

ДИШЕНОВА И БЕКЕРОВА МИШИЋНА ДИСТРОФИЈА: АНАЛИЗА КОРЕЛАЦИЈЕ ФЕНОТИП-ГЕНОТИП КОД 28 БОЛЕСНИКА

Милица КЕЦКАРЕВИЋ¹, Душанка САВИЋ¹, Биљана ЧУЉКОВИЋ¹,
Наташа ЗАМУРОВИЋ¹, Тамара МАЈОР¹, Душан КЕЦКАРЕВИЋ¹,
Слободанка ТОДОРОВИЋ², Станка РОМАЦ¹

1. Биолошки факултет Универзитета, Београд; 2. Клиника за неурологију и психијатрију за децу и
омладину Медицинског факултета Универзитета, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ: Дишенова и Бекерова мишићна дистрофија су обољења мушкараца, узрокована мутацијама у гену за дистрофин. Дишенова мишићна дистрофија је тежак облик болести која знатно скраћује животни век болеснику, док се Бекерова мишићна дистрофија одликује каснијим почетком и споријим током болести. Код 65 посто болесника с Дишеновом мишићном дистрофијом и Бекеровом мишићном дистрофијом појаву болести узрокују делеције једног или више егзона у гену за дистрофин, док су дупликације узрок болести код 6 до 7 посто болесника. Показано је да су егзони проксималног дела гена за дистрофин (егзони од броја 3 до 18) и егзони дисталног дела гена (егзони од броја 45 до 52) посебно подложни делецијама. Код преосталих 30 посто болесника с Дишеновом мишићном дистрофијом и Бекеровом мишићном дистрофијом пронађене су тачкасте мутације, мале делеције или инверзије у гену за овај протеин. Приказани су резултати анализе 28 несродних болесника с Дишеновом мишићном дистрофијом и Бекеровом мишићном дистрофијом. Код 57 посто болесника откривене су делеције у гену за дистрофин, при чему су све делеције смештене у дисталном делу гена. Анализована је веза између утицаја делеције на оквир читања и тежине клиничке слике. Показано је да су код већине болесника делеције које мењају оквир читања удружене с фенотипом Дишенове мишићне дистрофије, а делеције које не мењају оквир читања, с фенотипом Бекерове мишићне дистрофије, што је у сагласности с подацима из литературе.
Кључне речи: Дишенова и Бекерова мишићна дистрофија, дистрофин, делеције, егзони. (СРП АРХ ЦЕЛОК ЛЕК).

УВОД

Дишенова мишићна дистрофија је једно од најчешћих легалних обољења мушкараца (у вези с хромозомом икс), с учесталошћу један према 3 500. Генетичку основу овог обољења чине мутације у гену за дистрофин. Такође, показано је да су мутације у истом гену одговорне и за Бекерову мишићну дистрофију. Клиничка слика болесника од Бекерове мишићне дистрофије испољава се као блажи облик од Дишенове мишићне дистрофије, а ова болест се јавља с учесталошћу један према 18 500 мушкараца [1].

Оболеле особе су мушког пола, док су жене углавном здрави преносиоци болести на потомство. Врло мали број особа женског пола откривен је с клиничком сликом Дишенове мишићне дистрофије/Бекерове мишићне дистрофије. Дишенова мишићна дистрофија и Бекерова мишићна дистрофија јављају се у породици код две трећине болесника, док се код преосталих болесника мутације јављају *de novo*.

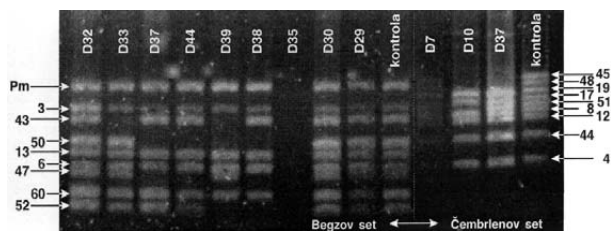
Код болесника од Дишенове мишићне дистрофије први симптоми болести запажају се у узрасту од око три године, да би до тринаесте године болесници постали везани за колица. Неизбежан смртни исход, најчешће услед инсуфицијенције респирације, наступа у трећој деценији живота, а код неких болесника и раније [2].

