 aylık olarak bildirilmiştir.

Vry ve arkadaşlarının [113] yapmış olduğu çalışmada 6 yaş altıda DMD tanısı alan hastaların ortalama tanı yaşı 2,3 olarak bulunmuş ve ilk semptomların ortaya çıkması ile tanı arasında geçen süre ortalama 1,3 yıl olarak saptanmıştır.

D'Amico ve arkadaşlarının [8] yaptığı ve 384 DMD'li hastayı inceledikleri çalışmada hastaların ortalama tanı yaşı 41 ay olarak bulunmuştur. Çalışmada en sık başvuru nedeni %44,3 oranıyla tesadüfen saptanan CK yüksekliği olup bunu %15,9 ile motor gerilik ve %2,6 ile bilişsel ve sosyal alanda gerilik izlemiştir. Bu çalışmada hastaların %7,8'nde ailede DMD öyküsü olduğu gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda hastaların ortalama tanı yaşı $14,5\text{ay} \pm 6,5$ olup en erken tanı alan hasta 5 günlükken DMD tanısı almıştı. Hastaların tanı anındaki doktora başvuru sebepleri 107 hastada (%84,3) tesadüfen bakılan serum CK değerinde yükseklik saptanması, 9 hastada (%7,1) yürümede gecikme, 4 hastada (%3,1) karaciğer enzimlerinde yükseklik, 4 hastada (%3,1) ailede DMD öyküsü olması, 2 hastada (%1,6) oturur vaziyetten ayağa kalkarken zorlanma ve 1 hastada (%0,8) sık düşme idi.

Tesadüfen bakılan serum CK değerindeki yükseklik nedeniyle başvuran 107 hastanın sadece %6,3'ünde başvuru anında kaba motor alanda gerilik saptanmıştı. Çalışmadaki hastaların büyük çoğunluğunda klinik bulgu ortaya çıkmadan tesadüfen bakılan CK değerindeki yükseklik ile hasta 3. basamak sağlık merkezlerine yönlendirilmişti. Hastalardan CK bakılma sebebi genellikle sağlık kuruluşlarında alınan rutin kan biyokimya panelinin serum CK düzeyi tayinini de içermesiydi.

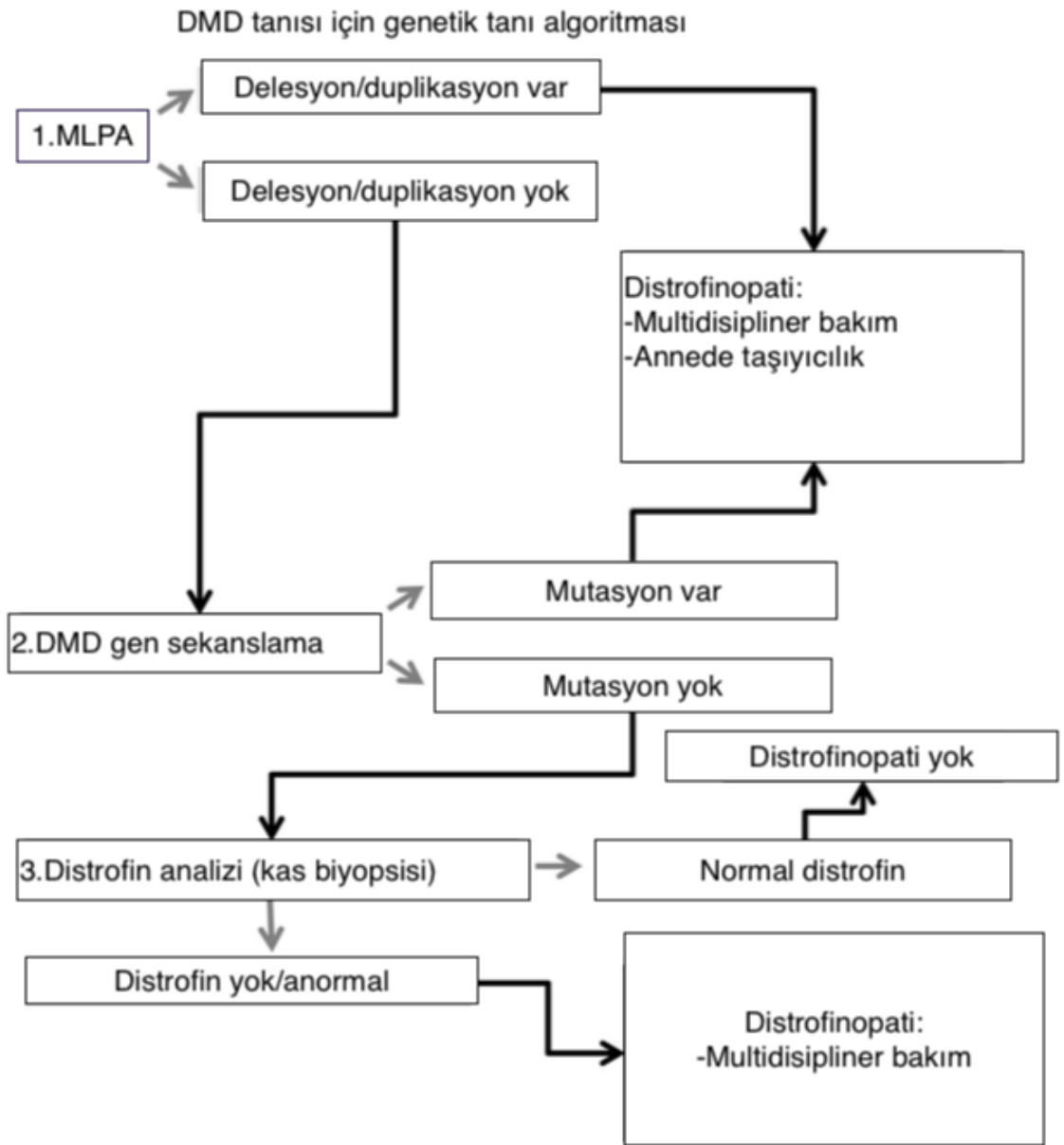
Karaciğer enzimlerinden ALT ve AST hastalığın erken dönemlerinde yükselen parametrelerdir. Çalışmamızda hastaların %3,1'inde çocuk nöroloji kliniğine ilk başvuru sebebi kan serumunda tesadüfen saptanan ALT, AST değerindeki yükseklikti. DMD hastalarında kas hücre membranındaki harabiyet sonucu hücre içi enzimler olan ALT ve AST düzeyleri serumda yüksek olarak saptanır. Ancak serum CK düzeyi gibi zaman içinde kas harabiyeti arttıkça serum ALT ve AST düzeylerinde bir noktadan sonra azalma görülür [114]. ALT, AST yüksekliği saptanan hastalarda karaciğer patolojileri açısından ileri tetkikler planlanmadan önce serum CK düzeylerinin değerlendirilmesi bir grup hastada henüz kas hastalığının semptomları belirgin hale gelmeden erken tanı ve kas hastalığına yönelik tedavi ve standart bakıma erken erişime olanak tanıyacaktır. Öte yandan karaciğer patolojilerine yönelik etiyolojik incelemede karaciğer biyopsisine kadar gidebilen bir dizi tetkikin gereksiz yere yapılmasını önleyecektir [115].

