

Standardi zbrinjavanja i suvremena terapija progresivne mišićne distrofije Duchenne

Galić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:657801>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-23**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Tea Galić

**Standardi zbrinjavanja i suvremena terapija
progresivne mišićne distrofije Duchenne**

Diplomski rad



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Odjelu za neurologiju, Zavoda za pedijatriju
Kliničkog bolničkog centra Zagreb u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Nine Barišić
i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

Mentor rada: prof. dr. sc. Nina Barišić

POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

4SCT	4-step stair climb test
6MWT	Six-min walk test
ACE	Angiotensin converting enzyme
ALT	Alanin transaminaza
ASO	Antisense oligonucleotide
AST	Aspartat aminotransferaza
ATP	Adenozin trifosfat
BIPAP	Bilevel positive airway pressure
BMD	Becker's muscular dystrophy
BMI	Body mass index
Cas9	CRISPR associated protein 9
cDNA	Complementary DNA
CK	Creatin kinase
Cpf1	CRISPR from Prevotella and Francisella 1
CRISPR	Clustered regularly interspaced short palindromic repeats
CVS	Chorionic villus sampling
DHA	Docosahexaenoic acid
DMD	Duchenne's muscular dystrophy
EKG	Elektrokardiogram
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
HFMS	Hammersmith Functional Motor Scale
LVAD	Left ventricular assist device
MFM32	Motor function measure-32 items
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe amplification
MR	Magentska rezonancija
mRNA	Messenger RNA
NFκB	Nuclear factor kappa B
NIV	Non-invasive ventilation
NIPT	Non-invasive prenatal test
NSAA	North Star Ambulatory Assesment
pCO ₂	Parcijalni tlak ugljikovog dioksida
PCR	Polymerase chain reaction
PEG	Perkutana endoskopska gastrostoma
PMO	Phosphorodiamidate morpholino oligomer
pO ₂	Parcijalni tlak kisika
Pre mRNA	Precursor messenger RNA
rAAV	Recombinant adeno-associated virus
(rh)GH	Recombinant human growth hormone
UZV	Ultrazvuk

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Genetička podloga bolesti	1
1.2. Klinička slika.....	2
1.3. Dijagnostika	3
2. STANDARDI ZBRINJAVANJA.....	5
2.1. Kardiološko zbrinjavanje.....	5
2.2. Pulmološko zbrinjavanje.....	5
2.3. Gastroenterološko zbrinjavanje	6
2.4. Fizikalna terapija i vježbanje.....	7
2.5. Ortopedsko zbrinjavanje.....	7
2.6. Primjena anestetika	8
2.7. Endokrinološko zbrinjavanje	9
2.8. Psihološka potpora	10
2.9. Cijepljenje	10
3. SUVREMENA TERAPIJA	11
3.1. Kortikosteroidi.....	11
3.2. Protusmjerni (antisense) oligonukleotidi	13
3.2.1. Preskakanje egzona	14
3.2.2. Supresija nonsense mutacije (ataluren).....	16
3.3. Genska terapija virusnim vektorima.....	17
3.4. Korekcija mutacija preko CRISPR-Cas9	18
3.5. Terapija kardiomiopatije	18
3.6. Terapija osteoporoze.....	19
4. NOVOROĐENAČKI PROBIR I PRENATALNO OTKRIVANJE.....	20
5. ZAKLJUČAK	21
ZAHVALA	22
LITERATURA	23
ŽIVOTOPIS	38

SAŽETAK

Standardi zbrinjavanja i suvremena terapija progresivne mišićne distrofije Duchenne

Tea Galić

Progresivna mišićna distrofija Duchenne (DMD) je X vezana progresivna mišićna bolest uzrokovana mutacijama u DMD genu zbog čega nedostaje funkcionalan protein distrofin. Duchenneova (DMD) i Beckerova (BMD) mišićna distrofija najčešće su distrofije dječje dobi. One su alelne bolesti uzrokovane mutacijom gena na istom lokusu, a razlikuju se klinički po tome što je u Beckerovoj distrofiji blaža klinička slika i bolja prognoza. Prvi klinički znakovi bolesti prezentiraju se već u dobi od 2-3 godine kao zaostajanje u motoričkom razvoju uključujući i razvoj govora, nespretnost i česte padove, a od laboratorijskih nalaza najčešće se prvo otkrivaju povišene vrijednosti jetrenih enzima kao slučajan nalaz u bolesnika sa akutnom najčešće respiratornom infekcijom. Bolest napreduje posebno do 7. godine do nepokretnosti i ovisnosti o invalidskim kolicima, potrebe za (ne)invazivnom ventilacijom do 20.-te godine te do preuranjene smrti već u drugom ili trećem desetljeću života. S obzirom na progresivnost bolesti, njeno suvremeno zbrinjavanje i terapija sveobuhvatni su i uključuju ispreplitanje medicinskih specijalnosti.

Multidisciplinarni tim za zbrinjavanje DMD uključuje pedijatra, neuropedijatra, kardiologa, pulmologa, fizijatra, ortopeda, nutricionista, gastroenterologa i psihologa. Mogućnosti terapije uključuju kortikosteroide, inhibitore konvertaze angiotenzina te gensku i molekularnu terapiju, no većina je lijekova i dalje u fazama ispitivanja. Standardno zbrinjavanje uključuje terapijske postupke, lijekove i ASO. Terapija protusmjernim oligonukleotidom (ataluren/Translarna) odobrena je u Hrvatskoj i primjenjuje se kod bolesnika sa besmislenom mutacijom premature stop-codon. Provode se i daljnja istraživanja lijekova koji bi ciljali druge regije gena za potencijalno liječenje ostatka oboljele populacije. Zasad izliječenje od DMD nije moguće, no terapijom se postiže usporen napredak bolesti, poboljšava kvaliteta života oboljelih i produljuje život pacijentima.

Ključne riječi: mišićna distrofija, Duchenne; zbrinjavanje, terapija, ataluren

SUMMARY

Standard management and current therapies of Duchenne progressive muscular dystrophy

Tea Galić

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an X linked progressive muscle disease caused by mutations in DMD gene leading to a lack of functional protein dystrophin. Duchenne (DMD) and Becker (BMD) muscular dystrophies are the most common childhood dystrophies. They are allelic diseases caused by gene mutation at the same locus but what distinguishes them are milder clinical picture and better prognosis in Becker's muscular dystrophy. The first clinical signs of this disease appear around ages 2 and 3 as delayed motor skills including speech development, clumsiness and frequent falls, and elevated levels of liver enzymes are usually found in laboratory tests as a coincidental finding in patients with acute usually respiratory infection. The disease advances especially around the age of 7 to immobility and wheelchair dependency, (non)invasive ventilation necessity before the age of 20 and premature death in second or third decade of life. Regarding the progressiveness of this disease, its contemporary care and treatment are comprehensive and include intertwining of multiple medical specialties.

Multidisciplinary treatment team of DMD includes a pediatrician, a neuropaediatrician, a cardiologist, a pulmonologist, a physiatrist, an orthopedic surgeon, a gastroenterologist and a psychologist. Therapy possibilities are corticosteroids, angiotensin convertase inhibitor and gene and molecular therapy but the majority of the possible treatments is still in research phases. Standard care of DMD patients includes therapeutic procedures, drugs and ASOs. Antisense oligonucleotide therapy (ataluren/Translarna) is approved in Croatia and is applied in those patients with nonsense premature stop-codon mutation. Other drug researches are being conducted for drugs which would target other gene regions and would potentially be used for treating the rest of the affected population. DMD is still not curable but the therapy achieves slowing of disease progression, improves quality of life and prolongs the life of the patients.

Key words: muscular dystrophy, Duchenne; care, therapy, ataluren

1. UVOD

Duchenneova mišićna distrofija (DMD) ireverzibilna je i progresivna neuromuskularna bolest uzrokovana mutacijama u DMD genu(1–4) posljedično čemu nedostaje funkcionalan protein distrofin.(5) Bolest se nasljeđuje X vezano i od nje obolijeva približno 1 na 5000 novorođenih dječaka.(6) U Hrvatskoj se godišnje u prosjeku rađaju 3-4 dječaka s DMD-om i u registru ih je ukupno registrirano 41 u dobi do 18 godina.(7) Bolest je karakterizirana oštećenjima mišićnih vlakana, aktivacijom satelitnih stanica koje se u pokušaju regeneracije vlakana iscrpe i zbog toga dođe do razvoja upalnog odgovora, nekroze i nakupljanja masnog i vezivnog tkiva koje nije funkcionalno.

1.1. Genetička podloga bolesti

Distrofin je kritičan protein membrane poprečno prugastog mišićja koji povezuje citoplazmu i sarkolemu te na taj način ima glavnu stabilizacijsku ulogu u strukturi sarkoleme miocita.(8,9) Gen za protein distrofin nalazi se na Xp21 kromosomu i sastoji se od 79 egzona. (9) Poznato je preko 7000 mutacija u toj regiji koje se mogu podijeliti u velike i male mutacije.

Velike mutacije nalaze se u 80% oboljelih, a male kod 20%. Među velikima nalaze se pretežno delecije i duplikacije koje se grupiraju u području dviju „vrućih“ točaka, egzonima na 3' i 5' krajevima. Delecije se nalaze na 3' kraju u egzonima 45-55, a duplikacije na 5' kraju u egzonima 2-11. Takve mutacije uzrokuju pomak okvira čitanja te vode u sintezu prekratkog nefunkcionalnog distrofina u slučaju Beckerove mišićne distrofije i potpunog nedostatka distrofina u bolesnika sa Duchenneovom mišićnom distrofijom.

Među malim mutacijama nalaze se besmislene, mutacije krivog smisla, mutacije krivog prekrajanja, male insercije, translokacije, delecije, duplikacije i inverzije. Besmislena (nonsense) mutacija u genu za distrofin kodira za prijevremeni stop kodon u mRNA. Tako se translacija proteina distrofina prekida prije nego on bude pune dužine i dolazi do nastanka bolesti.(10)

Odsutnost distrofina rezultira upalom i nekrozom mišićnog tkiva i s vremenom njegovom sve većom zamjenom vezivnim i masnim tkivom.(11) Takve patološke promjene u tkivu zahvaćaju i glatku i poprečno- prugastu muskulaturu te bitno ugrožavaju njihovu funkciju.(12) U sklopu kliničke slike nalazimo pogođene sve

skeletne mišiće, ali i respiratornu muskulaturu.(13) Progresija bolesti stoga vodi i u progresivno respiratorno propadanje što bitno povećava i morbiditet i mortalitet. (2,14–16)

1.2. Klinička slika

Duchenne i Becker mišićne distrofije uzrokovane su mutacijom na istom lokusu, no Beckerova se prezentira kao blaži oblik mišićne slabosti i ima bolju prognozu od Duchenneove zbog djelomične prisutnosti proteinskog produkta- distrofina.