Класична Бекерова мишићна дистрофија се одликује каснијим почетком и споријим током болести. Четврта деценија живота је просечна старост када болесници губе способност самосталног кретања. Због изразите варијабилности брзине прогресије бо-

лести, сматра се да болесници који постају непокретни пре тринаесте године живота болују од Дишенове мишићне дистрофије, а они који постају везани за колица после шеснаесте године болују од Бекерове мишићне дистрофије [3]. Код 30–50 посто особа оболелих од Дишенове мишићне дистрофије јавља се блага ментална ретардација, с коефицијентом интелигенције мањим од 75, док су оболели од Бекерове мишићне дистрофије углавном нормалне интелигенције [4].

Ген за дистрофин смештен је на кратком краку хромозома икс, у региону *Xp21* [5, 6]. То је, до сада, највећи познати ген у хуманом геному, дужине око 2,5 милиона базних парова [7]. Ген за дистрофин садржи 79 егзона, који чине свега 0,6 посто његове дужине [8].

Код 60 до 65 посто болесника од Дишенове мишићне дистрофије и Бекерове мишићне дистрофије могу се открити делеције једног или више егзона [7, 9, 10], док су дупликације заступљене код 6 до 7 посто болесника [9, 11, 12]. За два региона гена за дистрофин показано је да су посебно подложна, како делецијама тако и дупликацијама. То су региони тзв. *“hot spot”* и налазе се један на петом крају гена (од егзона 3 до 18), а други у дисталном делу гена (од егзона 45 до 52) [3, 7, 13]. Тачкасте мутације, мале делеције и инверзије у гену за дистрофин откривене су код преосталих 30 посто болесника од Дишенове мишићне дистрофије/Бекерове мишићне дистрофије [14].



СЛИКА 1. Анализа продуката амплификације *PCR* на 2% *Nu-Sieve* агарозном гелу. Траке које недостају у односу на контролу, одговарају делетисаним егзонима. Стрелицама су означени редни бројеви амплификованих егзона дистрофин гена. *Pm* означава промотор.

FIGURE 1. Analysis of products of *PCR* amplification on a 2% *Nu-Sieve* agarose gel. Lacking trips in relation to controls correspond to deleted exons. Arrows indicate ordinal numbers of amplified exons of dystrophic gene. *Pm* = promotor.

Дејвис (*Davies*) и сарадници [15] су уочили да се велике делеције у гену за дистрофин често могу открити код болесника с фенотипом Бекерове мишићне дистрофије, док се делеције само у једном егзону могу наћи код болесника од Дишенове мишићне дистрофије. На основу ових налаза може се закључити да величина делеције није кључни фактор који утиче на тежину клиничке слике.

Код особа оболелих од Дишенове мишићне дистрофије, мале делеције, инсерције и тачкасте мутације углавном доводе до промене оквира читања и привременог прекидања транслације [15]. Код болесника од Бекерове мишићне дистрофије, тачкасте мутације, пронађене у гену за дистрофин код највећег броја болесника, представљају мутације које доводе до промене аминокиселина у протеину, или мутације у местима за искрајање пре-*iRNK*, које не ремете оквир читања. Такође, описани су и болесници од Дишенове мишићне дистрофије код којих су уочене делеције или тачкасте мутације које не доводе до промена оквира читања. Код ових болесника пронађене су делеције великих региона гена за дистрофин или мутације које доводе до промене висококонзервисаних и функционо битних аминокиселина у протеину [16].

Показано је да на тежину клиничке слике може утицати и регион гена у коме се налази мутација. Већина мутација код болесника од Бекерове мишићне дистрофије откривене су у делу гена који кодира штапићасти регион дистрофина. Описане су чак и велике делеције у овом региону код болесника с благим фенотипом Бекерове мишићне дистрофије [17]. Највећа до сада описана делеција удружена с фенотипом Бекерове мишићне дистрофије захватала је чак 35 егзона, који кодирају проксимални и средишњи део штапићастог домена дистрофина (егзони 13–48). Код болесника с типичним фенотипом Бекерове мишићне дистрофије најчешће се откривају делеције региона од 45. до 53. егзона, који кодирају дистални део штапићастог домена дистрофина [10].