Çalışmamızda ekokardiyografik incelemesi olan 22 hastanın (%17,3) tamamında kardiyak fonksiyonların normal olduğu, geriye kalan 105 hastanın (%82,7) ekokardiyografik incelemesinin olmadığı görüldü. DMD'de kardiyak semptomlar 12-14 yaşından sonra başlar.

DMD'li hastalarda sol ventrikül hipertrofisi riski olup tanı sonrasında yıllık ekokardiyografi ile takip edilmelidirler. On yaşından sonra asemptomatik olsalar bile hastalara ACE inhibitörü ya da Anjiyotensin reseptör blokajı başlanması önerilmektedir. Üçyüz yirmisekiz DMD'li hasta ile yapılan çalışmada hastaların 3'te 1'inde kardiyomyopatinin 14 yaşında, hastaların yarısında 14-18 yaş arası ortaya çıktığı gösterilmiştir [97].

Çalışmamızda 2 yaş altında DMD tanısı alan çocukların tamamına genetik analiz yapılmış olup %96,1'inde genetik mutasyon saptanmıştır. Bu çocuklardan %75,6'sına (n=96) MLPA ile, %3,9'una (5) MLPA sonucunda mutasyon saptanmayıp DMD gen dizilemesi ile, %3,9'una (5) MLPA ve DMD gen sekanslamasında mutasyon saptanmayıp kas biyopsisi ile tanı konulduğu tespit edilmiştir. Bir hastaya kas biyopsisi ile distrofin eksikliği gösterildikten sonra MLPA ile genetik mutasyon tayini yapılmıştır. D'Amico ve arkadaşlarının 384 DMD hastası ile yaptığı çalışmada [8] hastaların 275'ine (%76,1) kas biyopsisi ile DMD tanısı konulmuş. Hastalardan 215'ine (%55) genetik analiz öncesinde, 29'una (%7,4) genetik analiz sonucunun normal olması nedeniyle ve 31'ine (%7,9) daha iyi fenotipleme yapabilmek için kas biyopsisi yapılmıştır. Son yıllarda genetik alanındaki gelişmelerle birlikte genetik tanı testlerine erişimin kolaylaşması ve mutasyona spesifik-kişiselleştirilmiş tedavi seçeneklerinin gündeme gelmesi neticesinde DMD tanısında kas biyopsisi yapılma oranları azalmış, çoğu hasta için genetik testler tanısal algorithmada ilk sıraya yükselmiştir [116] (Şekil 5.1).

Şekil 5.1 DMD'de genetik tanı algoritması



Çalışmamızda 2 yaş altında tanı alan tüm hastalara genetik analiz yapılmış ve hastaların %78'inde delesyon, %3,9'unda duplikasyon, %14,1'inde nokta mutasyon saptanmış, %3,9'unda ise mutasyon saptanmamıştır. Literatürde DMD hastalarında saptanan genetik mutasyonların yaklaşık %65'ini delesyonlar, %11'ini duplikasyonlar, %20'sini de nokta mutasyonlar (frameshift, nonsense, missense, küçük delesyon ve duplikasyonlar) oluşturmaktadır [117]. Literatür ile farklı olarak çalışmamızda delesyon oranı %78 olup, duplikasyon oranı daha az bulunmuştur.

Soygeçmiş özellikleri incelendiğinde hastaların %16,1'inde (n=21) anne tarafında hastalık öyküsü olduğu saptandı. Anne tarafında en sık rastlanan hastalık öyküsü %52,37

(n=11) ile dayıda DMD idi. Bir hastanın 2 kuzeninde 3-7 duplikasyonu saptanmış olup hastanın kendisinde de aynı mutasyon tespit edildi. Altı hastanın kardeşinde CK yüksekliği tespit edildi. Bunlardan erkek olan 3 kardeş DMD tanısı ile izlenmekteyken 3 kız kardeş asemptomatik CK yüksekliği nedeniyle takip edilmekteydi.

Ailede DMD öyküsü varlığının hastaların nöroloji kliniklerine başvuru nedenleri arasında olduğu bilinmektedir. Ancak çalışmamızda hastaların soygeçmişleri sorgulandığında 24 hastada ailede DMD öyküsü mevcut iken bu hastaların yalnızca 4'ünde (%16,6) doktora başvuru sebebinin ailede DMD öyküsü varlığı olduğu görüldü. Bunun önemli bir sebebinin DMD hastalığının toplumda bilinirliğinin düşük olması olduğu düşünülebilir.

