



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

"DISTROFINOPATIAS"

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ESPECIALISTA EN NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DR. RUBÉN RIVAS ANGELES

TUTOR:

DRA. MATILDE RUIZ GARCÍA

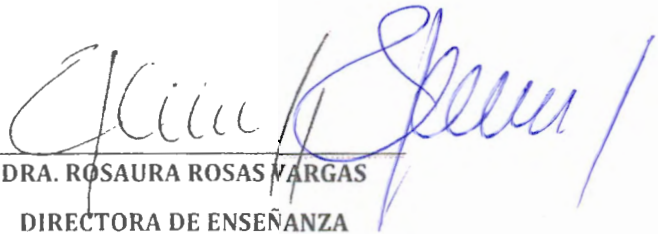
MÉXICO DF.

2015



TÍTULO DE TESIS:

"DISTROFINOPATIAS"



DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA



DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DRA. MATILDE RUIZ GARCÍA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE SUBESPECIALIDAD EN
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA Y TUTOR DE TESIS



RESUMEN

"DISTROFINOPATIAS"

Las distrofinopatias son enfermedades recesivas ligadas al X. Las formas más comunes son la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y la distrofia muscular de Becker (DMB). La DMD tiene incidencia de un caso por cada 3300-3600 nacidos vivos masculinos haciendo de esta enfermedad la distrofia más común. La DMB es de un caso por cada 18,000 a 31,000 nacidos vivos masculinos. La prevalencia para DMD es de 1.7 a 4.2 y para DMB de 0.4 a 3.6 por 100,000 en la población en general y en estudios considerando solo población masculina 4.78 (95% CI 1.94-11.81) para DMD y 1.53 (95% CI 0.26-8.94) para DMB por cada 100,000.

Las distrofias musculares son un grupo de alteraciones genéticas y bioquímicas que comparten características clínicas y alteraciones distroficas en la biopsia muscular pero que pueden tener fenotipos muy variables. Se caracterizan por debilidad muscular progresiva que puede afectar músculos axiales o apendiculares pudiendo incluir incluso músculos de la respiración, cardiacos y de la deglución en grado variable.

La severidad, la edad de inicio, el grado de progresión, las complicaciones así como el pronóstico, puede variar en las diferentes formas de estas enfermedades.

En este trabajo se revisa las bases biológicas de la enfermedad, las manifestaciones clínicas de las formas más comunes, los métodos diagnósticos con los que contamos actualmente así como los posibles diagnósticos diferenciales, tratamiento y manejo actual.

INDICE

I.	Introducción.....	1
II.	Etiología. Bases biológicas de la enfermedad.....	2
III.	Fisiopatología.....	3
IV.	Manifestaciones clínicas o formas clínicas.....	3
	1. Distrofia muscular de Duchenne.....	3
	2. Distrofia muscular de Becker.....	7
V.	Diagnóstico.....	8
	1. Enzimas musculares.....	8
	2. Electromiografía.....	10
	3. Biopsia Muscular.....	10
	4. Inmunohistoquímica para distrofina.....	11
	5. Prueba de Western Blot.....	11
	6. Prueba genética molecular.....	12
VI.	Diagnóstico diferencial.....	12
	1. Distrofia muscular de cinturas.....	12
	2. Deficiencia de maltasa ácida y atrofia espinal muscular.....	12
	3. Distrofia muscular de Emery Dreifuss.....	13
	4. Distrofias musculares congénitas.....	13
	5. Síndrome de depleción de ADN mitocondrial.....	13
	6. Dermatomiositis.....	13
	7. Otras.....	13
VII.	Tratamiento y manejo.....	14
	1. Manejo multidisciplinario.....	14
	2. Terapia farmacológica.....	15
	3. Transferencia de mioblastos.....	16
	4. Terapia con células madre.....	16
	5. Terapia génica y otras intervenciones.....	16
	6. Terapia con aminoglucósidos.....	17
VIII.	Bibliografía.....	18

"DISTROFINOPATIAS"

INTRODUCCIÓN.

Las distrofinopatias son enfermedades recesivas ligadas al X, relacionadas a la deficiencia de distrofina. Las formas más comunes son la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y la distrofia muscular de Becker (DMB). La DMD es la forma más común con una incidencia de un caso por cada 3300-3600 nacidos vivos masculinos haciendo de esta enfermedad la distrofia más común por incidencia. En el caso de la DMB es de un caso por cada 18,000 a 31,000 nacidos vivos masculinos. La prevalencia para DMD es de 1.7 a 4.2 y para DMB de 0.4 a 3.6 por 100,000 en la población en general y en estudios considerando solo población masculina 4.78 (95% CI 1.94-11.81) para DMD y 1.53 (95% CI 0.26-8.94) para DMB por cada 100,000 (1,2).

La primera descripción fue realizada por Duchenne en 1961, como paraplejía hipertrófica de la infancia de causa cerebral, 7 años después fue el primero en caracterizar la enfermedad y reconocer una causa muscular. Sin embargo algunos años antes Little y Maryon ya habían reportado algunos casos. Fue Gowers en 1886 el primero en deducir la base genética de la enfermedad y también describió a los pacientes con un inicio más tardío. Erb en 1891 describió algunos casos de distrofia muscular de los que se considera que por lo menos 10 correspondían a DMD. Fueron Becker y Kiener en 1953 quienes describieron una forma más benigna de distrofia muscular ligada al X y Becker fue quien propuso que los pacientes menos sintomáticos reflejaban una mutación menor en el mismo Gen. Fue hasta 1986 cuando se localizara el gen causante por Kunkel en el brazo corto del cromosoma X en la banda 21 (Xp21), aislando el fragmento específico de DNA faltante. Posteriormente se conoció la secuencia completa del gen de la DMD y fue clonada por el grupo de Kunkel en Boston y el producto proteico fué llamado distrofina (3).

Las distrofias musculares son un grupo de alteraciones genéticas y bioquímicas que comparten características clínicas y alteraciones distroficas en la biopsia muscular pero que pueden tener fenotipos muy variables. Se caracterizan por debilidad muscular progresiva que puede afectar músculos axiales o apendiculares pudiendo incluir incluso músculos de la respiración, cardiacos y de la deglución en grado variable.

La severidad, la edad de inicio, el grado de progresión y las complicaciones consecuentes así como el pronóstico puede variar en las diferentes formas de este trastorno. La identificación de las bases genéticas de las formas más comunes de distrofia muscular ha dado lugar a una inesperada expansión del rango clínico de variantes, incluyendo trastornos alelicos, que no comparten características con las primeras distrofias musculares descritas. El conocimiento de las bases moleculares ha llevado a desarrollar nuevos tratamientos. La disponibilidad de las guías clínicas basadas en consenso de expertos han llevado a protocolizar los estándares de cuidado con la implementación de cuidados anticipados hechos en base al conocimiento de las complicaciones de los trastornos individuales. Esto llevó a mejorar

la prevención y el tratamiento de las complicaciones, seguida por mejoría en la evolución clínica y mejoría en la sobrevida.

ETIOLOGÍA. BASES BIOLÓGICAS DE LA ENFERMEDAD.