Prvi znakovi bolesti zamjećuju se kod muške djece u drugoj godini života kada se očekuje da dijete već hoda. Oboljelo dijete tada zaostaje u motoričkom razvoju, no ipak bolest se najčešće dijagnosticira tek između treće i pete godine života. Prvi simptomi uključuju mišićnu slabost u proksimalnim mišićnim skupinama, hipotoniju, teško uspinjanje i ustajanje, nespretnost i česte padove. (17) Također izražena je i lumbalna lordoza, pseudohipertrofija potkoljenica i pozitivan je Gowersov znak. U anamnezi se može detektirati i član obitelji koji boluje od mišićne bolesti ili kardiomiopatije. Dilatacijska kardiomiopatija kod oboljelih od DMD razvije se već oko šeste godine. Oboljeli od BMD, iako imaju blaži oblik mišićne slabosti, razvijaju teži oblik kardiomiopatije.(18)

Progresivan karakter bolesti uzrokuje daljnje propadanje mišićne funkcije. Oboljeli izgube sposobnost hodanja između 7. i 12. godine života, a pokretljivost ruku i gornjeg dijela tijela izgube u dvadesetim godinama. Smanjena pokretljivost vodi u razvoj kontraktura, skolioze i osteoporoze.

Također zbog propadanja muskulature probavne cijevi, pacijentima je poremećeno gutanje i hranjenje. S vremenom postaju skloniji i respiratornim tegobama koje uključuju: poremećaje ventilacije, dispneju, recidivne upale pluća te respiratornu insuficijenciju i zatajenje disanja.(2) Uz srčanu slabost od kardiomiopatije, respiratorno zatajenje predstavlja terminalnu posljedicu bolesti i vodi do preuranjene smrti već u drugom ili trećem desetljeću života.(17,19)

U bolesnika s DMD-om izražene su intelektualne teškoće blagog do umjerenog stupnja, poremećaji ponašanja i globalni zaostatak u kognitivnom i duševnom razvoju.(3,20) Intelektualne teškoće i napredovanje bolesti, koja s vremenom postaje sveobuhvatna, otežavaju svakodnevni život oboljelih i smanjuju im kvalitetu života.

Zbog toga je za ove pacijente posebno važna njega i skrb obitelji od djetinjstva kroz odraslu dob.(20)

Budući da su žene samo prenositeljice ove bolesti, vrlo rijetko razvijaju simptome i znakove distrofije. Mišićna slabost zamjećuje se kod njih samo 8%, a kardiomiopatiju razvijaju još i rjeđe.

1.3. Dijagnostika

Na dijagnozu DMD/BMD posumnja se na temelju kliničke slike i povišenih razina mišićnih enzima u serumu: CK, AST i ALT.

Molekularna dijagnostika je kvantitativna metoda analize DNA i daje broj kopija genomskih regija svih 79 egzona gena koji kodira za distrofin. Za otkrivanje delecija ili duplikacija koriste se multipleks PCR kojim se analizira 17 egzona od 79, MLPA za procjenu delecija i duplikacija, te sekvenciranje pojedinih egzona koje detektira točkaste mutacije u pojedinim egzonima. Prema tipu pronađene mutacije procjenjuje se je li očuvan okvir za čitanje.

U 5-10% slučajeva ne nađe se mutacija te je tada potrebno učiniti biopsiju mišića i analizirati sam protein distrofin u njemu.(10) Biopsija se ne provodi rutinski već u slučaju kad je nalaz genetske analize negativan. Također, potrebno je na bioptatu mišića učiniti imunohistokemijsku analizu i imunoblot koji može potvrditi nedostatak distrofina. Klinički i nalazom biopsije Duchenneova i Beckerova distrofija ne mogu se međusobno razlikovati, no Duchenneova je karakterizirana potpunim manjkom distrofina, dok kod Beckerove postoji distrofin samo što je prekratak.(17) Iako analize bioptata potvrđuju nedostatak distrofina, za postavljanje definitivne dijagnoze potrebno je imati genetičku potvrdu bolesti.(16,21)

MR mišića potrebno je učiniti u diferencijalnoj dijagnostici prema drugim neuromišićnim bolestima. (22) Kao biomarker za Duchenne, osim magnetske rezonancije, predložen je i kvantitativni ultrazvuk mišića.(23)

Osim za postavljanje dijagnoze, smatra se da su MR i UZV korisni u detekciji progresije bolesti.(24–26) MR je osjetljiva na mikroskopske promjene u tkivu i tako se mogu zamijetiti promjena sastava mišića i prisutnost upale i edema.(25) UZV mjeri intenzitet koji se pojačava kako raste udio vezivnog i masnog tkiva u mišiću, što je u korelaciji s progresijom bolesti.(24,26–28) Nedostatak UZV je što njegovi rezultati

nisu u korelaciji s nalazom MR-a za sve skupine mišića, već su relevantni samo kada se procjenjuje sastav pojedinih mišića gornjeg ekstremiteta (m.biceps brachii i m.deltoideus).(23)

Zakašnjelo postavljanje dijagnoze DMD učestala je pojava zadnjih 30 godina.(29,30)
Do kašnjenja dolazi zbog nepoznavanja ranih simptoma i znakova te nalaza povišenih vrijednosti mikrosomske frakcije jetrenih enzima u ordinacijama primarne pedijatrijske zaštite.

Naime, jetreni enzimi povišeni su u mišićnim bolestima i indirektno ukazuju na prisutnost povišenih vrijednosti mišićnog enzima kreatin kinaze (CK). Rana definitivna dijagnoza može se postaviti tek po genetičkoj potvrdi bolesti. U primarnoj zaštiti najvažnije je pacijente koji se prezentiraju tipičnim motoričkim simptomima i znakovima distrofije, zakašnjelim razvojem, prisutnim neurokognitivnim deficitima i povišenim serumskim razinama jetrenih enzima, odmah uputiti neuropedijatru. Nalaz povišene razine kreatin kinaze u serumu indikacija je za upućivanje pacijenta genetičaru za postavljanje dijagnoze genetičke bolesti.

Nakon postavljanja dijagnoze pacijentu, potrebno je ponuditi majci dječaka s DMD i njegovim sestrama te ostalim ženskim članovima obitelji testiranje za nositelja.(31)

Ako nalaz za prenositeljice bude negativan, potrebno je učiniti i sekvenciranje genoma; ono je potrebno radi adekvatnog planiranja obitelji, prenatalne dijagnostike i procjene rizika za najčešći komorbiditet distrofije- kardiomiopatiju.(6,32)

2. STANDARDI ZBRINJAVANJA

Praćenje oboljelih od mišićne distrofije Duchenne/Becker provodi se kroz multidisciplinarni tim koji uključuje pedijatra, neuropedijatra, kardiologa, pulmologa, fizijatra, ortopeda, nutricionista, gastroenterologa i psihologa.

2.1. Kardiološko zbrinjavanje

Budući da je najčešći komorbiditet DMD/BMD kardiomiopatija, potrebno je pacijente kontrolirati po kardiologu. Kardiološke kontrole uključuju UZV srca i EKG. Njih je potrebno provoditi redovito svake dvije godine, a nakon navršenih deset godina svake godine. Za rano otkrivanje kardiomiopatije koristan je MR srca s kontrastom. Budući da su ovi pacijenti skloniji aritmijama, povremeno treba snimiti i Holter EKG. Simptome i znakove srčanog zatajenja bitno je uočiti na vrijeme, a oni mogu biti i prikriveni te se prezentirati kao bolovi u trbuhu, zamaranje, povraćanje ili poremećaji spavanja.(2)

2.2. Pulmološko zbrinjavanje

Respiratorno stanje pacijenta kontrolira se spirometrijom i pregledom pulmologa jednom godišnje. Nakon 12. godine oboljeli izgube sposobnost samostalne pokretljivosti i razvijaju skoliozu što ukazuje na progresiju bolesti, a i na ograničavanje plućnog kapaciteta i sklonosti infekcijama dišnih puteva. Tada je indicirano kontrole pulmologa provoditi i dva puta godišnje. Ako pacijent koristi metode potpomognutog iskašljavanja ili NIV pozitivnim tlakom na dvije razine, spirometriju je indicirano obaviti i četiri puta godišnje. Aspiracije dišnih puteva i metode potpomognutog iskašljavanja, koje uključuju manualno i strojno potpomognuto iskašljavanje, trebaju se provoditi kod oboljelog čim izgubi sposobnost samostalnog kretanja.

Napredovanjem bolesti pacijenti imaju potrebu za neinvazivnom ventilacijom. Ona je indicirana u fazi bolesti kada se jave dispneja, umor, hipoventilacija, jutarnja glavobolja, teško buđenje ili noćna buđenja pri čemu je saturacija krvlju kisikom manja od 95%, pCO₂ veći od 45 mmHg ili veći od 50% tijekom 2% vremena spavanja ili u kontinuitetu 5 minuta. Neinvazivna ventilacija može se primjenjivati kontinuirano kroz 24 sata. Posebno je važno da je pacijent ventiliran ako je pO₂

manji od 88% te za vrijeme sedacije, poslije anestezije te nakon intubacije i mehaničke ventilacije. Kisik uz NIV i potpomognuto iskašljavanje primjenjuju se kod pacijenata koji razviju atelektazu, hipoventilaciju ili pneumoniju. Ako se oboljeli tri puta ne može ekstubirati, ako ne podnosi neinvazivnu ventilaciju ili ako je NIV nedovoljno učinkovit u prevenciji aspiracije u pluća, indicirano je učiniti traheostomiju. Za pomoć pri disanju mogu se još koristiti i visokofrekventna oscilatorna ventilacija, intrapulmonalna perkusivna ventilacija i negativan tlak, no potrebno je još istražiti indikacije i korist za njihovu primjenu u Duchenne mišićnoj distrofiji. (16,33,34)

2.3. Gastroenterološko zbrinjavanje

Napredovanjem bolesti(12) pacijenti počinju razvijati poremećaje peristaltike poput gastroezofagealnog refluksa, opstipacije i poremećaja gutanja. Tada je potrebno ispitati akt gutanja te procijeniti ako je potrebno hraniti pacijenta preko sonde ili PEG-a. (2,16) Uz probleme pokretljivosti probavne cijevi, također razvijaju i poremećaje uhranjenosti: pothranjenost i pretilost. Pretilost razvijaju prije 14. godine, poglavito ako su liječeni kortikosteroidima.(35) Za takve procjene nutritivnog stanja koriste se antropometrička mjerenja oboljelih povezana s dobi, što omogućuje da se dobivene vrijednosti stave u korelaciju sa BMI kod odraslih.(36) Tako se procjenjuje da je u dobi do 13 godina 44%-73% oboljelih dječaka iznad 90 percentile po težini. (1,37,38) U dobi od 17-18 godina 47%-65% dječaka padne ispod 10 percentile za težinu, a ako su pacijenti na terapiji kortikosteroidima, čak ih 50% bude pretilo(39), odnosno 70% (40) ako se u obzir uzme postotak masnog tkiva.