Annede taşıyıcılık oranı çalışmamızda %4 olarak bulundu. Literatürde DMD'de taşıyıcılık oranı %2,5-7,8 arasında değişmekle birlikte çoğunlukla asemptomatik olduğu, taşıyıcıların %8-22'sinde klinik bulguların ortaya çıkabildiği belirtilmektedir [118]. Ailede DMD öyküsü olan ya da anne de taşıyıcılık olan gebeliklerde prenatal değerlendirme ile tanı konulabilir. 10-12. haftalarda koryon villus örneklemesi ile ya da 15-18. haftalarda amniyosentez yolu elde edilen materyalden kromozom analizi yapılır. 46, XY olanlarda elde edilen DNA'dan ailede bilinen bir mutasyon varsa ona bakılır ya da distrofin gen sekanslaması yapılır. Mutasyon saptanamaz ise intrauterin kas biyopsisi yapılabilir. Ancak rutinde uygulanan bir prosedür değildir [72].

Çalışmamızda tesadüfen bakılan CK yüksekliği ilk klinik bulgunun ortaya çıkışından ya da ailelerin çocuklarındaki motor ya da bilişsel sosyal alanda geriliği farketmelerinden çok daha önce hastaları tanıya yönlendirildiği görülmektedir. Bu durum CK yüksekliğinin yenidoğan döneminden itibaren bir tarama testi olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir.

Moat ve arkadaşlarının [119] yapmış olduğu bir çalışmada serum CK aktivitesi kullanılarak DMD'nin erken tanısına yönelik bir tarama programı yapılmış. 343,170 yenidoğana spot kanda CK aktivitesi bakılmış. Bu hastalardan 145 tanesinde CK aktivitesi yüksek (>250 U/l) olarak saptanmış. 6-8 hafta sonra tekrar bakılan CK aktivitesinin 79 (%0,023) hastada normale döndüğü görülmüş ve yanlış pozitif olarak adlandırılmış. Altmışaltı hastanın CK aktivitesindeki yüksekliğin devam etmesi üzerine hastalara genetik mutasyon incelemesi ve kas biyopsisi yapılmış. Hastalardan 56'sı DMD, 5'i BMD, geri kalan 5 hastaya da nadir müsküler distrofi tanısı konmuş. Onüç hastada da yanlış negatiflik saptanmış. Yine Moat ve arkadaşlarının [120] 4 yıl sonra yaptıkları CK aktivitesi ile yenidoğan tarama programında yanlış pozitiflik oranı saptanmamış ve bu program yüksek verimli tarama

programı olarak nitelendirmişlerdir. Ancak hala ülkelerin çoğunu kapsayacak verimlilikte, ülke ekonomisine büyük yük oluşturmamayan bir tarama programı bulunmamaktadır.

Yapılan başka bir çalışmada ise 1975'den 2011'e kadar yapılan tarama programları incelenmiş. 10 tarama programı ile toplamda 1.8 milyon yenidoğan taranmış olup 344 hastaya DMD tanısı konulmuştur. CK düzeyi yüksek olan 80 hastaya BMD, limb girdle muskülerdistrofisi ve konjenital muskülerdistrofi tanıları konulmuştur. Yirmibir hastaya ise yanlış negatif sonuç vererek ilerleyen dönemlerde DMD tanısı konmuştur [121].

Tarama programları erken aşamada DMD tanısı koydurabilir. Ancak CK yüksekliği ile yapılan tarama programları sadece DMD değil diğer muskülerdistrofi gruplarına da erken tanı konulabilmesinin yolunu sağlamaktadır.

Kandaki CK yüksekliği DMD tanısı için çok değerli bir parametredir. Klinik bulgular var olmadan önce yükselmekte ve bu sayede hastaları tanıya yönlendirmektedir. Geliştirilen ve geliştirilmekte olan yeni tedavi yöntemleri DMD için umut vaat edicidir. Bununla birlikte tanı yaşı daha büyük önem kazanmaktadır. İlerleyen dönemlerde erken yaşta tanı konulan hastalara hastalığın erken döneminde tedavi başlanırsa DMD'nin ilerleyen dönemlerinde oluşan skolyoz, solunum problemleri, kardiyak problemler gibi mortaliteyi arttıran sorunların önüne geçilebilir.

Moleküler tedavilerin güncel olarak elde edilebildiği, gen tedavisinin ise yaklaşmakta olduğu günümüz koşullarında DMD için erken tanının önemi açıktır. Zira 6 yaşındaki DMD'li bir çocuğun kas dokusu sağlam bir yaşıtına göre en az %30 daha azdır, tedavi aralığı tercihan bu süreçten önce olmalıdır. Gelişen modern Tıp koşullarına rağmen halen en değerli biyokimyasal göstergenin serum CK düzeyi olduğu çalışmamızda beliren önemli bir sonuçtur. İlgili olarak Etik ve Sosyal sorunların tartışılması bu konu çerçevesinde gözden geçirilmelidir. Hekimlerin giderek artan bir şekilde DMD için farkındalıklarının olması erken tanıya ulaşmada etkin bir durum olarak nitelenmelidir. Örneğin çalışmamızda sadece karaciğer enzim yüksekliği ile gelen çocukların oranı %3,1 idi. Bu durum hekimlerin eski yıllarda olduğu şekilde DMD'li çocuklara ilk gözlemde hepatitisi tanısı vermeden önce DMD gibi ciddi bir hastalığı düşünmeleri ülkemiz Tıp eğitimi ve farkındalığı açısından da değerli sayılmalıdır.

Çalışmamızda, aile öyküsü bulunan durumlarda mutlak olarak farkındalık bulunmadığı anlaşılmıştır. Bu husus üzerinde durulması gereken bir öğedir. Aile seminerleri ve diğer sosyal yaklaşımlara gereksinim vardır.