El gen de la distrofina es muy grande y comprende un transcrito de 14 kilobases (Kb) con 79 exones y expandiéndose hasta 2.4 millones de pares de bases en el cromosoma Xp21.3-p21.2, que corresponde casi al 1% del cromosoma X. El gen tiene amplio polimorfismo y codifica para una proteína de 427 kilodaltons (kDa) a través de sus 79 exones. La secuenciación del gen completo puede ser obtenido en el sitio web www.ncbi.nlm.nih.gov. El gen de la DMD puede generar varias isoformas tipo específicas celulares de la distrofina, de diferentes pesos moleculares dadas por diferentes promotores. Aunque muchos pacientes heredan la condición de su madre (ligado al X recesivo), el tamaño y la complejidad del gen es tan amplio que provee una amplia oportunidad de mutaciones esporádicas, las cuales pueden corresponder hasta al 25% de los casos (4).

De las mutaciones en DMD y DMB la gran mayoría son deleciones, detectadas en aproximadamente el 65% de los masculinos con DMD y 85% de los masculinos con DMB. Se han detectado también duplicaciones parciales en cerca del 6%. Las deleciones o duplicaciones involucran uno o más exones del gen de la DMD. Tanto en la DMD y DMB hasta un 30-35% no tienen deleciones o duplicaciones detectables con los métodos actuales. Se cree que esto se debe a un cambio simple de bases, pequeñas deleciones o inserciones, o errores de empalme. Se considera que no hay relación en el tamaño de la deleción en el gen de la distrofina con la gravedad de la presentación clínica.

En relación a las distrofinopatías en mujeres, raramente pueden manifestar síntomas moderados o severos. Durante el desarrollo embriogénico ocurre la inactivación al azar de uno de los dos cromosomas X (lionización), dejando activos 50% de los cromosomas maternos y 50% de los paternos, de tal forma que si el cromosoma X materno llevaba un gen mutado de distrofina 50% de los núcleos restantes tienen un gen activo normal de distrofina, y esto puede producir suficiente distrofina para evitar necrosis muscular. En el caso de inactivación no aleatoria del cromosoma X, menos del 50% de los núcleos pueden tener un gen activo normal de la distrofina, dando lugar a una deficiencia de distrofina y manifestaciones clínicas en mujeres. Se han descrito también mujeres sintomáticas con traslocación autosómica del X con puntos de ruptura en Xp21.3-21.2 dentro del gen de distrofina, dando como resultado la inactivación preferencial del cromosoma normal.

La afectación clínica en mujeres puede verse también en el caso de síndrome de Turner (X0), o su mosaicismo si el cromosoma X es portador de un gen mutado de la distrofina y, ocasionalmente en la disomía uniparental para el cromosoma X completo o la disomía uniparental parcial para la región Xp21 pueden dar como resultado una mujer con fenotipo sintomático para DMD o DMB (5).

FISIOPATOLOGÍA

La distrofina es parte de un gran complejo de proteínas asociadas a glicoproteína. El mayor subcomplejo en esta categoría es el complejo asociado a distrofina-glicoproteína, que son proteínas asociadas al sarcolema (Distrofina y sarcoglicanos en adición a distroglicanos). Las proteínas de este grupo dan origen a la forma más común de distrofia muscular en la niñez, distrofia muscular de Duchenne y distrofia muscular de Becker y a cuatro fenocopias autosómicas recesivas, llamados sarcoglicanopatías (6).

El complejo de proteínas asociado a distrofina conecta la actina del citoesqueleto intracelular a la lámina basal a través de la matriz extracelular. Este complejo estabiliza la membrana del sarcolema durante la contracción y relajación musculares.

En el músculo esquelético el papel primario de la distrofina es probablemente la estabilización mecánica de la membrana plasmática. Se ha observado que en el caso de músculos deficientes de distrofina hay mayor susceptibilidad a la ruptura del sarcolema secundario a la contracción. La distrofina puede permitir a la membrana plegarse durante la contracción-relajación de las fibras musculares, y puede también servir como un estabilizador de las moléculas que abarcan la membrana como los sarcoglicanos. Por eso la manifestación clínica de la deficiencia de distrofina, puede estar relacionada a la pérdida de la estabilidad de los sarcoglicanos o de otras funciones del complejo de proteínas asociadas a distrofina-glicoproteínas. Una cantidad disminuida de distrofina da como resultado debilidad mecánica de la membrana plasmática y permite entrada masiva de calcio extracelular que activa posteriormente a las enzimas proteolíticas y estas finalmente originan gradualmente lesión y necrosis de las fibras musculares. Esto puede explicar porque son enfermedades progresivas, y porque las fibras musculares de pequeño calibre (Por ejemplo fibras de los músculos extra oculares), son relativamente respetadas debido al estrés mecánico por unidad de área de superficie de membrana en fibras musculares de pequeño calibre, es menor que la ejercida en fibras más grandes. Otras formas de lesión descritas hasta ahora consideran la señalización alterada, isquemia intermitente de músculo esquelético o cardiaco debido a disfunción de músculo liso vascular, una reparación defectuosa de membrana y una reparación defectuosa de las fibras musculares dañadas.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS O FORMAS CLÍNICAS.

Hay gran heterogeneidad en la presentación clínica, sin embargo se considera aun tanto a la DMD como el espectro más severo de la enfermedad y a la DMB como una forma clínica más benigna.

Distrofia Muscular de Duchenne.

En la distrofia muscular de Duchenne aunque los niños tengan evidencia histológica y por laboratorio (como elevación en la CPK y transaminasas), o incluso miopatía al nacimiento, las manifestaciones clínicas por lo general están ausentes durante los dos

primeros años de vida. La estatura corta sin embargo puede ser vista en niños pre-sintomáticos con DMD. Al nacimiento el peso y talla son normales, pero durante la niñez temprana las curvas de crecimiento caen de las percentilas normales para la edad. Durante los primeros dos años de vida, algunos niños afectados pueden presentar retraso en el desarrollo motor grueso como por ejemplo retraso para lograr la posición sentado, para ponerse de pie, y caminar en forma autónoma. Los síntomas que primero notan los familiares en el menor afectado con DMD son: Retraso en el desarrollo motor grueso (42%), retraso al caminar (20%), dificultades para caminar incluyendo caminar de puntas en forma persistente, pies planos (30%), problemas de aprendizaje(5%) y retraso del lenguaje (3%). Otros que se refieren son caídas frecuentes, agrandamiento de la pantorrilla, debilidad muscular entre los 2-3 años y en algunos casos los signos de debilidad pueden retardarse y ser aparentes hasta después de los 3 años. La debilidad selectiva afecta músculos proximales de las extremidades antes que los distales, presentando generalmente dificultad para correr, saltar y subir las escaleras. La edad media de diagnóstico es entre los 4 años 10 meses para niños sin antecedentes familiares de distrofia muscular de Duchenne. Entre los 3-6 años suele aparecer una base amplia de sustentación, lordosis lumbar marcada, y agrandamiento de las pantorrillas y en algunos casos manifiestan dolor en las piernas. Se describe presente el signo de Gowers sin embargo no es específico de DMD y puede ser encontrado en otras miopatías (Figura 1). Se puede observar debilidad de los músculos flexores del cuello, de tal forma que el niño al estar en posición decúbito supino, no puede flexionar contra gravedad el cuello y elevar la cabeza.