Молекуларно-генетичким анализама се прецизно, на нивоу гена, може утврдити тип мутација у гену за дистрофин код болесника од Дишенове мишићне дистрофије и Бекерове мишићне дистрофије. За генетичке анализе се користи *DNK*, изолована из лимфо-

цита периферне крви, као и из хорионских чупица, амнионске течности, или крви плода, у сврхе пренаталне дијагностике.

МЕТОД РАДА

За откривање делеција у гену за дистрофин коришћен је метод мултиплекс *PCR* [18–20]. Овим методом могуће је открити 98 посто свих до сада откривених делеција у гену за дистрофин. У две одвојене реакције вршена је амплификација 18 егзона. У првој реакцији коришћен је Чембриленов сет прајмера [19], док је у другој коришћен Бегзов сет [20]. Прајмери, реакционе смеше и услови амплификације су у складу с протоколима *PCR*, описаним од наведених аутора.

Раздвајање продуката *PCR* вршено је на два-постотним агарозним геловима *NuSieve*, бојеним етидијум-бромидом (Слика 1).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Применом мултиплекс *PCR* анализована је *DNK* 28 несродних болесника од Дишенове мишићне дистрофије/Бекерове мишићне дистрофије. Код 16 од 28 (57 посто) болесника откривене су делеције у гену за дистрофин, што је у сагласности с подацима из литературе [7, 9, 10]. Код шест (од 16) болесника делеција је обухватала један егзон; код пет, делеција је обухватала осам егзона; код два, делеција је обухватала шест егзона, док су делеције пет, четири и три егзона откривене код по једног (од 16) болесника (Табела 1).

Треба нагласити да су код свих болесника откривене делеције дисталног региона (43–52. егзон), док ни код једног болесника нису откривене делеције у проксималном делу гена за дистрофин. У различитим студијама показано је да је око 75 посто (64–84 посто) делеција откривено у дисталном региону гена за дистрофин, док је 25 посто делеција откривено у

ТАБЕЛА 1. Откривене делеције у гену за дистрофин код анализованих болесника од Дишенове мишићне дистрофије/Бекерове мишићне дистрофије.

TABLE 1. Detected deletions in dystrophic gene in patients with DMD/BMD.

Број болесника Number of patients	Егзони захваћени делецијом Deleted exons	Број делетисаних егзона Number of deleted exons	Фенотип болесника Phenotype of patients
3	45	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscular dystrophy
1	44	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscular dystrophy
1	52	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscular dystrophy
1	43	1	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy
1	50-52	3	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscular dystrophy
1	47-50	4	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy
1	47-51	5	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy
1	45-50	6	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscular dystrophy
1	45-50	6	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy
4	45-52	8	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscular dystrophy
1	45-52	8	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy

ТАБЕЛА 2. Утицај појединих делеција на оквир читања и фенотип болесника.

TABLE 2. Effect of some deletions on frame deletions and phenotype of patients.

Деле- тиса- ни ег- зони Dele- ted exons	Тип деле- ције (у од- носу на оквир чи- тања) Type of deletion	Број бо- лес- ника Num- ber of pa- tients	Очекивани фенотип Expected pheno- type	Дијагностифи- ковани фенотип Diagnosed pheno- type
43	Ван фазе Out of frame	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy
44	Ван фазе Out of frame	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscu- lar dystrophy
45	Ван фазе Out of frame	3	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscu- lar dystrophy
52	Ван фазе Out of frame	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscu- lar dystrophy
45–50	Ван фазе Out of frame	2	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	1 Бекерова мишић- на дистрофија, 1 Дишенова мишићна дистрофија 1 Becker's muscular dystrophy, 4 Duch- enne's muscular dys- trophies
45–52	Ван фазе Out of frame	5	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	4 Дишенове ми- шићне дистрофије, 1 Бекерова мишић- на дистрофија 4 Duchenne's mus- cular dystrophies, 1 Becker's muscular dystrophy
47–50	Ван фазе Out of frame	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy
50–52	Ван фазе Out of frame	1	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Дишенова мишићна дистрофија Duchenne's muscu- lar dystrophy
47–51	Ван фазе Out of frame	1	Бекерова мишићна дистрофија Duchenne's mus- cular dystrophy	Бекерова мишићна дистрофија Becker's muscular dystrophy