Sonuç olarak serum CK düzeyi, global gelişimsel gerilik, yürümenin gecikmesi, geç konuşma gibi belirti ya da bulgularla gelen çocuklarda DMD hastalığı ayırıcı tanıda en üst

sırada bulunmalıdır. DNA testlerinin varlığı ve güvenilirliği tanı aşamasını hızlandırmaktadır. Erken bir yaşta tanı, çocuğun yeni nesil tedavilere aday olabilmesi bakımından değerlendirilmelidir.

6.Sonuçlar

1. Hastaların tanı yaşı ortalama $14,5 \pm 6,5$ ay (5 gün -24 ay) idi. Kliniğimize başvuru anında yaş ortalaması $41, 5 \pm 20,3$ ay (6-113).
2. Hastaların 32'sinde (%25,2) anne-baba arasında akrabalık mevcutken, 95'inde (%74,8) akrabalık yoktu.
3. Hastaların 69'unun (%54,3) kardeşi vardı. Altı hastanın (%8,68) kardeşinde CK yüksekliği saptandı. Bu kardeşlerden üçü DMD tanısıyla (%3,43), üçü asemptomatik CK yüksekliği nedeniyle takipliydi (%3,43).
4. Altı hastanın kardeşinde ise farklı kronik hastalıklar olduğu saptandı. (atipik otizm n=1, biliyer agenezi n=1, nörofibromatosis tip-1 n=1, kalp yetmezliği n=1, çölyak hastalığı n=1 ve tip 1 diabetes mellitus n=1).
5. Hastaların 5'inin (%4) annesi DMD taşıyıcısı olup asemptomatik seyretmekteydi.
6. Hastaların 20'sinde (%14,8) soy geçmişte anne tarafında DMD öyküsü, 1'inde (%0,8) asemptomatik CK yüksekliği, 106 hastada (%83,9) soy geçmişte anne tarafında DMD öyküsüne rastlanmadı.
7. Hastaların tanı anındaki doktora başvuru sebepleri 107'sinde (%84,3) tesadüfen bakılan CK değerinde yükseklik, 9'unda (%7,1) yürümede gecikme, 4'ünde (%3,1) karaciğer enzimlerinde yükseklik, 4'ünde (%3,1) ailede DMD öyküsü, 2 'sında (%1,6) oturur vaziyetten ayağa kalkarken zorlanma, 1'inde (%0,8) sık düşme şeklinde sıralandı.
8. Kliniğimize başvuru anında hastaların 8'inde (%6,3) motor alanda gerilik, 8'inde (%6,3) konuşma alanında gerilik tespit edildi.
9. 24 ay ve üzeri hastaların fizik muayenesinde Gowers bulgusu incelendiğinde hastaların 13'ünde (%12,38) pozitif, 92'sinde (%87,61) negatif olarak bulundu.
10. Hastaların 96'sına (%75,6) MLPA ile, 16'sına (%12,6) DMD gen sekanslaması ile, 8'ine (%6,3) PCR ile tanı konulmuştu. Genetik analizlerle tanı konulamayan 5 (%3,9) hastaya kas biyopsisi yapılmış, bir hastaya ise kas biyopsisi yapıldıktan sonra MLPA ile gen mutasyon analizi yapılmıştı.

11. Hastaların tamamında genetik mutasyon çalışılmış olup 99'unda (%78) delesyon, 5'inde (%3,9) duplikasyon, 8'inde (%14,1) nokta mutasyonları, 5'inde (%3,9) ise mutasyon saptanmamıştır.
12. Hastaların 6'sına (%4,7) kas biyopsisi yapılarak tanı konulmuştur. Bu hastalardan 5'ine (%3,9) genetik mutasyon saptanmayan hastalardan oluşmaktadır. Bir hastaya kas biyopsisi sonrasında genetik analiz çalışılmıştır.
13. Hastalardan 22'sinin (%17,3) ekokardiyografik incelemede normal kardiyak fonksiyonlarının olduğu, 105'inin (%82,7) ekokardiyografik incelemesinin olmadığı görüldü.
14. Hastaların 14'ü (%11,1) tanı aldıktan sonra 3-5 yaş arası tekrar değerlendirilmiştir. 3-5 yaş arasında yeniden değerlendirilen 14 hastanın 9'unda (%64,2) kaba motor alanda gerilik, 2'sinde (%14,2) konuşma alanında gerilik, 1'inde (%7,14) bilişsel sosyal alanda gerilik ve 2'sinde (%14,2) global gelişme geriliği (GGG) tespit edildi.