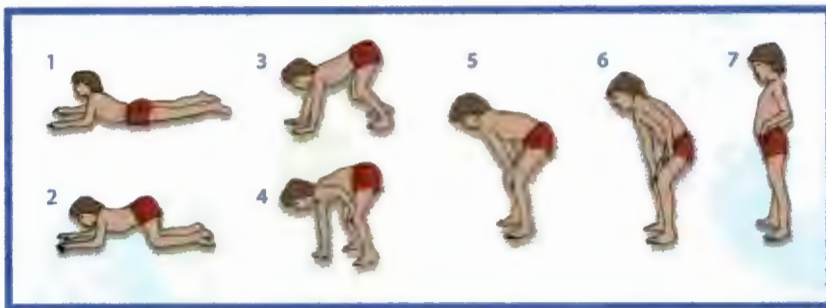


Figura 1. Signo de Gowers en paciente con distrofia muscular de Duchenne.

El examen físico muestra agrandamiento de las pantorrillas (Hipertrofia inicial y pseudohipertrofia posterior por remplazo del musculo por grasa y tejido conectivo) y en algunos casos de los músculos cuádriceps, glúteos, deltoides, infra-espinosos y raramente maceteros (Figura 2). Posteriormente contracturas distales en miembros inferiores, marcha de puntas hasta deformarse en pie equinovaro.

Se describe entre la edad de 3-6 años, mejoría conocida como la fase de luna de miel, y esto se debe a que el desarrollo motor normal para la edad supera la velocidad de la

evolución de la enfermedad, pero esta fase es seguida por un deterioro implacable y evolutivo. Entre los 6-11 años disminuye la fuerza muscular casi linealmente pero permanece la capacidad para caminar, ponerse de pie a partir de la posición supina, subir escaleras con barandales, caminar distancias cortas. La velocidad con la cual las funciones se pierden en los pacientes con DMD es muy variable. Cuando la enfermedad avanza los reflejos de estiramiento muscular disminuyen hasta desaparecer, antes de la edad de 10 años los reflejos en el tríceps, bíceps, y rodilla son difíciles de elucidar hasta en el 50% de los pacientes. El braquirradial permanece activo mucho más tiempo y el reflejo aquileo puede ser observado solo en 1/3 de los pacientes afectados en las últimas fases de la enfermedad.



Figura 2. Seudo-Hipertrofia de gastrocnemios.

Otras características clínicas constantes de la enfermedad son contractura de las articulaciones entre los 6 a 10 años, involucrando el tobillo, bandas iliotibiales, y contracturas de la cadera, causando el caminar de puntas y limitación de la flexión de la cadera hasta en el 70% de los casos. Las contracturas de las rodillas, muñecas y codos aparecen alrededor de los 8 años y se correlacionan con la pérdida de la capacidad de deambulacion. Esta deambulacion por la disminucion de la fuerza requerirá apoyo con muletas alrededor de los 10 años y la confinación a silla de ruedas por lo general de los 10-12 años.

La debilidad en los músculos de los miembros superiores se incrementa gradualmente y los pacientes ya confinados en silla de ruedas pueden realizar únicamente movimientos menores que involucran sus manos y antebrazos. Los músculos del tronco y de todas las extremidades se atrofian en relación a la pérdida de la deambulación. Ya en silla de ruedas se desarrolla escoliosis secundaria a la debilidad de los músculos paraespinales (7), la función pulmonar se deteriora gradualmente y en relación a la debilidad de los músculos de la respiración y por la escoliosis gradual. La evolución del deterioro de la función respiratoria se correlaciona con el grado de cifoescoliosis. El deterioro en la función respiratoria inicia por los 8-9 años aproximadamente con disminución de la capacidad vital y la capacidad pulmonar total.

La mayoría de los pacientes fallecen al final de la segunda década de la vida con una media de 20 años mas menos 3.9 años, frecuentemente de falla respiratoria (40%), con o sin infección pulmonar concomitante. Otra causa común de muerte es la falla cardiaca asociada a la cardiomiopatía progresiva (10-40%).

En cuanto al corazón el 90% de los pacientes con DMD tiene alteraciones en el electrocardiograma (EKG), alteraciones en la conducción intra-auricular, taquicardia sinusal y otras arritmias sinusales. La incidencia de miocardiopatía se incrementa gradualmente en la adolescencia, 1/3 de los pacientes afectados ya a los 14 años, la mitad de ellos a los 18 años y un 100% mas allá de los 18 años. El ecocardiograma muestra disminución en la contractibilidad de la pared ventricular posterobasal y el miocardio del ventrículo izquierdo adyacente.

La gran mayoría de los pacientes con DMD permanecen libres de síntomas cardiovasculares hasta la etapa tardía de la enfermedad, probablemente debido a su incapacidad para el ejercicio el cual puede enmascarar los síntomas cardiacos. En etapas avanzadas de la enfermedad se puede desarrollar la insuficiencia cardiaca congestiva y arritmias. En casos raros la insuficiencia cardiaca congestiva puede ser el cuadro que domine y llegar a ser la causa de la muerte sin marcado compromiso de la función respiratoria.

En cuanto al cerebro, estudios con resonancia magnética cerebral, han demostrado que los pacientes con DMD pueden tener volúmenes cerebrales totales menores en relación con la población en general y la alteración es tanto en sustancia blanca como en sustancia gris (8). Muchos pacientes con DMD exhiben alteración no progresiva de la función intelectual. El coeficiente intelectual puede estar una desviación estándar más abajo de la media de la población en general; sin embargo ocasionalmente puede estar en el promedio o incluso arriba del promedio. Se describe bajos perfiles neurocognitivos en los pacientes con DMD incluso hasta llegar al retraso mental (9). Parece haber asociación muy fuerte entre el retraso de la capacidad de deambular y la alteración cognitiva en los pacientes con DMD (10).

En los pacientes con DMD se pueden presentar cuadros de epilepsia; esto se describe hasta en el 6.3% de los pacientes afectados y parece ser la frecuencia similar entre aquellos pacientes con DM y retraso mental y aquellos que no la tienen (11). La

observación clínica demuestra que en adición a la degeneración muscular en la DMD, se acompaña comúnmente por síntomas neurocognitivos de deterioro, alteraciones en el aprendizaje, especialmente en la automatización de la lectura, procesos de atención y habilidades para el lenguaje expresivo. Se sugiere que la ausencia de distrofina puede incrementar de la excitabilidad neuronal (12).

En cuanto al músculo liso, la afección en la DMD puede llevar a la hipomotilidad gastrointestinal, vaciamiento gástrico retardado y se ha descrito degeneración de la pared muscular longitudinal externa del estómago, secundariamente relacionado a la deficiencia de distrofina en el músculo liso.