Za razvoj pretilosti uz progresiju bolesti postoji nekoliko razloga. Prvi je zamjena mišićnog tkiva s vezivnim zbog nekroze mišićnog tkiva(2,8), drugi je taj što zbog smanjene pokretljivosti i manjka mišićnog tkiva oboljeli troše manje energije u mirovanju(2), a treći je da se pacijenti pretjerano hrane i imaju pojačani apetiti kao nuspojavu terapije kortikosteroidima ili neovisno o njima.(39)

S druge strane, do pothranjenosti dolazi zbog poteškoća pri hranjenju i pojačane potrošnje energije u mirovanju zbog kardioloških i pulmoloških komplikacija.(37,38) Stoga je u praćenju bolesnika važno pratiti preporuke nutricionista o prehrani i provoditi redovite kontrole gastroenterologa.(2)

2.4. Fizikalna terapija i vježbanje

Kontrola fizijatra provodi se jednom godišnje za svakog oboljelog od Duchenne mišićne distrofije. Kontrola obuhvaća funkcionalnu procjenu bolesnika različitim testovima i ljestvicama (NSAA, 6MWT, HFMS, MFM-32).(2)

Zbog progresivne prirode bolesti i izvjesne budućnosti nepokretnosti, pacijenti moraju održavati svoju pokretljivost. To čine svakodnevnom fizikalnom terapijom, stacionarnom hidroterapijom jednom godišnje i nošenjem ortoza. U svakodnevnoj fizikalnoj terapiji najbitnije je održavati i pojačavati fleksibilnost donjih udova.(2) Fleksibilnost stražnjih natkoljениčnih mišića i veličina poplitealnog kuta pacijenata u korelaciji je s udaljenosti prehodanom u 6-minutnom testu hodanja, skraćenim trajanjem penjanja uza 4 stepenice te skraćenim trajanjem Gowensa. Zato bi provođenje upravo vježbi za jačanje te skupine mišića u početku bolesti poboljšale kvalitetu svakodnevnog života pacijenta.(41)

Zanimljiv način za poboljšavanje motoričke sposobnosti oboljelih može se pronaći i u virtualnom svijetu. Naime, provedeno je istraživanje o učenju u virtualnoj stvarnosti i kako se naučeno prezentira u stvarnosti. Uključena su bila 32 pojedinca koja su se normalno razvijala i 32 pacijenta oboljela od Duchenne mišićne distrofije. Pojedinci su bili randomizirani u dvije skupine koje su obavljale skupine zadataka. Jedna skupina je zadatke obavljala prvo u realnom prostoru, a zatim u virtualnoj stvarnosti, dok je druga skupina prvo obavljala zadatke u virtualnoj stvarnosti, a potom u realnom prostoru. Rezultati su pokazali da pacijenti oboljeli od DMD koji su prvo zadatak obavljali u realnom a zatim u virtualnom prostoru nisu imali poboljšanu motoričku izvedbu u virtualnom prostoru. No oboljeli koji su prvo obavljali zadatke u virtualnom, a zatim u realnom prostoru pokazali su poboljšanje u izvedbi. Pritom, treba naglasiti da je za takav učinak zadatak u virtualnoj stvarnosti bio teži od onoga u realnosti.(42)

2.5. Ortopedsko zbrinjavanje

Ortopedske komplikacije distrofije uključuju skoliozu i frakture. Operativno liječenje skolioze može se provesti neovisno o respiratornim parametrima. Mjeri se Cobbov kut; ako je veći od 20° potrebno je kontrolirati se po ortopedu dva puta na godinu, a

ako je veći od 40° indicirano je operativno liječenje. Nove studije međutim pokazuju da je skolioza u ranoj fazi bolesti reverzibilna. Pratilo se 50 dječaka oboljelih od DMD i po gubitku samostalnog kretanja njih 31 je razvilo skoliozu, i 29 od njih 31 pratili su tipičnu progresiju skolioze koja slijedi: bez skolioze, nestrukturalna skolioza mjerljiva samo u sjedećem položaju i strukturalna skolioza mjerljiva i u stojećem položaju. Upravo faza nestrukturalne skolioze mjerljive samo u sjedećem položaju predstavlja razdoblje u kojem je skoliotična zakrivljenost kod oboljelih posve reverzibilna. Da bi se postiglo zaustavljanje progresije preporučuje se nošenje ortoze već u početnoj fazi bolesti te dinamično procjenjivanje zakrivljenosti radiografom iz više projekcija kako bi se ona što ranije detektirala i iskoristila mogućnost njezinog smanjivanja.(43) U slučaju frakture distalnog femura dovoljne su udlage, tj.gips, a proksimalne frakture femura i zdjelice potrebno je operativno liječiti. Operacije tetiva kod pokretnih pacijenata mogu se provesti, no ipak treba razmisliti o njima jer vode bržem gubitku sposobnosti hoda.(2)

2.6. Primjena anestezika

Budući da oboljeli tijekom života imaju potrebu za kirurškim rješavanjem pojedinih komplikacija distrofije, potrebno je poznavati i neke posebnosti njihove bolesti u interakciji s anestetima.

Oboljeli od DMD skloni su rabdomiolizi i hiperkalemiji ako se primjenjuju sukcinilkolin i halotan. Također, u njihovom zbrinjavanju treba izbjegavati depolarizirajuće i inhalacijske anestezije i umjesto njih primjenjivati intravensku totalnu/opću anesteziju. Zbog specifičnosti bolesti koja zahvaća i funkciju srca, treba izbjegavati anestezije koji uzrokuju hipotenziju.

U postoperativnom zbrinjavanju potrebno je primijeniti aminokaproničku i traneksamičnu kiselinu kako bi se smanjio gubitak krvi, rabiti kompresivne čarape i ne primjenjivati antikoagulantnu terapiju. Neposredno prije zahvata potrebno je učiniti pregled kardiologa uz EKG i UZV srca, a nakon ekstubacije, pacijenta treba uz davanje kisika i neinvazivno ventilirati.(2)

2.7. Endokrinološko zbrinjavanje

Djeca oboljela od neuromišićnih bolesti, pa tako i od mišićnih distrofija Duchenne i Becker sklona su razvoju osteoporoze pogotovo ako su im u terapiju uključeni kortikosteroidi. Do 60% oboljelih iskusi patološke frakture čak i bez kortikosteroidne terapije,(44–48) a rizik je dva puta veći kod onih pacijenata na terapiji steroidima.(45) 50% dječaka na terapiji kortikosteroidima ima i simptomatske kompresivne prijelome kralježaka.(45,49)

Prevenција i liječenje osteoporoze temelje se na načelima sekundarne prevencije što uključuje pravovremenu detekciju vertebralnih fraktura preko periodičnih radiografa kralježnice ujedinenih sa detekcijom koštane boli i anamnezom fraktura.(50) Da bi praćenje osteoporoze imalo adekvatan tijek, potrebno je izmjeriti gustoću kostiju denzitometrijom prije i tijekom provođenja terapije kortikosteroidima, a u fazi nepokretnosti jednom u godinu dana. Također, rast je potrebno kontrolirati po endokrinologu preko mjerenja visine pokretnih pacijenata ili mjerenjem duljine ulne i tibije kod nepokretnih pacijenata. Nizak rast je prisutan kod oboljelih neovisno o kortikosteroidnoj terapiji, ali se pojačava njegova učestalost i izražajnost sa primjenom visokih doza(15,20,51) ili kod svakodnevne primjene. (48,52)

Kao terapija za niski rast postoji mogućnost primjene rekombinantnog hormona rasta (rh)GH, no prema trenutnim smjernicama ne preporučuje se za rutinsku upotrebu.(2) Potrebno je motriti i funkciju štitnjače i spolni razvoj oboljelih. U dječaka starijih od 14 godina, a rjeđe kod onih mlađih od 12, indicirana je terapija testosteronom u slučaju hipogonadizma. Zbog svakodnevnog režima primjene kortikosteroidne terapije, većina adolescenata oboljelih od DMD boluje i od hipogonadotropnog hipogonadizma posljedično čemu dolazi i do zakašnjelog puberteta.(53–56) Njegovo kašnjenje i posljedični manjak testosterona imaju utjecaj na snagu kostiju, kardiovaskularno zdravlje i kognitivni razvoj, te na samopouzdanje i kvalitetu života oboljelih. Prema trenutnim smjernicama, terapija testosteronom započinje se kod onih 14- godišnjaka sa potvrđenim hipogonadizmom.(2)

2.8. Psihološka potpora

Od mišićne distrofije Duchenne ne pate samo oboljeli, već i cijela njihova obitelj. Takva progresivna neuromuskularna bolest, uz to što je ograničavajuća za samog pacijenta, ona zahtjeva i promjenu načina života roditelja i članova obitelji te životne uvjete u kućanstvu. Oboljelog člana obitelji treba što ranije uključiti u odlučivanje oko postupanja u bolesti i terapijskim postupcima. Posebno je važno i brinuti o psihološkom stanju oboljeloga, pružiti mu potporu i nadu u budućnost. Ova bolest neminovno vodi u nepokretnost i već je prije dolaska tog razdoblja, odnosno prije dvanaeste godine, nužno bolesnicima omogućiti slobodu odlučivanja o edukaciji, rastu, sazrijevanju, samostalnom životu i o uspostavljanju bračnih veza.(2)

2.9. Cijepljenje

Potrebno je redovito provoditi cijepljenje prema kalendaru i svake godine imunizaciju protiv gripe inaktiviranim virusom.(2)

3. SUVREMENA TERAPIJA

U tradicionalnom liječenju mišićne distrofije Duchenne koriste se kortikosteroidi, rehabilitacija, simptomatska terapija za pojedine komplikacije bolesti te etiološka terapija. Nemoguće je bolest izliječiti, ali terapija se koristi za odgodu progresije bolesti i poboljšanje kvalitete života oboljelih. Neki su potencijalni načini liječenja DMD još u razvoju poput genske terapije, no trenutno odobreni lijekovi od FDA ili EMA su deflazacort, eteplirsen i ataluren.(57,58)

3.1. Kortikosteroidi

Korist liječenja kortikosteroidima zabilježena je već prije 40 godina(60) i danas je terapija kortikosteroidima dječaka starijih od pet godina terapijski standard.

Smatra se da kortikosteroidi djeluju multifaktorijalno, a da je dominantan mehanizam njihovog djelovanja snižavanje aktivacije NFκB signalnog puta.(61) Kronična aktivacija NFκB glavni je okidač mišićne degeneracije i supresije mišićne regeneracije u DMD(62–66) koja se događa već u ranim fazama bolesti i prethodi gubitku mišićne funkcije.(67)

Preporuke za primjenu kortikosteroida u Duchenne mišićnoj distrofiji su prednizon u dnevnoj dozi od 0,75 mg/kg te deflazacort u dnevnoj dozi od 0,9 mg/kg.