7.KAYNAKLAR

1. Mohamed, K., R. Appleton, and P. Nicolaidis, *Delayed diagnosis of Duchenne muscular dystrophy*. Eur J Paediatr Neurol, 2000. **4**(5): p. 219-23.
2. Bushby, K., et al., *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management*. Lancet Neurol, 2010. **9**(1): p. 77-93.
3. Bushby, K.M., A. Hill, and J.G. Steele, *Failure of early diagnosis in symptomatic Duchenne muscular dystrophy*. Lancet, 1999. **353**(9152): p. 557-8.
4. Ciafaloni, E., et al., *Delayed diagnosis in duchenne muscular dystrophy: data from the Muscular Dystrophy Surveillance, Tracking, and Research Network (MD STARnet)*. J Pediatr, 2009. **155**(3): p. 380-5.
5. Poysky, J., *Behavior patterns in Duchenne muscular dystrophy: report on the Parent Project Muscular Dystrophy behavior workshop 8-9 of December 2006, Philadelphia, USA*. Neuromuscul Disord, 2007. **17**(11-12): p. 986-94.
6. Greenstein, R.M., et al., *An (X;11) translocation in a girl with Duchenne muscular dystrophy. Repository identification No. GM1695*. Cytogenet Cell Genet, 1980. **27**(4): p. 268.
7. Bushby, K., et al., *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care*. Lancet Neurol, 2010. **9**(2): p. 177-89.
8. D'Amico, A., et al., *Diagnosis of Duchenne Muscular Dystrophy in Italy in the last decade: Critical issues and areas for improvements*. Neuromuscul Disord, 2017. **27**(5): p. 447-451.
9. Shieh, P.B., *Muscular dystrophies and other genetic myopathies*. Neurol Clin, 2013. **31**(4): p. 1009-29.
10. van Ruiten, H.J., et al., *Improving recognition of Duchenne muscular dystrophy: a retrospective case note review*. Arch Dis Child, 2014. **99**(12): p. 1074-7.
11. Blake, D.J., et al., *Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle*. Physiol Rev, 2002. **82**(2): p. 291-329.
12. Hoffman, E.P., R.H. Brown, Jr., and L.M. Kunkel, *Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus*. Cell, 1987. **51**(6): p. 919-28.
13. Ozawa, E., et al., *Dystrophin-associated proteins in muscular dystrophy*. Hum Mol Genet, 1995. **4 Spec No**: p. 1711-6.
14. Guiraud, S., et al., *Advances in genetic therapeutic strategies for Duchenne muscular dystrophy*. Exp Physiol, 2015. **100**(12): p. 1458-67.
15. Rapaport, D., et al., *Expression of the Duchenne muscular dystrophy gene products in embryonic stem cells and their differentiated derivatives*. J Biol Chem, 1992. **267**(30): p. 21289-92.
16. Taylor, P.J., et al., *Dystrophin gene mutation location and the risk of cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy*. PLoS One, 2010. **5**(1): p. e8803.
17. Bodensteiner, J.B. and A.G. Engel, *Intracellular calcium accumulation in Duchenne dystrophy and other myopathies: a study of 567,000 muscle fibers in 114 biopsies*. Neurology, 1978. **28**(5): p. 439-46.
18. Byers, T.J., L.M. Kunkel, and S.C. Watkins, *The subcellular distribution of dystrophin in mouse skeletal, cardiac, and smooth muscle*. The Journal of Cell Biology, 1991. **115**(2): p. 411-421.

19. Yan, J., et al., *Three-tiered noninvasive diagnosis in 96% of patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD)*. Hum Mutat, 2004. **23**(2): p. 203-4.
20. Ferlini, A., M. Neri, and F. Gualandi, *The medical genetics of dystrophinopathies: molecular genetic diagnosis and its impact on clinical practice*. Neuromuscul Disord, 2013. **23**(1): p. 4-14.
21. Flanigan, K.M., et al., *Mutational spectrum of DMD mutations in dystrophinopathy patients: application of modern diagnostic techniques to a large cohort*. Hum Mutat, 2009. **30**(12): p. 1657-66.
22. Matsumura, K., et al., *Deficiency of dystrophin-associated proteins in Duchenne muscular dystrophy patients lacking COOH-terminal domains of dystrophin*. J Clin Invest, 1993. **92**(2): p. 866-71.
23. Spencer, M.J., D.E. Croall, and J.G. Tidball, *Calpains are activated in necrotic fibers from mdx dystrophic mice*. J Biol Chem, 1995. **270**(18): p. 10909-14.
24. Culligan, K.G. and K. Ohlendieck, *Abnormal calcium handling in muscular dystrophy*. Basic Appl Myol, 2002. **12**: p. 147-157.
25. Altamirano, F., et al., *Increased resting intracellular calcium modulates NF-kappaB-dependent inducible nitric-oxide synthase gene expression in dystrophic mdx skeletal myotubes*. J Biol Chem, 2012. **287**(25): p. 20876-87.
26. Evans, N.P., et al., *Immune-mediated mechanisms potentially regulate the disease time-course of duchenne muscular dystrophy and provide targets for therapeutic intervention*. Pm r, 2009. **1**(8): p. 755-68.
27. Grounds, M.D. and J. Torrisi, *Anti-TNFalpha (Remicade) therapy protects dystrophic skeletal muscle from necrosis*. Faseb j, 2004. **18**(6): p. 676-82.
28. Langen, R.C., et al., *Inflammatory cytokines inhibit myogenic differentiation through activation of nuclear factor-kappaB*. Faseb j, 2001. **15**(7): p. 1169-80.
29. Sharma, R. and S.D. Anker, *Cytokines, apoptosis and cachexia: the potential for TNF antagonism*. Int J Cardiol, 2002. **85**(1): p. 161-71.
30. Villalta, S.A., et al., *IFN-gamma promotes muscle damage in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy by suppressing M2 macrophage activation and inhibiting muscle cell proliferation*. J Immunol, 2011. **187**(10): p. 5419-28.
31. Gorospe, J.R., et al., *A role for mast cells in the progression of Duchenne muscular dystrophy? Correlations in dystrophin-deficient humans, dogs, and mice*. J Neurol Sci, 1994. **122**(1): p. 44-56.
32. Grady, R.M., et al., *Skeletal and cardiac myopathies in mice lacking utrophin and dystrophin: a model for Duchenne muscular dystrophy*. Cell, 1997. **90**(4): p. 729-38.
33. Chandrasekharan, K., et al., *A human-specific deletion in mouse Cmah increases disease severity in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy*. Sci Transl Med, 2010. **2**(42): p. 42ra54.
34. Khurana, T.S., et al., *Immunolocalization and developmental expression of dystrophin related protein in skeletal muscle*. Neuromuscul Disord, 1991. **1**(3): p. 185-94.
35. Blake, D.J., J.M. Tinsley, and K.E. Davies, *Utrophin: a structural and functional comparison to dystrophin*. Brain Pathol, 1996. **6**(1): p. 37-47.
36. Tinsley, J.M., et al., *Amelioration of the dystrophic phenotype of mdx mice using a truncated utrophin transgene*. Nature, 1996. **384**(6607): p. 349-53.
37. Sewry, C.A., et al., *Deficiency of the 50 kDa dystrophin-associated glycoprotein and abnormal expression of utrophin in two south Asian cousins with variable expression*