проксималном региону [10, 21–23]. Изузетак је студија болесника из филипинске популације у којој је показана већа учесталост делеција у проксималном региону [24]. Ова неподударност резултата може бити последица малог броја анализованих болесника.

Поређењем учесталости делеција појединачних егзона добијених у овом раду с резултатима Ден Дунена (*den Dunnen*) и сарадника [25], може се уочити да је учесталост делеција у региону између 45. и 52. егзона највећа у овом истраживању. Ови резултати су у сагласности и с резултатима Кенига (*Koenig*) и сарадника [26, 7] и Фореста и сарадника [13], којима је показано да је регион гена за дистрофин од 45. до 52. егзона посебно подложен делецијама.

Код десет (од 16) болесника откривене делеције су захватале 45. егзон, при чему је у свим случајевима

крај делеције пет-прим лоциран у 44. интрону. Показано је да су код 30 посто болесника делеције у гену за дистрофин изазване прекидима у 44. интрону, при чему су тачке прекида насумичног распореда [26, 27]. Различите тачке прекида у интронима могу бити детерминишући фактор клиничке слике.

Тачан механизам настанка делеција у гену за дистрофин није познат. У регионима гена за дистрофин, који су подложни делецијама, утврђене су бројне репетитивне секвенције [28], као и висока учесталост рекомбинација. Претпоставља се да неједнаки тзв. кросинг-овер током оогенезе лежи у основи настанка делеција у гену за дистрофин [29]. Истим механизмом могу настати и дупликације, али је утврђено да се оне јављају с далеко мањом учесталошћу. С друге стране, показано је да рекомбинација хромозома доводи до делеција без пратећих дупликација [30], тако да се може претпоставити да овај вид рекомбинације лежи у основи већине делеција у гену за дистрофин.

Откривене делеције у овом истраживању обухватају ексоне гена који кодирају за дистални штапићасти домен дистрофина. Варијабилност фенотипа болесника код којих су откривене делеције у делу гена који кодира штапићасти домен поменутог протеина може указивати на постојање функционо различитих целина у оквиру овог домена. Делеције у проксималном и централном делу региона, који кодира штапићасти домен дистрофина (9–44. егзон), не оштећују значајно функцију протеина и типичне су за Бекерову мишићну дистрофију благе прогресије, док су делеције у дисталном делу овог региона (45–60. егзон) типичне за клиничку слику Бекерове мишићне дистрофије умереног тока [10].

У разматрању корелације генотипа и фенотипа код болесника од Дишенове мишићне дистрофије и Бекерове мишићне дистрофије од посебног је значаја хипотеза „оквира читања”, позната још и као Монакова хипотеза [31]. По овој хипотези мутације које доводе до промене у оквиру читања асоциране су с фенотипом Дишенове мишићне дистрофије, док су мутације које не мењају оквир читања асоциране с фенотипом Бекерове мишићне дистрофије. С обзиром да је секвенција гена за дистрофин позната, на основу познавања тачке прекида могуће је утврдити да ли одређена делеција мења оквир читања или не мења, односно, да ли ће се одређена мутација приказати као фенотип Дишенове мишићне дистрофије или Бекерове мишићне дистрофије. У групи болесника, анализованих у овом раду, све осим једне откривене делеције доводе до промене оквира читања (Табела 2). По Монаковој хипотези [31], код свих болесника може се очекивати фенотип Дишенове мишићне дистрофије, док је код болесника с делецијом егзона 47–51 очекиван фенотип Бекерове мишићне дистрофије. Различите студије потврђују ове хипотезе код око 92 посто болесника од Бекерове мишићне дистрофије. Болесници код којих су откривене делеције које померају оквир читања представљају изузетак. Молекуларно-генетичким анализама је показано да код ових болесника може доћи до активације