Optimalna primjena bila bi primjena oboljelima prije početka fizičkog nazadovanja kako bi se što više sačuvala mišićna snaga(2,68), no trebaju se svakako primjenjivati u terapiji i pokretnih i nepokretnih dječaka. (69) Takva terapija pokazala se djelotvornom u usporeju progresije bolesti, poboljšanju snage i mjerene motoričke funkcije te odgađaju gubitak samostalnog kretanja.(70–77) Gubitak samostalnog kretanja je u DMD prekretnica bolesti(15,78,79), a kortikosteroidi odgađaju invalidnost oboljeloj djeci. Dječaci na terapiji prednizonom zadržavali su pokretljivost do 13. godine, a dječaci na terapiji deflazacortom do dobi od 11.9 godina.(15,78,80) Dodatno, pokazuju i blagi kardioprotektivni učinak u pacijenata starijih od 20 godina i usporavaju nastup i progresiju skoliozičnog zakrivljenja kralješnice.(76,81) Omogućili su i odgađanje njenog operativnog liječenja (70–75), a u tome je posebno učinkovit deflazacort.(15,82)

Kortikosteroidi su se pokazali također korisni i u poboljšanju i stabilizaciji plućne funkcije te je i sam utjecaj na pluća neovisno o pokretljivosti razlog da se terapija

nastavi i kod nepokretnih te da se uvede i kod odraslih oboljelih pacijenata. Kod nepokretnih pacijenata kortikosteroidi ostvaruju znatan učinak u vidu poboljšanja vitalnog kapaciteta, Brookove skale i snage šake i prstiju. (83,84) Upravo poboljšanje vitalnog kapaciteta kod nepokretnih pacijenata na terapiji kortikosteroidima čini razliku hoće li pacijent biti u potrebi za BIPAP-om ili ne.(84)

Ako se pacijent počne klinički pogoršavati doza se treba povećati, a ako razvije nuspojave dugotrajnog liječenja steroidima tada je potrebno smanjiti dozu za 25-33%. Tijekom liječenja važno je također monitorirati zdravlje endokrinog i koštanog sustava.(2,85) Naime, ovakvo liječenje uzrokuje i nuspojave koje uključuju i patološke frakture kralježaka i ekstremiteta.(85) Osim što su same po sebi već nuspojava, one vode do i daljnjih komplikacija u vidu nepokretnosti i masne embolije.(86) Na području endokrinologije, očekuju se poremećaji rasta, odgođeni pubertet i adrenalna insuficijencija.(87) Posebno treba voditi brigu o adrenalnoj insuficijenciji nakon operativnog zahvata ili uslijed teške infekcije te tada sniziti dozu steroida.(88)

Zbog toga što svakodnevna primjena kortikosteroida uzrokuje ovako brojne nuspojave koje imaju ozbiljan utjecaj na kvalitetu života oboljeloga, u interesu je proučiti i druge algoritme terapije kortikosteroidima. Predlažu se intermitentna primjena kortikosteroida(89) odnosno primjena visoke doze kortikosteroida samo vikendom(90) umjesto svakodnevne primjene. U pronalasku optimalnog režima terapije uspoređuje se dnevni prednizon sa dnevnim deflazacortom prema intermitentnoj primjeni prednizona prateći nuspojave i učinak liječenja.(89) Doze koje su se uspoređivale su prednizon 0,75 mg/kg/dan i deflazacort 0,9 mg/kg/dan sa visokim vikend dozama prednizona od 10 mg/kg/tjedno. Rezultati su pokazali da visoke vikend doze prednizona imaju jednaki terapijski učinak kao i njegova dnevna primjena. (52,90) Pritom u prilog intermitentnom režimu ide i rezultat zabilježen kod mlađih dječaka. Naime, oboljeli dječaci u dobi od 3 do 30 mjeseci bolje reagiraju na intermitentnu terapiju u vidu poboljšanja mišićne snage. Također, intermitentni režim nije utjecao na njihov linearni rast niti na njihov puls i tlak.(91) Daljnja istraživanja se temelje na otkrivanju doze koja je efikasna s najmanje nuspojava.(88) Upravo zbog nuspojave kortikosteroidne terapije, 50 % pacijenata prestane s terapijom.(83) Nuspojave uključuju debljanje, nešto češće pri liječenju prednizonom nego deflazacortom, i katarakta, češća kod pacijenata na terapiji deflazacortom.(81) I dalje

postoje varijacije primjene lijeka u praksi, u odluci za propisivanje i metodi terapije.
(92)

Trenutna preporuka je da se kortikosteroidi primjenjuju u liječenju pacijenata starijih od pet godina, a i dalje je otvoreno pitanje oko primjene kortikosteroida kod dojenčadi, odnosno ima li ranija primjena dugoročnu korist za pacijente.(91)

Osim kortikosteroida, za terapiju se predlaže i edasalonexent.(93) On je NFκB inhibitor i namijenjen je za peroralnu primjenu. Sastoji se od kovalentno vezanih salicilne kiseline i dokozaheksaenske kiseline.(94) Salicilna kiselina sprječava NFκB posredovanu mišićnu atrofiju i smanjuje katabolizam mišića(95–97), a DHA suprimira proinflamatorne puteve preko modulacije aktivnosti NFκB.(98,99) Pretkliničke studije pokazale su smanjenu degeneraciju mišića i pojačanu regeneraciju kod miševa i pasa(61), a u fazi 1 kliničke studije kod odraslih pokazala je dobru toleranciju i brzu i zasićenu oralnu apsorpciju s minimalnom akumulacijom nakon multiplih doza i inhibirao je NFκB puteve već nakon jednog tjedna primjene.(93,100)

3.2. Protusmjerni (antisense) oligonukleotidi

Konjugati peptida, tj. protusmjerni (antisense) oligonukleotidi, pronalaze svoje mjesto u mogućoj terapiji mišićne distrofije na temelju preskakanja egzona.(101) Oko 2/3 mutacija velike su delecije koje zahvaćaju više egzona i onemogućuju funkciju okvira za čitanje i uzrokuju kliničku sliku mišićne distrofije Duchenne, nasuprot Beckerove kojoj je u podlozi očuvan okvir za čitanje. Te mutacije mogu se korigirati prekrajanjem jednog egzona na 3' i 5' graničnim pozicijama susjednih egzona mRNA-a.(101)

Ciljanjem i inaktivacijom prekrajućih signala pre-mRNA-a specifičnim oligonukleotidima za sekvencu može se uspostaviti okvir za čitanje i inducirati inertno deletirani transkript unutar njega, slično kao kod Beckerove MD. Potom se navedeni transkript translatira u kvantitativno reducirani, ali još funkcionalni proteinski produkt distrofin, koji odgovara fenotipu blažeg oblika mišićne distrofije. Dakle, u mišićnoj distrofiji Duchenne nema distrofina, a ovakvim terapijskim pristupom postigla bi se proizvodnja distrofina manje duljine, ali bi bio funkcionalan i klinički bi oboljeli imali blaže tegobe. (102) Ovakav pristup liječenju obećavajući je, jer iako ne dovodi do izliječenja ipak se klinički bilježi poboljšanje pacijenata(103,104) i veza između izvanstaničnog matriksa i citoskeleta mišićnih vlakana može biti djelomično obnovljena.(105,106) Koriste se ASO-i (antisense oligonukleotidi) koji imaju

sposobnost hibridizirati se u dijelove sekvence i tako preveniraju slaganje spliceosoma. Time je omogućena translacija mRNA transkripta. (63,107) ASO-i su građeni u osnovi od nukleotida koji su, zahvaljujući kemijskoj strukturi, otporni na endonukleaze. Fosforotat oligonukleotidi primjenjuju se supkutano, a morfolino ASO-i intravenski jedan put na tjedan.(108) Najviše obećaje ASO treće generacije, fosfordiamidat morfolino oligomer (PMO).(109–111)

Popravljanje poremećenog okvira čitanja kod mišićne distrofije Duchenne koji onda rezultira fenotipom mišićne distrofije Becker prvi put pokušao je in vitro ciljajući egzon 19 u Kobe DMD fenotipu(112–114) i to je sada baza za novi terapijski pristup.(115) Pokazana je uspješna restoracija distrofina na životinjskim modelima.(116) Kod humaniziranog mdx miša koji sadrži mutaciju na egzonu 19, efikasna je bila doza intramuskularno 1 mikrogram 2'- OME ASO tjedno tijekom 4 tjedna, ili jednokratno 5 mikrograma. Ta doza bila je dovoljna da inducira sintezu distrofina i poboljša funkciju mišića.(117,118)

3.2.1. Preskakanje egzona

Oko 10-15% bolesnika s DMD-om(108,119) može se liječiti pomoću ASO-a koji je usmjeren na egzon 51. Prvo kliničko ispitivanje koristilo je drisapersen. Pretklinička su istraživanja pokazala dobru podnošljivost i djelotvornost u smislu povećanja količine distrofina i stabilizaciju tijeka bolesti. Razina distrofina u oboljelom mišiću podigla se na 15,6% količine distrofina u zdravom mišiću, a dva istraživanja u fazi 2 kliničkog istraživanja pokazala su poboljšanje u 6-minutnom testu hodanja kod djece tretirane dozom 6 mg/kg/tjedno subkutano 6-24 tjedna. No rezultati se nisu mogli ponoviti u fazi 3 kliničkog istraživanja. Drisapersen nije pokazao znatnu kliničku djelotvornost, pa je istraživanje obustavljeno jer se rezultati ne mogu objektivno mjeriti na molekularnoj i kliničkoj razini ni u količini proteinskog produkta.(120–122) Nuspojave poput fragilnosti kože na mjestu uboda, proteinurije i prisutnosti alfa mikroglobulina u urinu pojačale su se kad je doza podignuta na 9 mg/kg/tjedno i zbog toga je FDA odbila odobriti lijek na kliničkoj razini.(123)

Za egzon 51 pojavio se i novi oligonukleotid, eteplirsen. Eteplirsen je fosfordiamidat morfolino oligomer (PMO) koji popravlja pomak okvira čitanja i tako vodi do sinteze skraćenog proteina distrofina kod ciljane populacije. (10,115) Eteplirsen je u fazi 3 kliničkog istraživanja pokazao stabilizaciju prirodnog tijeka bolesti, djelujući na

produljenje pokretljivosti, iako biopsije ne pokazuju povećanje količine proteina.(124) Pacijenti koji su bili pokretni i na terapiji eteplirsenom, pokazali su dulji prehodani put na 6-minutnom testu hodanja. Pacijenti koji su već bili nepokretni, na terapiji eteplirsenom zadržali su stabilnost mišićne snage prema specifičnim kriterijima za nepokretne, a i zadržali su adekvatnu funkciju srca i gornjih udova kao i pokretni oboljeli pacijenti.(125) Eteplirsen također značajno usporava pogoršanje respiratorne funkcije u usporedbi s kortikosteroidima i to u mjeri koja povoljno utječe i na kvalitetu i trajanje života oboljelih od DMD.(33,108,126) Stoga je FDA 2016. godine(127) omogućila ubrzano odobrenje lijeka temeljeno na činjenici da malo povećanje distrofinskog proteina može uvjetovati kliničko poboljšanje, no EMA nije odobrila primjenu eteplirsena u Europi. Dodatne studije su potrebne radi dokazivanja navedene tvrdnje i opravdanosti primjene. Osim za egzon 51 u kliničkom su ispitivanju i oligonukleotidi za preskakanje egzona 45 i 53.(59)

Istraživanja napreduju, i trenutno se istražuje optimizirani ASO WVE- 210201 koji je imao obećavajuće rezultate in vitro, a trenutno mu se provjerava sigurnost i efikasnost u prvoj fazi kliničkog ispitivanja. (128,129) On cilja egzon 51 kao i već od FDA odobreni eteplirsen.(101,119,123,128)

Trenutno se provodi i kliničko ispitivanje ASO-a NS-065/NCNP-01 PMO koji preskače egzon 53 i cilja 8% populacije oboljele od DMD.(130)

Odobren je i deseti oligonukleotid općenito, a drugi za terapiju DMD, golodirsen.(131) On je odobren samo na temelju povećane ekspresije distrofina, bez dokazane koristi na kliničkoj razini. Testiran je u dvije faze kliničkog testiranja. Primjenjivan je bio putem intravenske infuzije s postepenim povišenjem doze do doze od 30 mg/kg kroz 48 mjeseci. Rezultati su zabilježili povišenje distrofina u mišićnom bioptatu za 0,9%, a eteplirsenu je za to bila potrebna primjena lijeka u trajanju od 188 tjedana. Inicijalno, golodirsen nije bio odobren zbog renalne toksičnosti zabilježene u animalnom modelu te zbog povišenog rizika od infekcije zbog primjene lijeka preko intravenskog porta, no Sarepta je jamčila da će motriti bubrežnu funkciju ispitanika. Trenutno se provodi dvostruko slijepo placebo kontrolirano potvrdno istraživanje. Cijena je golodirsena u rangu sa eteplirsenom, nekoliko stotina tisuća dolara po pacijentu godišnje. No lijek i dalje ne liječi već samo usporava bolest. Ovo je drugi Sareptin oligonukleotid, ali imaju konkurenciju od druge farmaceutske firme, Nippon Shinyaku Pharma, koji razvija viltolarsen. Oni su imali 5,8% porast distrofina u 24

tjedna terapije sa dozom 20 ili 40 ili 80 mg/kg/tjedno intravenski. No, iako obje farmaceutske tvrtke koriste western blotting u praćenju razine distrofina, nisu koristile identične protokole niti referentne kontrole, pa se rezultati ne mogu direktno usporediti.(131)