- of severe childhood autosomal recessive muscular dystrophy.* Neuromuscul Disord, 1994. **4**(2): p. 121-9.
38. Meryon, E., *On Granular and Fatty Degeneration of the Voluntary Muscles.* Med Chir Trans, 1852. **35**: p. 73-84.1.
 39. Marshall, P.D. and C.S. Galasko, *No improvement in delay in diagnosis of Duchenne muscular dystrophy.* Lancet, 1995. **345**(8949): p. 590-1.
 40. Ohtake, T., et al., *Sparing of the perineal muscles in muscular dystrophies.* J Neurol, 1989. **236**(4): p. 252.
 41. Kaminski, H.J., et al., *Extraocular muscles are spared in advanced Duchenne dystrophy.* Ann Neurol, 1992. **32**(4): p. 586-8.
 42. Perlstein, M.A., *DEEP-TENDON REFLEXES IN PSEUDOHYPERTROPHIC MUSCULAR DYSTROPHY: RATE AND ORDER OF LOSS.* Jama, 1965. **193**: p. 540-1.
 43. Karol, L.A., *Scoliosis in patients with Duchenne muscular dystrophy.* J Bone Joint Surg Am, 2007. **89 Suppl 1**: p. 155-62.
 44. McDonald, D.G., et al., *Fracture prevalence in Duchenne muscular dystrophy.* Dev Med Child Neurol, 2002. **44**(10): p. 695-8.
 45. King, W.M., et al., *Orthopedic outcomes of long-term daily corticosteroid treatment in Duchenne muscular dystrophy.* Neurology, 2007. **68**(19): p. 1607-13.
 46. Khirani, S., et al., *Respiratory muscle decline in Duchenne muscular dystrophy.* Pediatr Pulmonol, 2014. **49**(5): p. 473-81.
 47. Spurney, C.F., *Cardiomyopathy of Duchenne muscular dystrophy: current understanding and future directions.* Muscle Nerve, 2011. **44**(1): p. 8-19.
 48. Takami, Y., et al., *High incidence of electrocardiogram abnormalities in young patients with duchenne muscular dystrophy.* Pediatr Neurol, 2008. **39**(6): p. 399-403.
 49. Pane, M., et al., *Early neurodevelopmental assessment in Duchenne muscular dystrophy.* Neuromuscul Disord, 2013. **23**(6): p. 451-5.
 50. Cotton, S., N.J. Voudouris, and K.M. Greenwood, *Intelligence and Duchenne muscular dystrophy: full-scale, verbal, and performance intelligence quotients.* Dev Med Child Neurol, 2001. **43**(7): p. 497-501.
 51. Banihani, R., et al., *Cognitive and Neurobehavioral Profile in Boys With Duchenne Muscular Dystrophy.* J Child Neurol, 2015. **30**(11): p. 1472-82.
 52. Pane, M., et al., *Attention deficit hyperactivity disorder and cognitive function in Duchenne muscular dystrophy: phenotype-genotype correlation.* J Pediatr, 2012. **161**(4): p. 705-9.e1.
 53. Hendriksen, J.G. and J.S. Vles, *Neuropsychiatric disorders in males with duchenne muscular dystrophy: frequency rate of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD), autism spectrum disorder, and obsessive--compulsive disorder.* J Child Neurol, 2008. **23**(5): p. 477-81.
 54. Birnkrant, D.J., et al., *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management.* Lancet Neurol, 2018. **17**(3): p. 251-267.
 55. Becker, P.E. and F. Kiener, *[A new x-chromosomal muscular dystrophy].* Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr, 1955. **193**(4): p. 427-48.
 56. Walton, J.N., R.R. Race, and U. Philip, *On the inheritance of muscular dystrophy; with a note on the blood groups, and a note on colour vision and linkage studies.* Ann Hum Genet, 1955. **20**(1): p. 1-38.

57. Bushby, K.M., et al., *The clinical, genetic and dystrophin characteristics of Becker muscular dystrophy. II. Correlation of phenotype with genetic and protein abnormalities.* J Neurol, 1993. **240**(2): p. 105-12.
58. Maeda, M., et al., *Cardiac dystrophin abnormalities in Becker muscular dystrophy assessed by endomyocardial biopsy.* Am Heart J, 1995. **129**(4): p. 702-7.
59. Soldin, S.J., et al., *Pediatric reference ranges for creatine kinase, CKMB, Troponin I, iron, and cortisol.* Clin Biochem, 1999. **32**(1): p. 77-80.
60. Brooke, M.H., et al., *Clinical investigation in Duchenne dystrophy: 2. Determination of the "power" of therapeutic trials based on the natural history.* Muscle Nerve, 1983. **6**(2): p. 91-103.
61. Morse, R.P. and N.P. Rosman, *Diagnosis of occult muscular dystrophy: importance of the "chance" finding of elevated serum aminotransferase activities.* J Pediatr, 1993. **122**(2): p. 254-6.
62. Griggs, R.C., et al., *Clinical investigation in Duchenne dystrophy: V. Use of creatine kinase and pyruvate kinase in carrier detection.* Muscle Nerve, 1985. **8**(1): p. 60-7.
63. Ando, T., et al., *Myoglobinemia in children with progressive muscular dystrophy.* Clin Chim Acta, 1978. **85**(1): p. 17-22.
64. Kagen, L.J., et al., *Serum myoglobin in muscular dystrophy.* Muscle Nerve, 1980. **3**(3): p. 221-6.
65. Florence, J.M., et al., *Activity, creatine kinase, and myoglobin in Duchenne muscular dystrophy: a clue to etiology?* Neurology, 1985. **35**(5): p. 758-61.
66. Kaido, M., et al., *Muscle histology in Becker muscular dystrophy.* Muscle Nerve, 1991. **14**(11): p. 1067-73.
67. Bulman, D.E., et al., *Differentiation of Duchenne and Becker muscular dystrophy phenotypes with amino- and carboxy-terminal antisera specific for dystrophin.* Am J Hum Genet, 1991. **48**(2): p. 295-304.
68. Voit, T., et al., *Dystrophin as a diagnostic marker in Duchenne and Becker muscular dystrophy. Correlation of immunofluorescence and western blot.* Neuropediatrics, 1991. **22**(3): p. 152-62.
69. Takeshima, Y., et al., *Mutation spectrum of the dystrophin gene in 442 Duchenne/Becker muscular dystrophy cases from one Japanese referral center.* J Hum Genet, 2010. **55**(6): p. 379-88.
70. Bovolenta, M., et al., *A novel custom high density-comparative genomic hybridization array detects common rearrangements as well as deep intronic mutations in dystrophinopathies.* BMC Genomics, 2008. **9**: p. 572.
71. del Gaudio, D., et al., *Molecular diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy: enhanced detection of dystrophin gene rearrangements by oligonucleotide array-comparative genomic hybridization.* Hum Mutat, 2008. **29**(9): p. 1100-7.
72. Ladwig, D., et al., *In utero fetal muscle biopsy in the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy.* Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2002. **42**(1): p. 79-82.
73. Mendell, J.R., et al., *Randomized, double-blind six-month trial of prednisone in Duchenne's muscular dystrophy.* N Engl J Med, 1989. **320**(24): p. 1592-7.
74. Griggs, R.C., et al., *Prednisone in Duchenne dystrophy. A randomized, controlled trial defining the time course and dose response. Clinical Investigation of Duchenne Dystrophy Group.* Arch Neurol, 1991. **48**(4): p. 383-8.