En el hueso hay osteoporosis, incluso iniciando aun cuando no han perdido la deambulacion, siendo más severa en extremidades inferiores, pudiendo provocar fracturas. Esto puede ser agravado con el uso de esteroides en su tratamiento.

Se debe tener cuidado especial en la susceptibilidad de los pacientes con DMD a los anestésicos como por ejemplo halotano y su asociación con succinilcolina, con el riesgo de episodios parecidos a hipertermia maligna, hiperkalemia aguda, incremento de los niveles de CPK en relación con sus basales previos así como signos de insuficiencia cardiaca aguda.

Distrofia muscular de Becker

En la DMB la edad de inicio de los síntomas es por lo general mas tardía, entre los 5-15 años y en algunos casos hasta la 3ra o 4a década o incluso más tarde. Sin embargo la edad media de inicio de los síntomas es de 12 años. Los pacientes con inicio de los síntomas antes de la edad de los 8 años son difíciles de distinguir clínicamente de los de DMD. A la edad de 10 años por lo menos el 50% de los afectados son sintomáticos, y a la edad de los 20 años hasta el 90 % ya tiene signos clínicos de la enfermedad.

El grado de afección clínica por lo general es moderada, pero el patrón de afección muscular es similar al de DMD. La cintura pélvica y los músculos de los muslos son afectados primero y la alteración de los músculos de la pantorrilla ocurre temprano en la mayoría pero no en todos los casos. Los músculos tibiales anteriores y peroneos son menos afectados. La debilidad en la cintura escapular se desarrolla en forma más tardía después de la debilidad proximal de los músculos de las extremidades inferiores. Se refiere como la media para el inicio de la debilidad en miembros inferiores la edad de 11 años y para la debilidad en miembros superiores alrededor de los 31 años. Los músculos de la pantorrilla, del antebrazo y los intrínsecos de la mano permanecen fuertes hasta fases tardías de la enfermedad. Se describe dolor en la pantorrilla posterior al ejercicio en el 28 % en etapas iniciales, y hasta un 91% en etapas tardías. La mioglobinuria es poco frecuente.

Se preserva también la fuerza de los músculos flexores del cuello, así como los músculos faciales que estarán preservados. Es poco frecuente el desarrollo de contracturas y escoliosis, pero pueden estar presentes una vez que el paciente queda confinado en silla de ruedas. La enfermedad cardiaca así como la alteración cognitiva

no son tan comunes ni tan severas como en la DMD y los síntomas gastrointestinales están por lo general ausentes. La mayoría de pacientes con DMB exhiben coeficientes intelectuales bajos; los pacientes con DMB permanecen por lo general con la capacidad de deambular mas allá de la edad de los 16 años. Por lo general los pacientes con DMB pierden la capacidad de deambulación hasta la cuarta década de la vida, sobreviven mas allá de la edad de los 30 años, ocurriendo el fallecimiento entre los 30-60 años por insuficiencia respiratoria o cardiomiopatía. La media de edad para la muerte en el grupo de pacientes con DMB es de mediados de la década de los 40 años. Hay casos reportados con inicio de los síntomas en la cuarta década y permanencia deambulatoria hasta los 60's. La progresión de la enfermedad parece ser dependiente del tipo de delección por si mismo asociada con el tipo específico de la estructura de la distrofina defectuosa mas que con la cantidad de la misma (13).

DIAGNÓSTICO

La identificación y secuenciación del Gen de la DMD y DMB y la caracterización de la proteína como su producto final (Distrofina), nos da una herramienta molecular para el diagnóstico seguro de estas enfermedades. Sin embargo iniciando por la evaluación clínica, contamos inicialmente con criterios clínicos diagnósticos ya bien establecidos tanto para DMD y DMB los cuales se revisan en la tabla número 1.

Enzimas musculares.

Los niveles de Creatininfosfoquinasa (CPK), antes de la edad de 5 años son 20-200 veces del límite de lo normal para DMB y de 50-200 veces más en DMD. De tal forma que niveles entre 10,000 a 50,000 IU/L (Unidades Internacionales por Litro), no son tan inusuales en DMD y DMB. En niños con distrofia muscular de Duchenne, durante sus primeros 3 años de vida, los niveles séricos de CPK son siempre por arriba de 10 veces el valor normal, teniendo un pico entre los 2-3 años. Sin embargo tienden a disminuir gradualmente con la edad a un rango aproximado del 20% por año, y esto está en relación a la disminución de las fibras musculares hipertróficas que son la fuente de la CPK y su sustitución con grasa y tejido conjuntivo. Los niveles de CPK están incrementados en ambos padecimientos, por lo que no puede ser esta una forma de diferenciar DMD de DMB como único criterio. Es de llamar la atención que en mujeres portadoras los niveles de CPK pueden variar desde lo normal a cifras parecidas a los afectados.

Otras enzimas séricas que sufren cambios similares a la CPK son las transaminasas, tanto la transaminasa glutámico piruvica como la glutámico oxalacetica (TGP o ASL y TGO o AST respectivamente), tienden a aumentar y seguir el curso de las elevaciones de la CPK. Es decir, cuando la CPK aumenta, aumentan las transaminasas y cuando por la evolución de la enfermedad la CPK tiende a bajar, las transaminasas también. La AST(TGO) es la menos específica por encontrarse en muchos órganos.

**CRITERIOS CLÍNICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE Distrofia Muscular de
Duchenne y Becker**

CRITERIOS	DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE	DISTROFIA MUSCULAR DE BECKER
1. Edad de presentación.	Síntomas presentes antes de la edad de 5 años.	Síntomas después de los 5 años (No siempre).
2. Patrón de debilidad.	Progresiva, simétrica, proximal más que distal, comúnmente con hipertrofia de gastrocnemios.	Progresiva, simétrica, atrofia, proximal más que distal, comúnmente con hipertrofia de gastrocnemios, debilidad de cuádriceps femoral puede ser el único signo, algunos pacientes calambres inducidos por la actividad, contracturas en flexión de codos en etapas tardías en el curso de la enfermedad.
3. Exclusiones	Fasciculaciones, pérdida de modalidades sensoriales.	Fasciculaciones, pérdida de las modalidades sensoriales.
4. Dependencia en silla de ruedas	Antes de la edad de 13 años.	No antes de los 16 años.
5. Elevación de la CPK sérica	Por lo menos 10 veces y en relación con la edad y movilidad.	Por lo menos 5 veces en relación con la edad y movilidad.
6. Hallazgos en la electromiografía	Potenciales de acción de corta duración, baja amplitud, polifásicos, fibrilaciones, ondas positivas con velocidades de conducción sensitiva y motora normales (En el curso de la enfermedad temprana).	Potenciales de acción de corta duración, baja amplitud, polifásicos, fibrilaciones, ondas positivas con velocidades de conducción sensitiva y motora normales (En el curso de la enfermedad temprana).
7. Biopsia muscular	Cambios distróficos, incluyendo variación en el tamaño de fibras, focos de necrosis y regeneración, hialinización y depósitos de grasa y tejido conectivo.	Cambios distróficos, incluyendo variación en el tamaño de fibras, focos de necrosis y regeneración, hialinización y depósitos de grasa y tejido conectivo.
8. Distrofina	Ausencia en biopsia muscular, excepto por fibras positivas ocasionales (-5% de las fibras).	Distrofina en cantidad anormal o peso molecular más bajo o ambos.
9. Delección/ Haplotipo	Delección fuera de secuencia o haplotipo de polimorfismo con vínculo muy cerrado, idéntico con otros casos en la familia.	Delección fuera de secuencia o haplotipo de polimorfismo con vínculo muy cerrado, idéntico con otros casos en la familia.
10. Historia familiar	Positiva, compatible con herencia recesiva ligada al X.	Positiva, compatible con herencia recesiva ligada al X.
RESUMEN	Caso esporádico: Criterios 2,3,5,7,8,y 9 todos presentes antes de los 5 años, o si los criterios 1-9 a la edad de 5-12 años, o los criterios 1-5 y 9 (o 7-8) están presentes a la edad de >de 12 años. Si hay historia familiar de DMD criterios 5 y 10 deben estar presentes si la edad es < de 5 años; criterios 1,2,3 y 5 deben estar presentes a la edad >de 5 años.	Caso esporádico: Si los criterios 2-6 y tanto el 9 o 7 y 8 están presentes. Si un familiar en primer grado está afectado, el diagnóstico esta hecho si el criterio 5 está presente (Al menos dos veces), si hay historia familiar de DMB en otro familiar, criterios 2-6 y tanto el 9 o 7 y 8 deben estar presentes.

Tabla 1. Distrofia muscular de Duchenne y Becker. Criterios diagnósticos.

Se conoce que tanto la DMD como la DMB pueden cursar con Mioglobinemia en etapas iniciales y relacionadas con el ejercicio, por lo que puede tenerse en cuenta los niveles séricos de mioglobina.

Electromiografía.

La electromiografía con aguja muestra cambios miopáticos usualmente de corta duración(3-7msg), baja amplitud (0.4-1.8mV), potenciales polifásicos de reclutamiento temprano, principalmente en los músculos proximales débiles y el 50% o más de potenciales de unidad motora pueden ser polifásicos. El examen con aguja puede mostrar también incremento de la actividad de inserción, con potenciales de fibrilación, ondas agudas positivas, así como descargas de complejos repetitivos probablemente debida a la necrosis segmentaria que separa las fibras musculares de su inervación. Los potenciales de fibrilación también pueden estar originados de la regeneración de fibras (Figura 3). Conforme avanza la enfermedad y la degeneración es mayor en las fibras musculares los potenciales van siendo mas pequeños incluso hasta llegar a ser eléctricamente silentes. Es de hacer notar que pocos pacientes necesitaran la electromiografía para establecer diagnóstico, en virtud la clínica es evidente y se puede utilizar en casos esporádicos de sospecha de DMB o en portadoras femeninas con elevación modesta de la CPK (<de 1000IU/L) y debilidad muscular proximal, así como para excluir un proceso neuropático, o en aquellos casos con fines académicos.

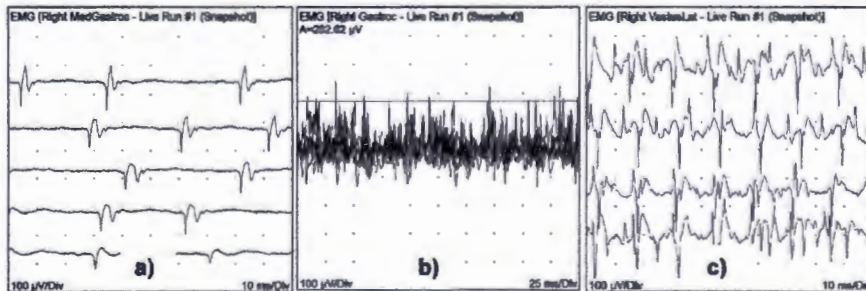


Figura 3. Electromiografía en distrofia muscular de Duchenne: a) Potenciales de unidad motora frecuentes y polifásicos, corta duración y baja amplitud, b) Potenciales de unidad motora con patrón miopático con unidades pequeñas y rápido reclutamiento, c) Potenciales de fibrilación.

Biopsia Muscular

Hasta antes de la prueba molecular, la biopsia era el estándar de oro para el diagnóstico de la DMD y de la DMB. Por microscopía de luz la biopsia muscular demuestra degeneración, regeneración, fibras hipertróficas aisladas, y remplazo

significante de músculo por grasa y tejido conectivo. La degeneración de fibras necróticas se reconoce por la tinción de tricómico por su color verde-azul (Normal azul profundo), y por su citoplasma esmerilado u homogéneo. Con tinción de eosina-hematoxilina se observan segmentos hipercontracturados no necróticos en rosa oscuro. Son sobrereactivos para tinción con enzima oxidativa (NADH) y glicógeno (PAS). Otro hallazgo es la alta proporción de fibras tipo 1 y el número de fibras tipo 2B esta reducido. Se observan infiltrados de células inflamatorias en el perimio, endomio y espacios perivasculares que son células T citotóxicas y macrófagos. En etapas tardías de la enfermedad el tejido muscular es sustituido por colágeno tipo III. La diferencia en la apariencia microscópica del músculo entre la DMD comparada con la DMB, correlaciona bien con la severidad de la enfermedad con muy pocas fibras necróticas, hipercontracturadas y en regeneración.

En microscopía electrónica las biopsias musculares de los pacientes con DMD, se observan defectos en la membrana plasmática en fibras musculares no necróticas, con una lámina basal intacta sobre el defecto. Los defectos en la membrana, son seguidos posteriormente por evidencia morfológica de necrosis de fibras segmentarias con miofibrillas hipercontracturadas, degeneración mitocondrial, perfil tubular y rarefacción de las miofibrillas.

Inmunohistoquímica para distrofina.

En la biopsia muscular de los pacientes con DMD hay reducción marcada o no detectable de la tinción del sarcolema en la mayoría de las fibras musculares utilizando anticuerpos antidistrofina. La cantidad detectable de inmunorreactividad a la distrofina, depende de la cantidad de distrofina en el sarcolema, pero también en el tipo y título de los anticuerpos antidistrofina usados en el análisis de inmunohistoquímica. Normalmente los anticuerpos comercialmente disponibles reconocen epitopes en las regiones de la barra de dominio, amino terminal y carboxi-terminal. Existen anticuerpos monoclonales exón específicos, pero no son viables comercialmente ni de uso en la práctica clínica.

En DMB se observa tinción parcial del sarcolema, sin embargo en algunos casos el patrón es indistinguible de lo encontrado en una biopsia de músculo normal.

Prueba de Western Blot

La prueba de Inmunoblot o Western Blot puede ser utilizada para la cuantificación de distrofina y evaluar el tamaño (Peso molecular) de la proteína distrofina residual. En la DMD hay una reducción muy significativa en la cantidad de distrofina o su ausencia total (0-3% del grupo control) cuando se utilizan anticuerpos contra la fracción carboxiterminal. En la DMB con anticuerpos contra porción carboxiterminal, amino terminal o barra de dominio muestra una cantidad reducida de distrofina de tamaño alterado o normal (Peso molecular).

Prueba genética molecular.

Aproximadamente el 65% de los masculinos con DMD y 85% de los masculinos con DMB tiene deleciones o duplicaciones que involucran uno o más exones del gen de la DMD (Locus cromosómico Xp21.3-p21.2). La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) simplifica las pruebas y es rápida y de bajo costo. PCR múltiple puede detectar arriba del 98% de las deleciones identificables por hibridación del cDNA.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Distrofia Muscular de Cinturas.

Las distrofias musculares de cinturas están relacionadas a la deficiencia de varios componentes diferentes a la distrofina del complejo de proteínas unida a distrofina en el sarcolema. La presentación clínica recuerda a la DMD o DMB, excepto por la ausencia de déficit cognitivo, la menor frecuencia de cardiomiopatía, y la menos marcada hipertrofia de pantorrillas. Tienen un amplio espectro clínico asociado con elevados niveles de CPK, por eso puede ser difícil de distinguir de los casos esporádico de DMD y DMB. Las sarcoglicanopatías son las mejor caracterizadas.

Las distrofias musculares de cinturas son transmitidas de forma autosómica recesiva o dominante, por lo cual si hay evidencia clara de transmisión autosómica dominante, las distrofinopatías pueden ser excluidas, si no la tinción por inmunohistoquímica de la biopsia muscular, puede distinguir la distrofia muscular de cinturas al encontrar una cantidad normal de distrofina y la deficiencia de otras proteínas unidas al complejo proteínas unidas a distrofina. Si la inmunohistoquímica para distrofina, sarcoglicanos y otras proteínas no puede ser realizada al mismo tiempo se debe realizar primero la de distrofina, en virtud si se realiza sarcoglicanos u otras proteínas pueden dar falsos positivos para distrofia de cinturas, en virtud de que la deficiencia de distrofina puede llevar a la pérdida también de otras proteínas unidas al complejo.

Deficiencia de maltasa ácida y atrofia espinal muscular.

La deficiencia de maltasa ácida (DMA) y la atrofia espinal muscular (AEM), se pueden presentar en niños menores de 5 años, con debilidad muscular proximal y en ocasiones con hipertrofia de pantorrillas. Sin embargo los niveles séricos de CPK (Normalmente <de 1000 UI/L en AEM, e incremento menor en DMA que en DMD), los hallazgos en la biopsia muscular (Ateoramiento de glicógeno en AEM) y la electromiografía, pueden distinguirla fácilmente de la DMD. En cuanto a la AEM es causada por mutaciones en el gen SMN (Locus cromosómico 5q11-q13) y la prueba genética molecular esta actualmente disponible.

Distrofia muscular de Emery Dreifuss.

La distrofia muscular de Emery Dreifuss es una distrofia muscular que puede ser ligada al X, o autosómica dominante o recesiva, y que puede ser confundida con DMB al inicio de los síntomas. Sin embargo no hay pseudohipertrofia de pantorrillas, la elevación de CPK es moderada, y la afección selectiva de los músculos bíceps y tríceps y la aparición temprana de contracturas del codo y tobillo nos ayuda para el diagnóstico diferencial. Existe ya prueba genética para Distrofia muscular de Emery Dreifuss.

Distrofias musculares congénitas.

En algunos casos las distrofinopatías pueden parecerse clínicamente a las distrofias musculares congénitas, con debilidad neonatal, hipotonía y retraso del desarrollo. El diagnóstico diferencial puede ser hecho clínicamente por la elevación modesta de la CPK (Aunque esta puede estar elevada en forma marcada en distrofia muscular congénita también), la afección músculos faciales y las contracturas observadas en la distrofia muscular congénita. La inmunohistoquímica de la biopsia muscular para distrofina o merosina puede ayudar a diferenciar las dos entidades. Sin embargo algunos pacientes pueden ser doblemente heterocigotos para DMD y FCMD (Distrofia muscular congénita de Fukuyama). Se sugiere también que el defecto molecular en FCMD puede afectar la expresión de distrofina en el sarcolema.

Síndrome de Depleción de ADN mitocondrial.

Es una citopatía mitocondrial autosómica recesiva que se presenta con un amplio espectro de manifestaciones clínicas, debilidad, hipotonía, retraso del neurodesarrollo y convulsiones, y se conocen actualmente 9 genes asociados. Los pacientes con depleción de ADN mitocondrial pueden estar afectados en varios sistemas incluyendo sistema nervioso central y periférico, músculo, hígado y riñones. Se describe edad de inicio entre los 3 meses a 5 años de edad, con un cuadro sugestivo de distrofinopatía, elevación importante de la CPK y en la biopsia un gran número de fibras rojo rasgadas. Por eso esta patología debe ser considerada en niños con debilidad, valores altos de CPK e involucro multiorgánico.

Dermatomiositis.

Antes de la aparición de las lesiones en la piel, la dermatomiositis puede simular una distrofinopatía, pero el inicio agudo o subagudo de los síntomas, y los hallazgos en la biopsia muscular permiten fácilmente distinguirla de la DMD o DMB.

Otros.

En algunos casos de elevación persistente de enzimas hepáticas en niños, o incluso en niñas (Por la posibilidad de portadoras asintomáticas, sintomáticas o incluso afectadas en casos raros X0 por ejemplo), se debe considerar la posibilidad de una afección muscular tipo distrofinopatía. Se debe excluir una distrofinopatía en aquellos paciente con miocardiopatía dilatada aunque en 1/3 de los casos esta será de origen

esporádico y 2/3 de origen familiar, y de esta última hasta un 10% pueden tener una herencia recesiva ligada al X.

TRATAMIENTO Y MANEJO

Manejo Multidisciplinario

El enfoque terapéutico de las intervenciones iniciales en el paciente con DMD y DMB está encaminado a evitar contracturas, mantener la función y dar soporte mecánico. Por lo anterior el enfoque se debe considerar como "Multidisciplinario", iniciando desde las fases tempranas de la enfermedad con ejercicios de estiramiento pasivo para minimizar y de hecho retrasar el inicio de las contracturas ilirotibiales, tendones de Aquiles y flexores de la cadera por lo que será necesaria desde su inicio terapia física. Se debe considerar el uso de ortesis tipo férulas posteriores para minimizar o prevenir las contracturas en equino, pudiendo ser utilizadas durante la noche al dormir. La situación de los hombros y brazos es relativamente buena en las fases tempranas de la enfermedad, por lo que se consideran solo ejercicios de estiramiento y arcos de movilidad, ya que es hasta las fases finales en donde se afecta la fuerza de los miembros superiores y hombros. Las contracturas de las muñecas y dedos deben ser tratadas con movilización pasiva pudiendo utilizar ortesis (Férulas) para las muñecas por la noche. La cantidad de ejercicio durante las terapias no debe excederse en virtud puede causar dolor muscular. En pacientes que aun deambulan al rededor de los 9 años de edad, se pueden utilizar ortesis plásticas ligeras cortas en el caso que solo se quiera abarcar pies y tobillos o largas en relación con poder estabilizar también rodillas hasta cadera, las que se podrían utilizar de acuerdo al avance de la enfermedad con apoyo de una caminadora para mantener la estabilidad. La liberación quirúrgica de las contracturas de los flexores de la cadera, bandas ilirotibiales, y tendón de Aquiles, en combinación con el uso de tirantes plásticos pueden prolongar la capacidad de caminar de 1 a 3.5 años más, y hay asociación también con el retardo en la presentación de la escoliosis, por lo que deberían ser consideradas en forma temprana. En todos los casos, los tiempos deberían ser individualizados de acuerdo al paciente y la velocidad con la que está evolucionando su enfermedad.

La escoliosis aparecerá inevitablemente cuando el paciente quede confinado a su silla de ruedas. Para minimizar la posición asimétrica del cuerpo y con ello poder retrasar la formación de escoliosis, se considera que la silla de ruedas debe llevar soporte lateral para el tórax y el cuello y un asiento relativamente reclinable para la espalda. La estabilización de la columna no parece mejorar la función pulmonar, en virtud de que el deterioro esta dado realmente por debilidad muscular, pero podría tener efectos benéficos en menor desarrollo de neumonías y atelectasias por eso se considera debería ser realizada cuando la curvatura es aún menor entre 10-20 grados, y la capacidad vital forzada es mayor del 30 por ciento, pudiendo esto evitar complicaciones respiratorias postoperatorias y retiro temprano del ventilador. En los pacientes tratados quirúrgicamente de su escoliosis, hay mejoría en la función pulmonar y disminución de la tasa de deterioro de la capacidad vital forzada, sin embargo la fuerza muscular y la capacidad vital forzada de cualquier forma disminuyen

tanto en los pacientes con DMD tratados quirúrgicamente como en aquellos con tratamiento conservador (14).

Es importante lograr un buen control de peso para prevenir complicaciones, en virtud del sobrepeso contribuye a empeorar la función respiratoria. Se debe considerar la vacunación contra la influenza y contra neumococo en todos los pacientes con DMD que ya están confinados a silla de ruedas. Después de la edad de 11-12 años se requieren pruebas de función pulmonar, electrocardiograma y radiografía de tórax por lo menos en forma anual para monitorizar la función pulmonar y cardíaca. La velocidad en que la función pulmonar se deteriora es por lo general el mejor marcador o predictor de sobrevida. Se debe realizar polisomnografía para determinar la necesidad de presión positiva intermitente durante la noche y posteriormente un manejo más avanzado de la vía aérea, en virtud de que hasta en un 16% de los pacientes con DMD se observara apnea obstructiva del sueño, así como mayores índices de apnea e hipoapnea y desaturaciones (15).

De lo anterior se infiere la necesidad de seguimiento multidisciplinario que incluya al pediatra, rehabilitador, cardiólogo, neumólogo, neurólogo e incluso psicólogo y psiquiatra.

Terapia farmacológica

Los estudios con esteroides en forma inicial prednisona han demostrado la mejoría en la fuerza y la función de los pacientes con DMD. La dosis recomendada actual es de 0.75mg/k/día de prednisona o bien dosis bajas de prednisolona 0.35mg/k/día tanto en DMD como en DMB, notando la mejoría en la fuerza a partir de los 10 días de tratamiento con máxima mejoría a los 3 meses de iniciada y con una fase sostenida hasta los 6 meses. En un estudio realizado por Sato y colaboradores refieren mejoría incluso en el aspecto cognitivo (16). Se ha observado en pacientes con tratamientos prolongados con corticosteroides que la pérdida de la capacidad de deambulación se presenta incluso más de 2 años después que en aquellos pacientes no tratados. Es de hacer notar que el uso de esteroides se debe poner en la balanza contra los efectos adversos y llevar adecuada monitorización en busca de sobrepeso, hipertensión, cambios del comportamiento, retraso en el crecimiento, aparición de cushinoide y cataratas. La edad de inicio será en pacientes mayores de 5 años ambulatorios, y se podrá prolongar si no hay efectos adversos o estos son mínimos incluso hasta que el menor quede confinado a silla de ruedas. Los esquemas pueden variar desde dosis diarias, a dosis alternadas o incluso dosis semanales. Otro esteroide utilizado ampliamente es deflazacort a dosis de 0.9mg/k/día un derivado sintético de la prednisolona, con menores efectos adversos que la prednisona, sobre todo en ganancia de peso, sin embargo se debe tener cuidado con la posibilidad mayor de formación de cataratas. Se debe estudiar también la relación del uso crónico de deflazacort y retraso de la pubertad (17), aunque es conocido que el uso crónico de esteroides puede retrasar en sí el crecimiento. Otro esteroide utilizado también con buenos resultados pero sin seguimiento a largo plazo es la Oxandrolone un esteroide anabólico androgénico que pareciera prometedor. Se considera que el efecto benéfico de los esteroides está en relación con la estabilización de membrana y efecto anti-inflamatorio y no como inmunosupresor.

Transferencia de Mioblastos.

La transferencia de mioblastos fue de las primeras investigaciones para el tratamiento de las distrofias. Se inyectaban mioblastos del donador dentro de los músculos del afectado con DMD. En estudios en animales se observó la expresión de distrofina en el sarcolema de los miositos previamente deficientes en miosina. También en estudios en pacientes humanos se mostró mejoría clínica y presencia de distrofina en estudios de patología. Sin embargo el sistema inmune se encargaba de limpiar las células trasplantadas del donador. Los estudios de patología del músculo del paciente afectado mostraba fusión de los núcleos y solamente una minoría de mioblastos inyectados. De los mioblastos trasplantados solo el 50 % se fusionaban y de estos solo el 50% producían distrofina. Por todo esto se demostró ser poco eficiente como tratamiento.

Terapia con células madre.

Estudios realizados en ratones en donde se les trasplanta medula ósea, han demostrado que los miositos y macrófagos migran específicamente hacia áreas de lesión muscular. Se ha demostrado que las células madre derivadas de la médula ósea pueden migrar a las áreas de degeneración muscular, sufrir diferenciación miogénica y participar en la reparación de fibras dañadas. El reclutamiento hacia el músculo al parecer respondió al proceso inflamatorio originado por el daño muscular y la migración celular fue a través de la circulación periférica. La terapia con células madre derivadas de la médula ósea del donador, pudiera ser una alternativa en el futuro para el tratamiento de los pacientes con DMD y DMB (18).

En un estudio de Sharma y colaboradores, se obtuvieron resultados prometedores al trasplantar células mononucleares autologas derivadas de la médula ósea por vía intratecal e intramuscular, sin embargo esta terapia aun esta en fase de experimentación (19).

Terapia Génica y otras intervenciones.

Se ha estudiado la transferencia del gen de la distrofina utilizando adenovirus como vectores. Estos vectores pueden producir una respuesta inflamatoria muy importante y tienen una duración limitada por lo que se requiere administración periódica (20). Los vectores mas avanzados al parecer pueden disminuir estos efectos adversos y se consideran como una terapia prometedora para el futuro. Los vectores retrovirales no pueden ser funcionales debido a que la transferencia de genes con estos vectores puede ocurrir únicamente durante la división celular. Otros campos actuales de estudio que son prometedores comprenden la administración de oligonucleotidos antisentido, tanto en vía intravenosa, subcutanea y oral(21,22) y algunos medicamentos en fase 3 de investigación como el Ataluren, anteriormente PTC 124 TM en pacientes con DMD con mutación sin sentido (Nonsense) (23).

Terapia con Aminogluucósidos.

Se ha sugerido como una alternativa a la terapia génica. Se conoce que más del 15% de los pacientes con DMD tienen una mutación en el gen de la distrofina causado por un codón prematuro de terminación (Nonsense), estas mutaciones producen un cambio en el marco de lectura que por lo general produce una proteína anormal acortada o no funcional. El tratamiento con aminogluucósidos de células cultivadas puede suprimir el codón de terminación prematuro al formar una interpretación errónea de ARN. El tratamiento con gentamicina en el ratón *mdx* dio como resultado la expresión de distrofina de 10-20% los niveles detectados en el musculo normal. Este porcentaje dio un cierto grado de protección contra el daño por contracción del musculo. Parece algo atractivo y potencialmente aplicable en humanos, sin embargo los efectos adversos secundarios sobre riñón y audición, su administración necesariamente parenteral, así como la dosis precisa no conocida pueden limitar el uso clínico en humanos de esta terapia potencial. Hacen falta más estudios al respecto.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Theodom A, Rodriguez M, Roxburgh R, Balalla S, Higgins Ch, Bhattacharje R, Jones K, Krishnamurthi R, Feigin V. Prevalence of Muscular Dystrophies. A Systematic Literature Review. *Neuroepidemiology* 2014;43:259-268
- 2.-Mah JK, Komgut L, Dykeman J, Day L, Pringsheim T, Jette N. A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2014;24:482-491.
- 3.- Viswanathan V. Current concept in dystrophinopathies. *Indian J Pediatr* 2015;82(2): 172-178
- 4.-Shied B. Muscular Dystrophies and other Genetic Myopathies. *Neurol Clin* 2013;31:1009-1029.
- 5.-Imbornoni L, Price ET, Andrews J, Meaney FJ, Ciafaloni E, Cunniff C. Diagnostic and clinical characteristics of early-manifesting females with Duchenne or Becker muscular dystrophy. *Am J Med Genet A* 2014;164A(11):2769-2774
- 6.-Rahimov F, Kundel LM. Cellular and molecular mechanism underlying muscular dystrophy. *J Cell Biol* 2013;201:499-510
- 7.-Shapiro F, Zurakowski D, Bui T, Darras BT. Progression of spinal deformity in wheelchair-dependent patients with Duchenne muscular dystrophy who are not treated with steroids: coronal plane (scoliosis) and sagittal plane (kyphosis, lordosis) deformity. *Bone Joint J* 2014;96-b(1):100-105.
- 8.-Doorenweerd N, Straathof CS, Dumas EM, Spinali P, Ginjaar IB, Wokke BH, Schrans DG, Van DenBergen JC, Van Zwet EW, Webb A, Van Buchem MA, Verschuuren JJ, Hendriksen JG, Niks EH, Kan HE. Reduced cerebral gray matter and altered white matter in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2014;76(3):403-411.
- 9.-D'Angelo MG, Lorusso ML, Civati F, Comi GP, Magri F, Del BO R, Guglieri M, Molteni M, Turconi AC, Bresolin N. Neurocognitive profiles in Duchenne muscular dystrophy and gene mutation site. *Pediatr Neurol* 2011;45(5):292-299.
- 10.-Mirski KT, Crawford TO. Motor and cognitive delay in Duchenne muscular dystrophy: implication for early diagnosis. *J Pediatr* 2014; 165(5): 1008-1010.
- 11.-Pane M, Messina S, Bruno C, D'Amico A, Villanova M, Brancalion B, Silvo S, Bianco F, Striano P, Battaglia D, Lettori D, Vita GL, Bertini E, Gualandi F, Ricotti V, Ferlini A, Mercuri E. Duchenne muscular dystrophy and epilepsy. *Neuromuscul Disord* 2013; 23(4):313-315.

- 12.-Hendriksen RG, Hoogland G, Schipper S, Hendriksen JG, Vles JS, Aalbers MW. A possible role of dystrophin in neuronal excitability: A review of the current literature. *Neurosci Biobehav Rev* 2015;51:255-262.
- 13.-Nicolas A, Raguénés-Nicol C, Ben Yaou R, Ameziane-Le Hir S, Cherón A, Vié V, Claustres M, Leturcq F, Delalande O, Hubert JF, Tuffery-Giraud S, Gludice E, Le Remeur E. Becker muscular dystrophy severity is linked to the structure of dystrophin. *Hum Mol Genet* 2015; 24(5):1267-1279.
- 14.-Suk KS, Lee BH, Lee HM, Moon SH, Choi YC, Shin DE, Ha JW, Song KM, Kim HS. Functional outcomes in Duchenne muscular dystrophy scoliosis: comparison of the differences between surgical and nonsurgical treatment. *J Bone Joint Surg Am* 2014;96(5):409-415
- 15.-Polat M, Sakinci O, Ersoy B, Sezer RG, Yilmaz H. Assessment of sleep-related breathing disorders in patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Clin Med Res* 2012;4(5):332-337.
- 16.-Sato Y, Yamauchi A, Urano M, Kondo E, Saito K. Corticosteroid therapy for Duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function. *Pediatr Neurol* 2014;50(1):31-37.
- 17.-Dooley JM, Bobbitt SA, Cummings ES. The impact of deflazacort on puberty in Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr Neurol* 2013;49(4):292-293.
- 18.-Seto JT, Bengtsson NE, Chamberlain JS. Therapy of genetic disorders-novel therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Curr Pediatr Rep* 2014;2(2):102-112.
- 19.-Sharma A, Sane H, Badhe P, Gokulchandran N, Kulkarni P, Lohiya M, Biju H, Jacob VC. A clinical study shows safety and efficacy of autologous bone marrow mononuclear cell therapy to improve quality of life in muscular dystrophy patients. *Cell Trasplant* 2013;22(S1):127-138.
- 20.-Okada T, Takeda S. Current challenges and future directions in recombinant AAV-Mediated gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Pharmaceuticals* 2013;6:813-636.
- 21.-Van Putten M, Young C, Van Den Berg S, Pronk A, Hulsker M, Kamaoukh TG, Vermue R, Yan Dijk KW, De kimpe S, Aartsma-Rus A. Preclinical studies on intestinal administration of antisense oligonucleotides as a model for oral delivery for treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther Nucleic Acids* 2014;3:e211
- 22.-Voit T, Topaloglu H, Straub V, Muntoni F, Deconinck N, Campion G, De Kimpe SJ, Eagle M, Guglieri M, Hood S, Liefwaard L, Loubakos A, Morgan A, Nakielny J, Quarcoo N, Ricotti V, Rolfe K, Servais L, Wardell C, Wilson R, Wright P, Kraus JE. 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;10:987-996

23.-Bushby K, Finkel R, Wong B et al. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle Nerve* 2014;50(4):477-87.