Casimersen je ASO koji još je još u fazama ispitivanja i nema rezultate.(127)

Sve te nove terapije i lijekovi bazirani na ASO-ima vode prema novim terapijskim režimima koji će uspjeti u obnovi distrofina sa minimalnim nuspojavama i to svakako pruža nadu pacijentima oboljelima od genetičkih neuromuskularnih bolesti.(109)

3.2.2. Supresija nonsense mutacije (ataluren)

Oko 15% bolesnika ima besmislenu mutaciju, tzv. prematurni stop kodon u čitanju redosljeda baza u ribosomskom kompleksu. Takva mutacija potom onemogućava translaciju i produkciju distrofina te uzrokuje kliničku sliku DMD-a, iako je moguće da se ista mutacija registrira i u bolesnika s BMD-om, zbog alternativnog prekrajanja uz održan okvir čitanja.(10) Ataluren je lijek koji u bolesnika s DMD-om, kojemu je bolest uzrokovana besmislenom stop kodon mutacijom na ribosomu, u određenoj mjeri omogućuje translaciju tj. pročitavanje (read through) kroz stop codon, što rezultira sintezom proteina pune dužine i može dovesti do usporenja bolesti.(132–134)

Indiciran je za primjenu u djece starije od 2 godine, koja su samostalno pokretna barem 10 koraka i još šest mjeseci pošto postanu nepokretna. U Hrvatskoj je zasad troje djece na terapiji atalurenom. Ne dovodi do izlječenja od bolesti, već usporava i stabilizira njenu progresiju te omogućuje produljenje sposobnosti samostalne pokretljivosti, tj. hodanja, i smanjuje ovisnost o invalidskim kolicima u odnosu na standardnu terapiju ili placebo. Time skraćuje i vrijeme do razvoja teške skolioze s indikacijom za kirurško ortopedsko liječenje, respiratornih komplikacija i vrijeme do smrti. Ataluren (Translarna) nije djelotvoran kod svih besmislenih mutacija s prematurnim stop kodonom; primjerice ne ostvaruje učinak kod frame shift mutacije. Prema procjeni, sukladno s učestalošću, u Hrvatskoj bi se rodilo 1-2 djeteta u dvije do tri godine s mišićnom distrofijom Duchenne uzrokovanom upravo besmislenom mutacijom s prematurnim stop kodonom, koja bi imala indikaciju za liječenje atalurenom.(134)

Prema rezultatima provedenih kliničkih ispitivanja broj bolesnika koji uz terapiju atalurenom prestaju samostalno hodati je manji u odnosu na broj bolesnika na terapiji placebo u istom vremenskom razdoblju.(133) Učinkovitost i pouzdanost lijeka atalurena(Translarne) procjenjivane su u dvije randomizirane, dvostruko slijepe, placebo kontrolirane studije u DMD bolesnika s besmislenom mutacijom. Povoljan učinak atalurena prema kliničkim ispitivanjima registriran je pri dozi od 40mg/kg/dan.(133) Nakon 48 tjedana liječenja, bolesnici koji su na dan primali 40mg/kg/dan lijeka Translarne, uz baznu duljinu hoda od >150 m na 6-minutnom testu hodanja, mogli su prosječno prehodati 31,7 metara više od onih koji su primali placebo.(132) Nitko od bolesnika na atalurenu u toj skupini nije u navedenom razdoblju prestao samostalno hodati, u odnosu na 8% bolesnika u placebo grupi. (133)

Nuspojave atalurena uključuju povraćanje, proljev, mučninu, glavobolju, bol u želucu i nadutost. Ove su nuspojave većinom blagog ili umjerenog intenziteta.

Europska agencija za lijekove procijenila je da je Translarna (ataluren) terapijska inovacija te da omogućava klinički značajne koristi za bolesnike s DMDom koja je posljedica besmislene mutacije.(135) Potrebna su dodatna dugotrajnija klinička ispitivanja procjena učinka atalurena na pulmonalnu funkciju i na funkciju gornjih ekstremiteta. (134) Translarnu je odobrila EMA 2014., tzv. privremenim /uvjetnim odobrenjem.(134) 2018. godine odobrena je s proširenjem na primjenu kod djece u dobi od dvije do pet godina. (147)

3.3. Genska terapija virusnim vektorima

Genska terapija cijelim genom za DMD pomoću rAAV (rekombinantni adeno-asocirani virus) virusnih vektora nije moguća zbog veličine gena, pa je smanjena njegova veličina na 50%, čime gen postaje samo djelomično funkcionalan. Takva terapija zamjene DMD gena, iako nije odobrena od organizacija, došla je do faza ranog kliničkog istraživanja sa obećavajućim rezultatima. Tretirani pacijenti pokazali su poboljšanje prema funkcionalno mjerenim parametrima(NSAA, time to rise, 4SCT and 100 m timed test) bez razvoja ozbiljnih nuspojava.(136,137)

Terapija mioblastima ima izrazito ograničeno djelovanje, pri čemu transplantirani mioblasti imaju smanjenu regenerativnu sposobnost i veliku smrtnost.(117)

3.4. Korekcija mutacija preko CRISPR-Cas9

Molekularna terapija zapravo je personalizirana terapija s obzirom na to da djeluje i da se može primijeniti samo u bolesnika s točno definiranom mutacijom. Najrecentniji pristup uključuje uređenje gena, tj. mutacije gena (CRISPR-Cas) tj. korekciju mutacije.(127) CRISPR-Cas terapijski sustav način je izravne genetske modifikacije genoma putem kojeg se može utjecati na i oporaviti proizvodnju distrofina. Dvije su varijante CRISPR-Cas sustava koje pokazuju obećavajuće rezultate u provedenim in vivo studijama: Cas9 i Cpf1. Iako uređivanje gena na razini jedne mutacije može voditi do sinteze distrofina u njegovoj punoj duljini i funkciji, kod velikih mutacija ne postiže se takav učinak. Ako je uzrok DMD velika delecija, tada se može potaknuti proizvodnja samo kraćih i manje funkcionalnih distrofina, slično kao i kod terapije protusmjernim oligonukleotidima. U prelasku preko te prepreke CRISPR-Cas kompleks se in vivo isporučuje sa segmentom distrofinske cDNA. Takvim načinom primjene postiže se proizvodnja duljih distrofina. Ovakav način terapije međutim treba još poraditi na niskom učinku ovakvog uređivanja gena i imunološkom odgovoru domaćina na bakterijske Cas9. (138,139)

3.5. Terapija kardiomiopatije

Bolje zbrinjavanje muskuloskeletnih i respiratornih tegoba dovelo je do toga da je produljeno trajanje života oboljelih i zbog toga raste incidencija kardiomiopatije, najčešćeg komorbiditeta mišićne distrofije u trećem desetljeću njihovog života.(18,140) Zatajenje srca vodeći je uzrok smrti pacijenata s mišićnom distrofijom Duchenne i Becker i udruženo sa respiratornom insuficijencijom smanjuje životni vijek za polovinu do trećinu normalnog životnog vijeka.

Rana primjena inhibitora konvertaze angiotenzina, koja uključuje primjenu nakon šeste a prije desete navršene godine života, te beta blokatora usporava razvoj kardiomiopatije i odgađa smrtni ishod. Svakako treba početi s terapijom u slučaju smanjenja ejskijske frakcije, abnormalne dimenzije srčanih komora, a primijeniti i beta blokatore u slučaju pojave tradicionalnih znakova zatajenja. Uz samu slabost srčanog mišića i njegovu smanjenu kontraktilnost, na njegovu funkciju utječu i hemodinamski čimbenici. Pacijenti oboljeli od Duchenne mišićne distrofije koji nisu na terapiji ACE inhibitorima imaju povišeni tlak, a i oni koji imaju povišen BMI zbog same prirode bolesti ili uslijed terapije kortikosteroidima također su imali hipertenziju. Dakle,

na sam životni vijek ne utječe samo sama mišićna slabost, već i faktori koji utječu na srčani afterload, povišen tlak i BMI. (13,141) Levosidenman je lijek koji povećava osjetljivost troponina C na kalcij i tako poboljšava kontraktilnost srca, te inducira vazodilataciju otvarajući kalijeve kanale regulirane ATP-om. To osigurava veći minutni volumen srca uz manji zahtjev kisika.(140,142) Pritom je omogućeno bolje zbrinjavanje srčanog zatajenja.

Transplantacija srca ili implantacija pomoćnog uređaja u lijevu komoru (LVAD) indicirane su u bolesnika s DMD-om i BMD-om, osobito u bolesnika s BMD-om u fazi razvoja zatajenja, osim u slučaju istodobnog razvoja respiratornog zatajenja. (18,140)

3.6. Terapija osteoporoze

Vitamin D, kalcijev karbonat i potom bisfosfonati primjenjuju se u svakodnevnom liječenju osteoporoze uz redovitu svakodnevnu fizikalnu terapiju. (7)

4. NOVOROĐENAČKI PROBIR I PRENATALNO OTKRIVANJE

Tradicionalna prenatalna dijagnostika uključuje invazivne postupke: CVS, amniocentezu i punkciju pupčane vrpce. Takve metode jesu djelotvorne, no dovode u rizik i trudnicu i fetus. (143) NIPT metoda je jednostavnija i sigurnija zato što traži samo uzorak majčine krvi. Otkad je uvedena u kliničku primjenu 2011. godine,(32) široko je prihvaćena i koristi se u 60 zemalja. (144) Metoda ovakvog testiranja temelji se na utvrđivanju majčinskog haplotipa preko linked read sequencinga i preko toga predviđanja genotipa fetalnog DMD koristeći NIPT metodu. Pokazala se učinkovitošću u 92,3%.(145)

FDA je odobrila novorođenački probir na mišićnu distrofiju Duchenne i laboratoriji ga imaju pravo uvesti u panel pretraga novorođenačkog probira, ako tako odluče. U probiru se mjere razine kreatin kinaze u uzorku novorođenačke sasušene krvi.(6,32,146)

5. ZAKLJUČAK

U skrbi o pacijentima oboljelima od mišićne distrofije Duchenne ne vlada nihilistički pristup. Uz to što je u zbrinjavanje progresije bolesti uključen multidisciplinarni tim specijalista, klasična terapija uključuje i terapiju kortikosteroidima te medikamentno zbrinjavanje komplikacija distrofije. Sve više raste interes farmaceutskih tvrtki za razvoj lijekova koji bi zaustavili ili usporili neuromuskularno propadanje. No, provođenje kliničkih istraživanja u rijetkim bolestima poput DMD zahtjevno je. Broj pacijenata je ograničen, progresija bolesti varijabilna i sama priroda bolesti je progresivna. Zbog toga se komplicira dizajn kliničkih studija i definiranje zadovoljavajućih kliničkih ishoda.

Danas, najveći potencijal za liječenje pacijenata nalazi se u razvoju protusmjernih oligonukleotida koji ciljaju mutacije na specifičnim lokusima i na taj način omogućuju individualan pristup liječenju. Također, klinička istraživanja mnogo različitih oligonukleotida i kliničkih režima njihove primjene, pružaju nadu da će se uspjeti doći do lijeka koji će obnoviti distrofin sa minimalnim nuspojavama.

Kako bi se zbrinjavanje pacijenata započelo na vrijeme, važno je naglasiti da veliku ulogu imaju novorođenački probir i rana genska dijagnoza bolesti. Takav pristup otkrivanju i liječenju bolesti, u budućnosti bi trebao olakšati pravovremeno uvođenje oboljelih u registar, adekvatnu evaluaciju njihovog zdravstvenog stanja te standardizirati njihovu skrb.

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof.dr.sc. Nini Barišić, na uloženom trudu, potpori, prijedlozima i vremenu prilikom izrade ovog diplomskog rada. Hvala i mojim prijateljima i obitelji na bezuvjetnoj podršci i razumijevanju tijekom života i studiranja.

LITERATURA

1. McDonald CM, Abresch RT, Carter GT, Fowler WM Jr., Johnson ER, Kilmer DD SB. Profiles of neuromuscular diseases. Duchenne muscular dystrophy. *Am J Phys Med Rehabil.* 1995;74(5 Suppl):S70-92.
2. Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, Case LE, Clemens PR, Cripe L, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol* [Internet]. 2010;9(1):77–93. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70271-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70271-6)
3. Connolly AM, Florence JM, Cradock MM, Malkus EC, Schierbecker JR, Siener CA, Wulf CO, Anand P, Golumbek PT, Zaidman CM, Philip Miller J, Lowes LP, Alfano LN, Viollet-Callendret L, Flanigan KM, Mendell JR, McDonald CM, Goude E, Johnson L, Nicorici A, Karac and MDCRN. Motor and cognitive assessment of infants and young boys with Duchenne muscular dystrophy: Results from the Muscular Dystrophy Association DMD Clinical Research Network. *Neuromuscul Disord.* 2013;23(7):529–39.
4. THoffman EP, Fischbeck KH, BrownRH, Johnson M, Medori R, Loike JD, Harris JB, Waterston R, Brooke M, Specht L et al. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne’s or Becker’s muscular dystrophy. *N Engl J Med.* 1998;318(21):1363–8.
5. Hoffman EP, Brown RH, Kunkel LM. Dystrophin: The protein product of the duchenne muscular dystrophy locus. *Cell.* 1987;51(6):919–28.
6. Mendell JR, Lloyd-Puryear M. Report Of MDA Muscle Disease Symposium On Newborn Screening For Duchenne Muscular Dystrophy. *Muscle and Nerve.* 2013;48(1):21–6.
7. Barišić N. Contemporary Spinal Muscular Atrophy (SMA) and Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) Therapy: Criteria and Priorities. *Paediatr Croat.* 2018;62 (Suppl:60–72).
8. Deconinck N, Dan B. Pathophysiology of Duchenne Muscular Dystrophy: Current Hypotheses. *Pediatr Neurol.* 2007;36(1):1–7.
9. Blake DJ, Weir A, Newey SE, Davies KE. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol Rev.* 2002;82(2):291–329.

10. Bladen CL, Salgado D, Monges S, Foncuberta ME, Kekou K, Kosma K, et al. The TREAT-NMD DMD global database: Analysis of more than 7,000 duchenne muscular dystrophy mutations. *Hum Mutat.* 2015;36(4):395–402.
11. Peverelli L, Testolin S, Villa L, D’Amico A, Petrini S, Favero C, et al. Histologic muscular history in steroid-treated and untreated patients with Duchenne dystrophy. *Neurology.* 2015;85(21):1886–93.
12. Davidson ZE, Rodden G, Mázala DAG, Moore C, Papillon C, Hasemann AJ, et al. Practical Nutrition Guidelines for Individuals with Duchenne Muscular Dystrophy. In: Childers MK, editor. *Regenerative Medicine for Degenerative Muscle Diseases* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2016. p. 225–79. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3228-3_9
13. Rybakova IN, Patel JR, Ervasti JM. The dystrophin complex forms a mechanically strong link between the sarcolemma and costameric actin. *J Cell Biol.* 2000;150(5):1209–14.
14. Mayer OH, Henricson EK, McDonald CM, Buyse GM. Advances in pulmonary care in duchenne muscular dystrophy. *Eur Neurol Rev.* 2017;13(1):35–41.
15. McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Duong T, Joyce NC, Hu F, 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):451–61.
16. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Alman BA, Apkon SD, Blackwell A. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2. 2018;17(4):347–61.
17. Emery AEH. The muscular dystrophies. *Lancet.* 2002;359(9307):687–95.
18. Nigro G, Comi LI, Politano L, Bain RJI. The incidence and evolution of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. *Int J Cardiol.* 1990;26(3):271–7.
19. Ryder S, Leadley RM, Armstrong N, Westwood M, De Kock S, Butt T, et al. The burden, epidemiology, costs and treatment for Duchenne muscular dystrophy: An evidence review. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):1–21.
20. Sarrazin E, Hagen M Von Der, Schara U, Von Au K, Kaindl AM. Growth and psychomotor development of patients with Duchenne muscular dystrophy. *Eur J Paediatr Neurol* [Internet]. 2014;18(1):38–44. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpn.2013.08.008>

21. Aartsma-Rus A, Ginjaar IB, Bushby K. The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet*. 2016;53(3):145–51.
22. Morrow JM, Sinclair CDJ, Fischmann A, Machado PM, Reilly MM, Yousry TA, et al. MRI biomarker assessment of neuromuscular disease progression: A prospective observational cohort study. *Lancet Neurol* [Internet]. 2016;15(1):65–77. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00242-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00242-2)
23. Roy B, Darras BT, Zaidman CM, Wu JS, Kapur K, Rutkove SB. Exploring the relationship between electrical impedance myography and quantitative ultrasound parameters in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2019;130(4):515–20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.01.018>
24. Rutkove SB, Geisbush TR, Mijailovic A, Shklyar I, Pasternak A, Visyak N, et al. Cross-sectional evaluation of electrical impedance myography and quantitative ultrasound for the assessment of duchenne muscular dystrophy in a clinical trial setting. *Pediatr Neurol* [Internet]. 2014;51(1):88–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2014.02.015>
25. Sanchez B, Rutkove SB. Electrical Impedance Myography and Its Applications in Neuromuscular Disorders. *Neurotherapeutics* [Internet]. 2017;14(1):107–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13311-016-0491-x>
26. MD CMZMJSWMKKPAPPLMBSYBAPBHSBTHBBDMSBR. Quantitative muscle ultrasound detects disease progression in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol*. 2017;81(5):633–40.
27. Pillen S, Tak RO, Zwarts MJ, Lammens MMY, Verrijp KN, Arts IMP, et al. Skeletal Muscle Ultrasound: Correlation Between Fibrous Tissue and Echo Intensity. *Ultrasound Med Biol*. 2009;35(3):443–6.
28. Shklyar I, Geisbush TR, Mijialovic AS, Pasternak A, Darras BT, Wu JS, et al. Quantitative muscle ultrasound in Duchenne muscular dystrophy: A comparison of techniques. *Muscle and Nerve*. 2015;51(2):207–13.
29. Firth MA. Diagnosis of Duchenne muscular dystrophy: Experiences of parents of sufferers. *Br Med J*. 1983;286(6366):700–1.
30. Crisp DE, Ziter FA, Patrick F. Diagnostic Delay in Duchenne ' s Muscular. *Am J Hum*

- Genet. 1982;8–10.
31. Aartsma-Rus A, Hegde M, Ben-Omran T, Buccella F, Ferlini A, Gallano P, et al. Evidence-Based Consensus and Systematic Review on Reducing the Time to Diagnosis of Duchenne Muscular Dystrophy. *J Pediatr* [Internet]. 2019;204:305-313.e14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.10.043>
 32. Lau TK, Chan MK, Salome Lo PS, Connie Chan HY, Kim Chan WS, Koo TY, et al. Clinical utility of noninvasive fetal trisomy (NIFTY) test early experience. *J Matern Neonatal Med*. 2012;25(10):1856–9.
 33. Kinane TB, Mayer OH, Duda PW, Lowes LP, Moody SL, Mendell JR. Long-Term Pulmonary Function in Duchenne Muscular Dystrophy: Comparison of Eteplirsen-Treated Patients to Natural History. *J Neuromuscul Dis*. 2018;5(1):47–58.
 34. Hull J, Aniapravan R, Chan E, Chatwin M, Forton J, Gallagher J, et al. British Thoracic Society guideline for respiratory management of children with neuromuscular weakness. *Thorax*. 2012;67(SUPPL. 1).
 35. Haddad L, Achadi E, Bendeck MA, Ahuja A, Bhatia K, Bhutta Z, et al. The Global Nutrition Report 2014: Actions and Accountability to Accelerate the World's Progress on Nutrition. *J Nutr*. 2015;145(4):663–71.
 36. de Onis M, Blössner M. The World Health Organization Global Database on Child Growth and Malnutrition: Methodology and applications. *Int J Epidemiol*. 2003;32(4):518–26.
 37. Martigne L, Salleron J, Mayer M, Cuisset JM, Carpentier A, Neve V, et al. Natural evolution of weight status in Duchenne muscular dystrophy: A retrospective audit. *Br J Nutr*. 2011;105(10):1486–91.
 38. Willig TN, Carlier L, Legrand M, Riviere H NJ. Nutritional assessment in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*. 1993;35(12):1074–82.
 39. Davidson ZE, Ryan MM, Kornberg AJ, Sinclair K, Cairns A, Walker KZ, et al. Observations of body mass index in Duchenne muscular dystrophy: A longitudinal study. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68(8):892–7.
 40. Saure C, Caminiti C, Weglinski J, de Castro Perez F, Monges S. Energy expenditure, body composition, and prevalence of metabolic disorders in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* [Internet]. 2018;12(2):81–5.

Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2017.08.006>

41. Akkurt L, Gürbüz IA, Karaduman A, Yılmaz ÖT. Lower limb flexibility in children with Duchenne muscular dystrophy: Effects on functional performance. *Pediatr Exerc Sci*. 2019;31(1):42–6.
42. Quadrado VH, Silva TD da, Favero FM, Tonks J, Massetti T, Monteiro CB de M. Motor learning from virtual reality to natural environments in individuals with Duchenne muscular dystrophy. *Disabil Rehabil Assist Technol [Internet]*. 2019;14(1):12–20. Available from: <https://doi.org/10.1080/17483107.2017.1389998>
43. Choi YA, Shin HI, Shin HI. Scoliosis in Duchenne muscular dystrophy children is fully reducible in the initial stage, and becomes structural over time. *BMC Musculoskelet Disord*. 2019;20(1):1–8.
44. Wong BL, Rybalsky I, Shellenbarger KC, Tian C, McMahon MA, Rutter MM, et al. Long-Term Outcome of Interdisciplinary Management of Patients with Duchenne Muscular Dystrophy Receiving Daily Glucocorticoid Treatment. *J Pediatr [Internet]*. 2017;182:296-303.e1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.11.078>
45. King WM, Ruttencutter R, Nagaraja HN, Matkovic V, Landoll J, Hoyle C, et al. Orthopedic outcomes of long-term daily corticosteroid treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2007;68(19):1607–13.
46. McDonald DGM, Kinali M, Gallagher AC, Mercuri E, Muntoni F, Roper H, et al. Fracture prevalence in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*. 2002;44(10):695–8.
47. Ma J, McMillan HJ, Karagüzel G, Goodin C, Wasson J, Matzinger MA, et al. The time to and determinants of first fractures in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Osteoporos Int*. 2017;28(2):597–608.
48. Crabtree NJ, Adams JE, Padidela R, Shaw NJ, Högler W, Roper H, et al. Growth, bone health & ambulatory status of boys with DMD treated with daily vs. intermittent oral glucocorticoid regimen. *Bone [Internet]*. 2018;116:181–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.07.019>
49. Singh A, Schaeffer EK, Reilly CW. Vertebral Fractures in Duchenne Muscular Dystrophy Patients Managed with Deflazacort. *J Pediatr Orthop*. 2018;38(6):320–4.
50. Ward LM, Konji VN, Ma J. The management of osteoporosis in children. *Osteoporos*

Int. 2016;27(7):2147–79.

51. Matsumoto M, Awano H, Lee T, Takeshima Y, Matsuo M, Iijima K. Patients with Duchenne muscular dystrophy are significantly shorter than those with Becker muscular dystrophy, with the higher incidence of short stature in Dp71 mutated subgroup. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2017;27(11):1023–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2017.06.007>
52. Escolar DM, Hache LP, Clemens PR, Cnaan A, McDonald CM, Viswanathan V, et al. Randomized, blinded trial of weekend vs daily prednisone in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2011;77(5):444–52.
53. Rutter MM, Collins J, Rose SR, Woo JG, Sucharew H, Sawnani H, et al. Growth hormone treatment in boys with Duchenne muscular dystrophy and glucocorticoid-induced growth failure. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2012;22(12):1046–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2012.07.009>
54. Zatz M, Rapaport D, Vainzof M, Rocha JML, De Cassia Pavanello MR, Colletto GMDD, et al. Relation between height and clinical course in Duchenne muscular dystrophy. *Am J Med Genet*. 1988;29(2):405–10.
55. Merlini L, Gennari M, Malaspina E, Cecconi I, Armaroli A, Gnudi S, et al. Early corticosteroid treatment in 4 duchenne muscular dystrophy patients: 14-year follow-up. *Muscle and Nerve*. 2012;45(6):796–802.
56. Dooley JM, Bobbitt SA, Cummings EA. The impact of deflazacort on puberty in duchenne muscular dystrophy. *Pediatr Neurol* [Internet]. 2013;49(4):292–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2013.05.004>
57. Guglieri M, Bushby K. Molecular treatments in Duchenne muscular dystrophy. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. 2010;10(3):331–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2010.03.005>
58. Bello L, Pegoraro E. Genetic diagnosis as a tool for personalized treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*. 2016;35(3):122–7.
59. Verhaart IEC, Aartsma-Rus A. Therapeutic developments for Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2019;15(7):373–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41582-019-0203-3>
60. Drachman DB, Toyka K V., Myer E. Prednisone in Duchenne Muscular Dystrophy.

- Lancet. 1974;304(7894):1409–12.
61. Hammers DW, Sleeper MM, Forbes SC, Coker CC, Jirousek MR, Zimmer M, et al. Disease-modifying effects of orally bioavailable NF- κ B inhibitors in dystrophin-deficient muscle. *JCI Insight*. 2016;1(21):1–14.
 62. Rosenberg AS, Puig M, Nagaraju K, Hoffman EP, Villalta SA, Rao VA, et al. Immune-mediated pathology in Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med*. 2015;7(299):1–12.
 63. Shin J, Tajrishi MM, Ogura Y KA. Wasting mechanisms in muscular dystrophy. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013;45:2266–79.
 64. Acharyya S, Baldwin AS, Guttridge DC, Acharyya S, Villalta SA, Bakkar N, et al. Interplay of IKK / NF- κ B signaling in macrophages and myofibers promotes muscle degeneration in Duchenne muscular dystrophy Find the latest version : Interplay of IKK / NF- κ B signaling in macrophages and myofibers promotes muscle degeneration in Duche. 2007;117(4):889–901.
 65. Hong Li, Shweta Malhotra and AK. Nuclear Factor-kappa B Signaling in Skeletal Muscle Atrophy. *J Mol Med*. 2008;86(10):1113–26.
 66. Peterson JM, Bakkar N, Guttridge DC. NF- κ B signaling in skeletal muscle health and disease [Internet]. 1st ed. Vol. 96, *Current Topics in Developmental Biology*. Elsevier Inc.; 2011. 85–119 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385940-2.00004-8>
 67. Chen YW, Nagaraju K, Bakay M, McIntyre O, Rawat R, Shi R, et al. Early onset of inflammation and later involvement of TGF β in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2005;65(6):826–34.
 68. Moxley RT, Ashwal S, Pandya S, Connolly A, Florence J, Mathews K, et al. Practice parameter: Corticosteroid treatment of Duchenne dystrophy - Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Contin Lifelong Learn Neurol*. 2006;12(3):188–95.
 69. Matthews E, Brassington R, Kuntzer T, Jichi F, Ay M. Corticosteroids for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (Review) SUMMARY OF FINDINGS FOR THE MAIN COMPARISON. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;(5).

70. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Randomized, double-blind six-month trial of prednisone in Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* [Internet]. 1994;330(23):1639–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7993409>
71. Griggs RC, Moxley RT, Mendell JR, Fenichel GM, Brooke MH, Pestronk A, et al. Prednisone in Duchenne Dystrophy: A Randomized, Controlled Trial Defining the Time Course and Dose Response. *Arch Neurol*. 1991;48(4):383–8.
72. Mesa LE, Dubrovsky AL, Corderi J, Marco P, Flores D. Steroids in duchenne muscular dystrophy - Deflazacort trial. *Neuromuscul Disord*. 1991;1(4):261–6.
73. Biggar WD, Gingras M, Fehlings DL, Harris VA, Steele CA. Deflazacort treatment of Duchenne muscular dystrophy. *J Pediatr*. 2001;138(1):45–50.
74. Schara U, Mortier J, Mortier W. Long-Term Steroid Therapy in Duchenne Muscular Dystrophy - Positive Results versus Side Effects. Vol. 2, *Journal of Clinical Neuromuscular Disease*. 2001. p. 179–83.
75. Kinali M, Main M, Eliahoo J, Messina S, Knight RK, Lehovsky J, et al. Predictive factors for the development of scoliosis in Duchenne muscular dystrophy. *Eur J Paediatr Neurol*. 2007;11(3):160–6.
76. Koeks Z, Bladen CL, Salgado D, Van Zwet E, Pogoryelova O, McMacken G, et al. Clinical Outcomes in Duchenne Muscular Dystrophy: A Study of 5345 Patients from the TREAT-NMD DMD Global Database. *J Neuromuscul Dis*. 2017;4(4):293–306.
77. Griggs RC, Miller JP, Greenberg CR, Fehlings DL, Pestronk A, Mendell JR, et al. Efficacy and safety of deflazacort vs prednisone and placebo for Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2016;87(20):2123–31.
78. Bello L, Gordish-Dressman H, Morgenroth LP, Henricson EK, Duong T, Hoffman EP, et al. Prednisone/prednisolone and deflazacort regimens in the CINRG Duchenne Natural History Study. *Neurology*. 2015;85(12):1048–55.
79. Florence JM, Clemens PR, Eric P, Mcdonald CM. the Cooperative International Neuromuscular Research Group Duchenne Natural History Study : Glucocorticoid Treatment Preserves Clinically. 2014;48(1):55–67.
80. Bach JR, Martinez D, Saulat B. Duchenne muscular dystrophy: The effect of glucocorticoids on ventilator use and ambulation. *Am J Phys Med Rehabil*.

- 2010;89(8):620–4.
81. Gloss D, Moxley RT, Ashwal S, Oskoui M. Practice guideline update summary: Corticosteroid treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2016;86(5):465–72.
 82. Marden JR, Freimark J, Yao Z, Signorovitch J, Tian C, Wong BL. Real-world outcomes of long-term prednisone and deflazacort use in patients with Duchenne muscular dystrophy: experience at a single, large care center. *J Comp Eff Res*. 2020;
 83. Connolly AM, Florence JM, Zaidman CM, Golumbek PT, Mendell JR, Flanigan KM, et al. Clinical trial readiness in non-ambulatory boys and men with duchenne muscular dystrophy: MDA–DMD network follow-up. *Muscle and Nerve*. 2016;54(4):681–9.
 84. Connolly AM, Malkus EC, Mendell JR, Flanigan KM, Miller JP, Schierbecker JR et al. Outcome reliability in non-ambulatory boys/men with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 2015;51:522–32.
 85. Ward LM, Hadjiyannakis S, McMillan HJ, Noritz G WD. Bone health and osteoporosis management of the patient with Duchenne muscular dystrophy. *Pediatrics*. 142(October):S34–S42.
 86. McAdam LC, Rastogi A, MacLeod K, Douglas Biggar W. Fat Embolism Syndrome following minor trauma in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2012;22(12):1035–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2012.07.010>
 87. Weber DR, Hadjiyannakis S, McMillan HJ, Noritz G, Ward LM. Obesity and endocrine management of the patient with Duchenne muscular dystrophy. *Pediatrics*. 2018;142(October 2018):S43–52.
 88. Guglieri M, Bushby K, Mcdermott MP, Hart KA, Tawil R, Martens WB, et al. Developing Standardized Corticosteroid Treatment for Duchenne Muscular Dystrophy. *ontemp Clin Trials*. 2018;58:34–9.
 89. Crow RA, Hart KA, McDermott MP, Tawil R, Martens WB, Herr BE, et al. A checklist for clinical trials in rare disease: Obstacles and anticipatory actions-lessons learned from the FOR-DMD trial. *Trials*. 2018;19(1):1–9.
 90. Connolly AM, Schierbecker J, Renna R, Florence J. High dose weekly oral prednisone improves strength in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*.

2002;12(10):917–25.