75. McDonald, C.M., et al., *Long-term effects of glucocorticoids on function, quality of life, and survival in patients with Duchenne muscular dystrophy: a prospective cohort study.* Lancet, 2018. **391**(10119): p. 451-461.
76. Escolar, D.M., et al., *Randomized, blinded trial of weekend vs daily prednisone in Duchenne muscular dystrophy.* Neurology, 2011. **77**(5): p. 444-52.
77. Gloss, D., et al., *Practice guideline update summary: Corticosteroid treatment of Duchenne muscular dystrophy: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology.* Neurology, 2016. **86**(5): p. 465-72.
78. Reinig, A.M., S. Mirzaei, and D.J. Berlau, *Advances in the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy: New and Emerging Pharmacotherapies.* Pharmacotherapy, 2017. **37**(4): p. 492-499.
79. Dorchies, O.M., et al., *The anticancer drug tamoxifen counteracts the pathology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy.* Am J Pathol, 2013. **182**(2): p. 485-504.
80. Konieczny, P., K. Swiderski, and J.S. Chamberlain, *Gene and cell-mediated therapies for muscular dystrophy.* Muscle Nerve, 2013. **47**(5): p. 649-63.
81. Bengtsson, N.E., et al., *Progress and prospects of gene therapy clinical trials for the muscular dystrophies.* Hum Mol Genet, 2016. **25**(R1): p. R9-17.
82. Klein, C.J., et al., *Somatic reversion/suppression in Duchenne muscular dystrophy (DMD): evidence supporting a frame-restoring mechanism in rare dystrophin-positive fibers.* Am J Hum Genet, 1992. **50**(5): p. 950-9.
83. Arechavala-Gomez, V., et al., *Revertant fibres and dystrophin traces in Duchenne muscular dystrophy: implication for clinical trials.* Neuromuscul Disord, 2010. **20**(5): p. 295-301.
84. Moore, M.J. and T.R. Flotte, *Autoimmunity in a genetic disease-a cautionary tale.* N Engl J Med, 2010. **363**(15): p. 1473-5.
85. Long, C., et al., *Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy.* Science, 2016. **351**(6271): p. 400-3.
86. Calos, M.P., *The CRISPR Way to Think about Duchenne's.* N Engl J Med, 2016. **374**(17): p. 1684-6.
87. Bladen, C.L., et al., *The TREAT-NMD DMD Global Database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations.* Hum Mutat, 2015. **36**(4): p. 395-402.
88. Kole, R. and A.M. Krieg, *Exon skipping therapy for Duchenne muscular dystrophy.* Adv Drug Deliv Rev, 2015. **87**: p. 104-7.
89. Mendell, J.R., et al., *Longitudinal effect of eteplirsen versus historical control on ambulation in Duchenne muscular dystrophy.* Ann Neurol, 2016. **79**(2): p. 257-71.
90. Cirak, S., et al., *Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: an open-label, phase 2, dose-escalation study.* Lancet, 2011. **378**(9791): p. 595-605.
91. Mendell, J.R., et al., *Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy.* Ann Neurol, 2013. **74**(5): p. 637-47.
92. Voit, T., et al., *Safety and efficacy of drisapersen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DEMAND II): an exploratory, randomised, placebo-controlled phase 2 study.* Lancet Neurol, 2014. **13**(10): p. 987-96.
93. Malik, V., et al., *Aminoglycoside-induced mutation suppression (stop codon readthrough) as a therapeutic strategy for Duchenne muscular dystrophy.* Ther Adv Neurol Disord, 2010. **3**(6): p. 379-89.