криптичног промотора, алтернативног искрајања *iRNK*, реиницијације транслације формирањем новог стартног кодона, или до грешака у транслацији, при чему се рестаурише нормалан оквир читања и омогућава синтеза функционалног протеина [31, 32]

У овом раду су за пет испитаних болесника доказане делеције егзона 45–52 (Табела 1). Очекивани фенотип код свих ових болесника је Дишенова мишићна дистрофија [30–32]. Међутим, један од ових болесника клинички је дијагностикован као Бекерова мишићна дистрофија. Анализом *iRNK* дистрофина, изоловане из мишићног ткива болесника код којих су откривене делеције егзона 45–52, показано је да у неким случајевима долази до исецања 53. егзона, тј. до директног повезивања 44. и 54. егзона приликом искрајања *iRNK*, чиме се коригује оквир читања генетичке информације [33, 34], а што може објаснити фенотип Бекерове мишићне дистрофије и у овом случају.

Код једног од анализованих болесника откривена је делеција 43. егзона. По Монаковој хипотези, делеција 43. егзона доводи до појаве Дишенове мишићне дистрофије. Међутим, код овог болесника је клинички дијагностикован фенотип Бекерове мишићне дистрофије. Важно је истаћи да метод мултиплекс *PCR*, коришћен у овом раду, није у могућности да открива делеције између 19. и 43. егзона, тако да није искључена могућност да је код овог болесника делетисан још неки егзон. Уколико јесте, могуће је да код овог болесника постоји дужа делеција која не ремети оквир читања и која даје фенотип Бекерове мишићне дистрофије.

Болесник с делецијом егзона 47–50 дијагностикован је као Бекерова мишићна дистрофија, иако је на основу секвенције егзон-интрон очекивани фенотип овог болесника Дишенова мишићна дистрофија [30–32]. Исто непоклапање је нађено и за једног од два болесника с откривеном делецијом егзона 45–50. Искрајање 51. егзона или његова делеција (што није могло бити потврђено помоћу *multiplex PCR*) може омогућити кориговање оквира читања генетичке шифре у оба случаја. Међутим, у литератури за сада нема оваквих података.

На основу анализе корелација генотип-фенотип, Монакова хипотеза „оквира читања” потврђена је у овом раду код 80 посто болесника (код болесника с делецијом 43. егзона није било могуће утврдити да ли је још неки егзон делетисан, тако да ни разматрање корелације генотип-фенотип није могуће). Овај проценат је нешто мањи него у другим студијама [7, 13], укључујући и студије на болеснику с Дишеновом мишићном дистрофијом и Бекеровом мишићном дистрофијом из југословенске популације [35].

ЛИТЕРАТУРА

- Emery, AEH. Duchenne Muscular Dystrophy (2nd ed). Oxford University Press, Oxford UK 1993;55-9.
- Radojčić, B. Klinička neurologija, Medicina danas, Beograd 1982;200-12.
- Bushby KMD. Genetic and clinical correlations of Xp21 muscular dystrophy. J Inher Metab Dis 1992;15(4):551-64.

- Rapaport D, Passos-Bueno MR, Brandao L, Love D, Vainzof M, Zatz M. Apparent association of Mental Retardation and specific patterns of deletions screened with probes Cf56a and Cf23a in Duchenne muscular dystrophy. Am J Med Genet 1991;39:437-41.
- Verellen-Dumoulin C, Freund M, De Meyer R, Laterre C, Frederic J, Thompson MW et al. Expression of an X-linked muscular dystrophy in a female due to translocation involving Xp21 and non-random inactivation of the normal X chromosome. Hum Genet 1984;67:115-9.
- Francke U, Ochs HD, De Martinville B, Giacalone J, Lindgren V, Distèche C. Minor Xp21 chromosome deletion in a male associated with expression of Duchenne muscular dystrophy, chronic granulomatous disease, retinitis pigmentosa and McLeo syndrome. Am J Hum Genet 1985;37:250-67.
- Koenig M, Beggs AH, Moyer M, Scherpf S, Heindrich K, Bettecken T et al. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion. Am J Hum Genet 1989;45:498-506.
- Tennyson CN, Klamut HJ, Worton RG. The human dystrophin gene requires 16 hours to be transcribed and is cotranscriptionally spliced. Nat Genet 1995;9:184-90.
- den Dunnen JT, Grootsholten PM, Bakker E, Blonden LAJ, Ginjaar HB, Wapenaar MC et al. Topography of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene: FIGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletions and 13 duplications. Am J Hum Genet 1989;45:835-47.
- Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR, Arahata K, Specht L, Shapiro F et al. Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: dystrophin gene and protein studies. Am J Hum Genet 1991;49:54-67.
- Hu X, Ray PN, Murphy EG, Thompson MW, Worton RG. Duplicational mutation at the Duchenne muscular dystrophy locus: its frequency, distribution, origin, and phenotype-genotype correlation. Am J Hum Genet 1990;46:682-95.
- Hiraiashi Y, Kato S, Ishihara T et al. Quantitative Southern blot analysis in the dystrophin gene of Japanese patients with Duchenne or Becker muscular dystrophy: A high frequency of duplications. J Med Genet 1992;29:897-9.
- Forrest SM, Cross GS, Flint T, Speer A, Robson KJH, Davies KE. Further studies of gene deletions that cause Duchenne and Becker muscular dystrophies. Genomics 1988;2:109-14.
- Roberts RG, Gardner RJ, Bobrow M. Searching for the 1 in 2,400,000: a review of dystrophin gene point mutations. Hum Mutat 1994;4:1-11.
- Davies KE, Smith TJ, Bunday S, Read AP, Flint T, Bell M et al. Mild and severe muscular dystrophy associated with deletions in Xp21 of the human X chromosome. J Med Genet 1988;25:9-13.
- Goldberg LR, Hausmanowa-Petrusewicz I, Fidzińska A, Duggan DJ, Steinberg LS, Hoffman EP. A dystrophin missense mutation showing persistence of dystrophin and dystrophin-associated proteins yet a severe phenotype. Ann Neurol 1998;44(6):971-6.
- Passos-Bueno MR, Vainzof M, Zatz M. Half the dystrophin gene is apparently enough for a mild clinical course: confirmation of its potential use for gene therapy. Hum Mol Genet 1994;3:919-22.
- Chamberlain JS, Pearlman JA, Muzny DM, Gibbs RA, Ranier JE, Reeves AA et al. Expression of the murine Duchenne muscular dystrophy gene in muscle and brain. Science 1988;239:1416-8.
- Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Caskey CT. Multiplex PCR for the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, and White TJ (Eds). PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego 1990;272-81.
- Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. Hum Genet 1990;86:45-8.
- Bushby KMD, Gardner-Medvin D. The clinical, genetic and dystrophin characteristics of Becker muscular dystrophy, I. Natural history. J Neurol 1993;240:298.
- Comi GP, Prella A, Bresolin N et al. Clinical variability in Becker muscular dystrophy: Genetic, biochemical and immunohistochemical correlates. Brain 1994;117(1):355-8.
- Hausmanowa-Petrusewicz I, Fidzińska A, Niebroj-Dobosz I et al. Interrelationship between clinical features genetic mutation and dystrophin expression in patients with Becker muscular dystrophy. Acta Cardiomiol 1995;7:95-9.
- Cutingo CM, Padilla C, Takenaka Y, Yamasaki Y, Matsui M, Nishio H. More deletions in the 5' region than in central region of the dystrophin gene were identified among Phillipino Duchenne and Becker muscular dystrophy patients. Am J Mol Genet 1995;59:266-8.
- den Dunnen JT, Bakker BE. Leiden muscular dystrophy pages (on line, <http://www.dmd.n>), 2000;1, March 27.
- Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, Monaco AP, Feener CA, Kunkel LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. Cell 1987;50:509-17.
- Baumbach LL, Chamberlain JS, Ward PA, Farwell NJ, Caskey CT. Molecular and clinical correlations of deletions leading to Duchenne and Becker muscular dystrophies. Neurology 1989;39:465-74.

DUCHENNE'S/BECKER'S MUSCULAR DYSTROPHY: ANALYSIS OF GENOTYPE-FENOTYPE CORRELATION IN 28 PATIENTS

M. KECKAREVITSH¹, D. SAVITSH¹, B. CHULJKOVITSH¹, N. ZAMUROVITSH¹, T. MAJOR¹, D. KECKAREVITSH¹, S. TODOROVITSH², S. ROMAC¹

1. School of Biology, University of Belgrade, Belgrade; 2. School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade

Duchenne's and Becker's muscular dystrophy (DMD & BMD) is a X linked disease caused by mutations in the dystrophic gene. DMD is the malign form of the disease, which significantly shortens the lifetime of the patient, while BMD has late onset with slow progression. Sixty five percent of DMD and BMD cases are caused by deletion of one or more exons in the dystrophic gene, while duplications cause these diseases in 6 to 7% of the cases. There are two hot spots for deletions and duplications. These are exons in the proximal part of the gene (3rd to 18th) and exons of a distal part of the gene (45th to 52nd). The remaining 30% of DMD and BMD cases are caused by point mutations, small deletions or inversions in the dystrophic gene. The correlation between

the severity of the disease and the position of deletion shows that most of the out of frame deletions cause DMD phenotype, while in frame deletions result in BMD phenotype. We report on the results of 28 non-related DMD and BMD patients. In 57% of cases deletions were detected and all were found in the distal hot spot of the gene. These results suggest that in most of the cases, out of frame deletions produce DMD phenotype while in frame deletions result in BMD phenotype. This is in compliance with data from literature.

Key words: Duchenne's and Becker's muscular dystrophy, dystrophic, deletion, exons. (SRP ARH CELOK LEK).

28. Francis MJ, Morrison KM, Campbell L, Grewal PK, Christodoulou Z, Daniels RJ et al. A contig of non-chimeric YACs containing the spinal muscular atrophy gene in 5q13. *Hum Mol Genet* 1993;2:1161-7.
29. Oudet C, Hanauer A, Clemens P, Caskey CT, Mandel JL. Two hot spots of recombination in the DMD-gene correlate with the deletion prone regions. *Hum Mol Genet* 1992;1:599-603.
30. Cooper DN, Krawczak M, Antonarakis SE. The nature and mechanisms of human gene mutation. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly W; Valle D (Eds). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, New York 1995;259-91.
31. Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* 1988;2:90-5.
32. Takeshima Y, Nishio H, Narita N, Wada H, Ishikawa Y, Ishikawa Y et al. Amino-terminal deletion of 53% of dystrophin results in an intermediate Duchenne-Becker muscular dystrophy phenotype. *Neurology* 1994;44:1648-51.
33. Winnard AV, Mendell JR, Prior TW, Florence J, Burghes AHM. Frameshift deletions of exons 3-7 and revertant fibers in Duchenne muscular dystrophy: mechanisms of dystrophin production. *Am J Hum Genet* 1995;56:158-66.
34. Roberts RG, Barby TFM, Manners E, Bobrow M, Bentley DR. Direct detection of dystrophin gene rearrangements by analysis of dystrophin mRNA in peripheral blood lymphocytes. *Am J Hum Genet* 1991;49:298-310.
35. Lalić T, Guć-Ščekić M, Đurišić M, Radivojević D, Zamurović D, Todorović S. Genetic linkage for carrier identification and prenatal diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy; *Genet* 1999;3(2):163-70.

STANKA ROMAC
Biološki fakultet
11 000 Beograd, Studentski trg 16
P. fah 52
Tel-faks: 639-100