91. Connolly AM, Zaidman CM, Golumbek PT, Craddock MM, Flanigan KM, Kuntz NL, et al. Twice-weekly glucocorticosteroids in infants and young boys with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle and Nerve*. 2019;59(6):650–7.
92. Griggs RC, Herr BE, Reha A, Elfring G, Atkinson L, Cwik V, et al. Corticosteroids in Duchenne muscular dystrophy: Major variations in practice. *Muscle and Nerve*. 2013;48(1):27–31.
93. Finanger E, Vandenborne K, Finkel RS, Lee Sweeney H, Tennekoon G, Yum S, et al. Phase 1 study of edasalonexent (CAT-1004), an oral NF- κ B inhibitor, in pediatric patients with duchenne muscular dystrophy. *J Neuromuscul Dis*. 2019;6(1):43–54.
94. Vu CB, Bemis JE, Benson E, Bista P, Carney D, Fahrner R, et al. Synthesis and Characterization of Fatty Acid Conjugates of Niacin and Salicylic Acid. *J Med Chem*. 2016;59(3):1217–31.
95. Yin MJ, Yamamoto Y, Gaynor RB. The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I κ B kinase- β . *Nature*. 1998;396(6706):77–80.
96. Kopp E, Ghosh S. Inhibition of NF- κ B by sodium salicylate and aspirin. *Science* (80-). 1994;265(5174):956–9.
97. Cai D, Frantz JD, Tawa NE, Melendez PA, Oh BC, Lidov HGW, et al. IKK β /NF- κ B activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell*. 2004;119(2):285–98.
98. Williams-Bey Y, Boularan C, Vural A, Huang NN, Hwang IY, Shan-Shi C, et al. Omega-3 free fatty acids suppress macrophage inflammasome activation by inhibiting NF- κ B activation and enhancing autophagy. *PLoS One*. 2014;9(6):1–8.
99. Zwart SR, Pierson D, Mehta S, Gonda S, Smith SM. Capacity of omega-3 fatty acids or eicosapentaenoic acid to counteract weightlessness-induced bone loss by inhibiting NF- κ B activation: From cells to bed rest to astronauts. *J Bone Miner Res*. 2010;25(5):1049–57.
100. Donovan JM, Zimmer M, Offman E, Grant T, Jirousek M. A Novel NF- κ B Inhibitor, Edasalonexent (CAT-1004), in Development as a Disease-Modifying Treatment for Patients With Duchenne Muscular Dystrophy: Phase 1 Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics in Adult Subjects. *J Clin Pharmacol*. 2017;57(5):627–39.
101. Kinali M, Arechavala-Gomez V, Feng L, Cirak S, Hunt D, Adkin C, et al. Local

- restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study. *Lancet Neurol* [Internet]. 2009;8(10):918–28. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70211-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70211-X)
102. 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. 1989;45(4):498–506.
 103. Bello L, Morgenroth LP, Gordish-Dressman H, Hoffman EP, McDonald CM, Cirak S. DMD genotypes and loss of ambulation in the CINRG Duchenne Natural History Study. *Neurology*. 2016;87(4):401–9.
 104. Ricotti V, Ridout DA, Pane M, Main M, Mayhew A, Mercuri E, et al. The NorthStar Ambulatory Assessment in Duchenne muscular dystrophy: Considerations for the design of clinical trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87(2):149–55.
 105. Matsumura K, Tomé FMS, Collin H, Leturcq F, Jeanpierre M, Kaplan JC, et al. Expression of dystrophin-associated proteins in dystrophin-positive muscle fibers (revertants) in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. 1994;4(2):115–20.
 106. García-Pelagio KP, Bloch RJ, Ortega A G-SH. Biomechanics of the sarcolemma and costameres in single skeletal muscle fibers from normal and dystrophin-null mice K. *J Muscle Res Cell Motil*. 2011;31:323–36.
 107. Takeda S, Miyagoe-Suzuki Y, Mori-Yoshimura M. Translational research in muscular dystrophy. *Transl Res Muscular Dystrophy*. 2016;1–199.
 108. Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z, Roush K, Bird L, Lowes LP, et al. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol*. 2013;74(5):637–47.
 109. Rinaldi C, Wood MJA. Antisense oligonucleotides: The next frontier for treatment of neurological disorders. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2018;14(1):9–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2017.148>
 110. Evers MM, Toonen LJA, van Roon-Mom WMC. Antisense oligonucleotides in therapy for neurodegenerative disorders. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2015;87:90–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2015.03.008>
 111. Summerton J WD. Morpholino antisense oligomers: design, preparation, and

- properties. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 1997;7:187–95.
112. Matsuo M, Masumura T, Nishio H, Nakajima T, Kitoh Y, Takumi T, et al. Exon skipping during splicing of dystrophin mRNA precursor due to an intraexon deletion in the dystrophin gene of Duchenne muscular dystrophy Kobe. *J Clin Invest.* 1991;87(6):2127–31.
 113. Matsuo M, Masumura T, Nakajima T, Kitoh Y, Takumi T, Nishio H, et al. A very small frame-shifting deletion within exon 19 of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;170(2):963–7.
 114. Matsuo M. Duchenne/Becker muscular dystrophy: From molecular diagnosis to gene therapy. *Brain Dev.* 1996;18(3):167–72.
 115. Aartsma-Rus A, Fokkema I, Verschuuren J, Ginjaar I, Van Deutekom J, Van Ommen GJ, et al. Theoretic applicability of antisense-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations. *Hum Mutat.* 2009;30(3):293–9.
 116. van Deutekom JC, de Kimpe SJ, Campion G V. Antisense oligonucleotides as personalized medicine for Duchenne muscular dystrophy. *Drug Discov Today Ther Strateg* [Internet]. 2013;10(3):e149–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ddstr.2013.04.001>
 117. Mann CJ, Honeyman K, Cheng AJ, Ly T, Lloyd F, Fletcher S, et al. Antisense-induced exon skipping and synthesis of dystrophin in the mdx mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(1):42–7.
 118. Wu B, Lu P, Cloer C, Shaban M, Grewal S, Milazi S, et al. Long-term rescue of dystrophin expression and improvement in muscle pathology and function in dystrophic mdx mice by peptide-conjugated morpholino. *Am J Pathol.* 2012;181(2):392–400.
 119. Mendell JR, Goemans N, Lowes LP, Alfano LN, Berry K, Shao J, et al. Longitudinal effect of eteplirsen versus historical control on ambulation in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol.* 2016;79(2):257–71.
 120. Voit T, Topaloglu H, Straub V, Muntoni F, Deconinck N, Campion G, 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* [Internet]. 2014;13(10):987–96. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70195-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70195-4)

121. Goemans N, Mercuri E, Belousova E, Komaki H, Dubrovsky A, McDonald CM, et al. A randomized placebo-controlled phase 3 trial of an antisense oligonucleotide, drisapersen, in duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(1):4–15.
122. Kesselheim AS, Avorn J. Approving a problematic muscular dystrophy drug: Implications for FDA policy. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;316(22):2357–8.
123. Mendell JR, Sahenk Z, Rodino-Klapac LR. Clinical trials of exon skipping in Duchenne muscular dystrophy. *Expert Opin Orphan Drugs.* 2017;5(9):683–90.
124. Charleston JS, Schnell FJ, Dworzak J, Donoghue C, Lewis S, Chen L, et al. Eteplirsen treatment for Duchenne muscular dystrophy. *Neurology.* 2018;90(24):e2135–45.
125. Alfano LN, Charleston JS, Connolly AM, Cripe L, Donoghue C, Dracker R, et al. Long-term treatment with eteplirsen in nonambulatory patients with Duchenne muscular dystrophy. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(26):e15858.
126. Khan N, Eliopoulos H, Han L, Kinane TB, Lowes LP, Mendell JR, et al. Eteplirsen treatment attenuates respiratory decline in ambulatory and non-ambulatory patients with duchenne muscular dystrophy. *J Neuromuscul Dis.* 2019;6(2):213–25.
127. Rodrigues M, Yokota T. An Overview of Recent Advances and Clinical Applications Dystrophy and Various Genetic Diseases. *Methods Mol Biol.* 2018;1828.
128. Wood M, Zhang J, Bowman K, Butler D, Rinaldi C, McClorey G, et al. WVE-210201, an investigational stereopure oligonucleotide therapy for Duchenne muscular dystrophy, induces Exon 51 skipping and dystrophin protein restoration. *Neuromuscul Disord.* 2017;27(2017):S217.
129. Panzara M, Zhang J, Rinaldi C, McClorey G, Bowman K, Butler D, et al. Preclinical studies of WVE-210201, an investigational stereopure antisense oligonucleotide in development for the treatment of patients with duchenne muscular dystrophy (DMD). *J Neurol Sci.* 2017;381(2017):277–8.
130. Komaki H, Nagata T, Saito T, Masuda S, Takeshita E, Sasaki M, et al. Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-065/NCNP-01 for skipping of exon 53 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med.* 2018;10(437).
131. Aartsma-Rus A, Corey DR. The 10th Oligonucleotide Therapy Approved: Golodirsen for Duchenne Muscular Dystrophy. *Nucleic Acid Ther.* 2020;00(00):1–4.
132. Bushby K, Finkel R, Wong B, Barohn R, Campbell C, Comi GP, et al. Ataluren

- treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle and Nerve*. 2014;50(4):477–87.
133. McDonald CM, Campbell C, Torricelli RE, Finkel RS, Flanigan KM, Goemans N, et al. Ataluren in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy (ACT DMD): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;390(10101):1489–98.
 134. Korinthenberg R. A new era in the management of Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*. 2019;61(3):292–7.
 135. Haas M, Vlcek V, Balabanov P, Salmonson T, Bakchine S, Markey G, et al. European medicines agency review of ataluren for the treatment of ambulant patients aged 5 years and older with Duchenne muscular dystrophy resulting from a nonsense mutation in the dystrophin gene. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2015;25(1):5–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2014.11.011>
 136. Ramos JN, Hollinger K, Bengtsson NE, Allen JM, Hauschka SD, Chamberlain JS. Development of Novel Micro-dystrophins with Enhanced Functionality. *Mol Ther* [Internet]. 2019;27(3):623–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.01.002>
 137. Duan D. Systemic AAV Micro-dystrophin Gene Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy. *Mol Ther* [Internet]. 2018;26(10):2337–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.07.011>
 138. Salmaninejad A, Abarghan YJ, Qomi SB, Yousefi M, Azhdari S, Talebi S, et al. Common therapeutic advances for Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Int J Neurosci* [Internet]. 2020;0(0):1–20. Available from: <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1740218>
 139. Lim KRQ, Nguyen Q, Dzierlega K, Huang Y, Yokota T. CRISPR-Generated Animal Models of Duchenne Muscular Dystrophy. 2020;(March):1–14.
 140. Sumanaru D, Josseran L, Essid A, Mbieleu B, Haegy I, Bergounioux J. Levosimendan as Rescue Therapy for Acute Heart Failure in a Patient with Duchenne Muscular Dystrophy. *Pediatr Cardiol* [Internet]. 2019;40(3):668–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00246-019-02072-9>
 141. Bernabe-García M, Rodríguez-Cruz M, Atilano S, Cruz-Guzmán O del R, Almeida-Becerril T, Calder PC, et al. Body composition and body mass index in Duchenne

- muscular dystrophy: Role of dietary intake. *Muscle and Nerve*. 2019;59(3):295–302.
142. Hasenfuss G, Pieske B, Castell M, Kretschmann B, Maier LS, Just H. Influence of the novel inotropic agent levosimendan on isometric tension and calcium cycling in failing human myocardium. *Circulation*. 1998;98(20):2141–7.
143. Alfirevic Z. Procedure-Related Complications of Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling. *Obstet Gynecol*. 2007;110(6):1426.
144. Allyse M, Minear MA, Berson E, Sridhar S, Rote M, Hung A, et al. Non-invasive prenatal testing: A review of international implementation and challenges. *Int J Womens Health*. 2015;7:113–26.
145. Chen M, Chen C, Huang X, Sun J, Jiang L, Li Y, et al. Noninvasive Prenatal Diagnosis for Duchenne Muscular Dystrophy Based on the Direct Haplotype Phasing. *Prenat Diagn*. 2020;
146. Voelker R. News from the food and drug administration. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2018;320(1):23.
147. European Medicines Agency. Translarna.; [Internet] [pristupljeno 16.03.2020.]
Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/translarna>

ŽIVOTOPIS

Rođena sam 21.11.1994. u Zagrebu. Završila sam Osnovnu školu u Velikoj Mlaci i maturirala sam 2013. godine u Prvoj gimnaziji u Zagrebu. Tijekom školovanja sudjelovala sam na natjecanjima iz matematike, biologije, kemije i engleskog jezika. 2013. godine upisala sam i Medicinski fakultet u Zagrebu. Tijekom svog fakultetskog obrazovanja napisala sam nekoliko članaka za Medicinar, studentski časopis Medicinskog fakulteta. Područja mog interesa su pedijatrija, neurologija, onkologija i obiteljska medicina.