94. Finkel, R.S., *Read-through strategies for suppression of nonsense mutations in Duchenne/Becker muscular dystrophy: aminoglycosides and ataluren (PTC124)*. J Child Neurol, 2010. **25**(9): p. 1158-64.
95. Bushby, K., et al., *Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy*. Muscle Nerve, 2014. **50**(4): p. 477-87.
96. Narayanaswami, P., et al., *Quality improvement in neurology: muscular dystrophy quality measures*. Neurology, 2015. **85**(10): p. 905-9.
97. Birnkrant, D.J., et al., *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: respiratory, cardiac, bone health, and orthopaedic management*. Lancet Neurol, 2018. **17**(4): p. 347-361.
98. Birnkrant, D.J., et al., *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 3: primary care, emergency management, psychosocial care, and transitions of care across the lifespan*. Lancet Neurol, 2018. **17**(5): p. 445-455.
99. McNally, E.M., et al., *Contemporary cardiac issues in Duchenne muscular dystrophy. Working Group of the National Heart, Lung, and Blood Institute in collaboration with Parent Project Muscular Dystrophy*. Circulation, 2015. **131**(18): p. 1590-8.
100. Griggs RC, M.J., Miller RG. , *Evaluation and Treatment of Myopathies*. 1995.
101. Muntoni, F., et al., *Brief report: deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy*. N Engl J Med, 1993. **329**(13): p. 921-5.
102. Towbin, J.A., et al., *X-linked dilated cardiomyopathy. Molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus*. Circulation, 1993. **87**(6): p. 1854-65.
103. Yoshida, K., 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): p. 1161-6.
104. Ferlini, A., et al., *X-linked dilated cardiomyopathy and the dystrophin gene*. Neuromuscul Disord, 1999. **9**(5): p. 339-46.
105. Neri, M., et al., *Dystrophin levels as low as 30% are sufficient to avoid muscular dystrophy in the human*. Neuromuscul Disord, 2007. **17**(11-12): p. 913-8.
106. Gold, R., et al., *Becker muscular dystrophy: detection of unusual disease courses by combined approach to dystrophin analysis*. Muscle Nerve, 1992. **15**(2): p. 214-8.
107. Gospe, S.M., Jr., et al., *Familial X-linked myalgia and cramps: a nonprogressive myopathy associated with a deletion in the dystrophin gene*. Neurology, 1989. **39**(10): p. 1277-80.
108. Figarella-Branger, D., et al., *Exertional rhabdomyolysis and exercise intolerance revealing dystrophinopathies*. Acta Neuropathol, 1997. **94**(1): p. 48-53.
109. Moser, H. and A.E. Emery, *The manifesting carrier in Duchenne muscular dystrophy*. Clin Genet, 1974. **5**(4): p. 271-84.
110. Emery, A.E., *Duchenne muscular dystrophy--Meryon's disease*. Neuromuscul Disord, 1993. **3**(4): p. 263-6.
111. Eiholzer, U., et al., *Short stature: a common feature in Duchenne muscular dystrophy*. Eur J Pediatr, 1988. **147**(6): p. 602-5.
112. Bello, L., et al., *DMD genotypes and loss of ambulation in the CINRG Duchenne Natural History Study*. Neurology, 2016. **87**(4): p. 401-9.

113. Vry, J., et al., *European Cross-Sectional Survey of Current Care Practices for Duchenne Muscular Dystrophy Reveals Regional and Age-Dependent Differences*. J Neuromuscul Dis, 2016. **3**(4): p. 517-527.
114. Fowler, W.M., Jr. and C.M. Pearson, *DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SERUM ENZYMES. II. NEUROLOGIC DISEASES OTHER THAN MUSCULAR DYSTROPHY*. Arch Phys Med Rehabil, 1964. **45**: p. 125-30.
115. McMillan, H.J., et al., *Serum transaminase levels in boys with Duchenne and Becker muscular dystrophy*. Pediatrics, 2011. **127**(1): p. e132-6.
116. Aartsma-Rus, A., I.B. Ginjaar, and K. Bushby, *The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy*. J Med Genet, 2016. **53**(3): p. 145-51.
117. Ankala, A., et al., *Aberrant firing of replication origins potentially explains intragenic nonrecurrent rearrangements within genes, including the human DMD gene*. Genome Res, 2012. **22**(1): p. 25-34.
118. Norman, A. and P. Harper, *A survey of manifesting carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy in Wales*. Clin Genet, 1989. **36**(1): p. 31-7.
119. Moat, S.J., et al., *Newborn bloodspot screening for Duchenne muscular dystrophy: 21 years experience in Wales (UK)*. Eur J Hum Genet, 2013. **21**(10): p. 1049-53.
120. Moat, S.J., et al., *Characterization of a Blood Spot Creatine Kinase Skeletal Muscle Isoform Immunoassay for High-Throughput Newborn Screening of Duchenne Muscular Dystrophy*. Clin Chem, 2017. **63**(4): p. 908-914.
121. Gatheridge, M.A., et al., *Identifying Non-Duchenne Muscular Dystrophy-Positive and False Negative Results in Prior Duchenne Muscular Dystrophy Newborn Screening Programs: A Review*. JAMA Neurol, 2016. **73**(1): p. 111-6.

8.EKLER

Ek.1 Çalışma vaka kayıt formu

Hasta Sıra No:				Soygeçmiş:	
Doğum yeri:				Anne yaşı:	
Dosya No/TC:				Annede erken yorulma/merdiven çıkmada zorlanma var mı:	
Yaş/Cinsiyet:				Annede hastalık öyküsü:	
Tanı yaşı:				Baba yaşı:	
	Yaş Aralığı	Normal	Geçikti	Babada hastalık öyküsü:	
Yürüme				Akrabalık var mı/ Aynı köyden mi:	
Konuşma					
MMC					
Baş kontrolü					
Destekli oturma					
Desteksiz oturma					
Ayak üzerinde durma					
Tay durma					
Eşyaya tutunarak yürüme					
Emekleme					
Yürüme					

CK düzeyi:	
Genetik analiz sonucu:	
Özgeçmiş:	
Prenatal:	
Natal:	
Genetik analiz sonucu:	

Tanı anındaki başvuru şikayeti:

Kardeş No.	Cinsiyet/ Yaş	Hastalık öyküsü	Geç yürüme	Erken yorulma	Sık düşme

Anne tarafında hastalık öyküsü(yürüyemeyen/geç yürüyen/erken yorulan var mı: