

Duchenne Musküler Distrofili Çocuklarda Genotip-Fenotip İlişkisi: Tek Merkez Deneyimi

The Genotype-Phenotype Correlation in Children with Duchenne Muscular Dystrophy: Single Center Experience

Gonca BEKTAŞ¹, Gamze BAŞKENT², Melis ULAK ÖZKAN³, Edibe PEMBEGÜL YILDIZ³,
Nur AYDINLI³, Mine ÇALIŞKAN³, Meral ÖZMEN³

¹ Bakırköy Dr Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Çocuk Nöroloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

³ İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye



ÖZ

Amaç: Duchenne musküler distrofi (DMD), distrofin genindeki mutasyonların neden olduğu ilerleyici kas güçsüzlüğü ile seyreden bir hastalıktır. Bu çalışmada, DMD tanılı çocuklarda distrofin genindeki farklı mutasyonlar ile motor fonksiyonlar arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Ocak 2016 ile Ocak 2018 tarihleri arasında DMD tanısı ile takip edilen, yürüyebilen ve ek hastalığı olmayan çocuklar çalışmaya dahil edildi. Demografik veriler, genetik mutasyon sonuçları, steroid kullanım süreleri ve 6 dakika yürüme testi sonuçları kaydedildi. Çocuklar distrofin genindeki mutasyona göre delesyon, duplikasyon ve nokta mutasyona sahip olanlar olarak 3 gruba ayrıldı. Üç grup arasında 6 dakika yürüme testi sonuçları karşılaştırıldı.

Bulgular: DMD tanılı 33 erkek hasta çalışmaya dahil edildi, ortalama yaşları 6.7 ± 2 yıld (4-11 yıl). Yirmi iki hastada (%67) delesyon, 6 hastada (%18) duplikasyon, 5 hastada (%15) nokta mutasyon mevcuttu. Steroid tedavisi alan 18 hastanın ortalama steroid kullanma süresi 1.6 ± 0.8 yıld (0.5-3 yıl). Üç grup arasında yaş ve steroid kullanım süreleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Distrofin geninde delesyon, duplikasyon ve nokta mutasyon saptananların ortalama 6 dakika yürüme mesafesi sırasıyla 324 ± 51 metre (220-427 metre), 326 ± 77 metre (264-440 metre) ve 285 ± 38 metreydi (250-326 metre). Altı dakika yürüme testi açısından nokta mutasyon saptanan hastalarda delesyon ve duplikasyon saptanan hastalara göre yürüme mesafesi daha kısa olmakla birlikte istatistiksel olarak 3 grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Sonuç: DMD tanılı çocuklarda distrofin genindeki mutasyonun tipi ile klinik gidiş arasında anlamlı ilişki bulunmamaktadır. Hastalığın ilerleme hızı benzer mutasyon tiplerinde dahi bireysel farklılıklar gösterebilmektedir.

Anahtar Sözcükler: Çocuk, Distrofi, Gen

ABSTRACT

Objective: Duchenne muscular dystrophy (DMD) is characterized by progressive muscle weakness caused by mutations in the dystrophin gene. In this study, we aimed to investigate the relationship between different mutations in the dystrophin gene and motor functions in children with DMD.



BEKTAŞ G
BAŞKENT B
ULAK ÖZKAN M
PEMBEGÜL YILDIZ E
AYDINLI N
ÇALIŞKAN M
ÖZMEN M

: 0000-0002-6725-3964
: 0000-0003-3473-2210
: 0000-0002-8226-3941
: 0000-0002-8016-0404
: 0000-0003-0492-3411
: 0000-0002-6869-3937
: 0000-0003-4316-1499

Çıkar Çatışması / Conflict of Interest: Tüm yazarlar adına, sorumlu yazar çıkar çatışması olmadığını belirtir.

Etik Kurul Onayı / Ethics Committee Approval: Bu çalışmada ulusal ve uluslararası etik kurallara uyulmuştur. Çalışma protokolü, İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Yazarların katkısı / Contribution of the Authors: **BEKTAŞ G:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Sonuçlara ulaşmak için planlama/metodoloji belirleme, Araştırma/çalışmanın sorumluluğunu üstlenmek, ilerlemenin seyrini denetlemek, Hasta takibinde sorumluluk almak, ilgili biyolojik malzemelerin toplanması, veri yönetimi ve raporlama, deneylerin yürütülmesi, Sonuçların mantıksal olarak yorumlanması ve sonuçlandırılması, Çalışma için gerekli literatür taramasında sorumluluk almak, Çalışmanın bütününe veya önemli bölümlerinin yazımında sorumluluk almak, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme. **BAŞKENT G:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Sonuçların mantıksal olarak yorumlanması ve sonuçlandırılması, Çalışmanın bütününe veya önemli bölümlerinin yazımında sorumluluk almak, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme. **ULAK ÖZKAN M:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme. **PEMBEGÜL YILDIZ E:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Sonuçların mantıksal olarak yorumlanması ve sonuçlandırılması, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme. **AYDINLI N:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Sonuçlara ulaşmak için planlama/metodoloji belirleme, Sonuçların mantıksal olarak yorumlanması ve sonuçlandırılması, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme. **ÇALIŞKAN M:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Sonuçların mantıksal olarak yorumlanması ve sonuçlandırılması, Çalışma için gerekli literatür taramasında sorumluluk almak, Çalışmanın bütününe veya önemli bölümlerinin yazımında sorumluluk almak, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme. **ÖZMEN M:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturan, Araştırma/çalışmanın sorumluluğunu üstlenmek, ilerlemenin seyrini denetlemek, Yazım ve dilbilgisi dışında bilimsel olarak gönderilmeden önce makaleyi gözden geçirme.

Afif yazım şekli / How to cite: Bektaş G, Başkent G, Ulak Özkan M, Pembegül Yıldız E, Aydınli N, Çalışkan M, Özmen M. Duchenne Musküler Distrofili Çocuklarda Genotip-Fenotip İlişkisi: Tek Merkez Deneyimi. Türkiye Çocuk Hast Derg 2020;14:518-521.

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

Gonca BEKTAŞ
Bakırköy Dr Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Çocuk Nöroloji Bölümü, İstanbul, Türkiye
E-posta: goncabektas@gmail.com

Geliş tarihi / Received : 22.05.2019

Kabul tarihi / Accepted : 04.11.2019

Elektronik yayın tarihi : 24.03.2020

Online published

DOI: 10.12956/tchd.568736

Material and Methods: Children with DMD followed-up between January 2016 and January 2018 were evaluated. Demographic data, genetic mutations, duration of steroid treatment and 6-minute walk test results were recorded. The children were divided into three groups according to the mutation in the dystrophin gene as deletion, duplication and point mutation. The 6-minute walk test results were compared between the three groups.

Results: Thirty-three male patients with DMD at a mean age of 6.7 ± 2 years (4-11 years) were included in the study. Twenty-two patients (67%) had deletion, 6 patients (18%) had duplication and 5 patients (15%) had point mutations. The mean duration of steroid treatment was 1.6 ± 0.8 years (0.5 to 3 years) in 18 patients receiving steroid treatment. There were no significant differences between the three groups in terms of age and steroid use ($p > 0.05$). The mean 6-minute walk test result was 324 ± 51 meters (220-427 meters), 326 ± 77 meters (264-440 meters) and 285 ± 38 meters (250-326 meters) in children with deletion, duplication and point mutation of the dystrophin gene, respectively. Although the walking distance in 6-minute walk test was shorter in children with point mutation compared to the children with deletion and duplication, there was no statistically significant difference observed between the 3 groups ($p > 0.05$).

Conclusion: There is no significant relationship between the type of mutation in the dystrophin gene and clinical course in children with DMD. The progression rate of the DMD may show a difference.

Key Words: Child, Dystrophy, Gene

GİRİŞ

Duchenne musküler ditrofi (DMD) çocukluk çağıında en sık görülen musküler distrofidir. X'e bağlı resesif olarak geçiş gösteren distrofin gen mutasyonu sonucunda gelişir, sıklığı 1/3500-5000 canlı erkek doğumdur. Erken çocukluk döneminde başlayan semptomlar ilerleyici seyrederek ikinci dekatta bağımsız yürümenin kaybına yol açar (1).

Son yıllarda, DMD hastalığında belirli mutasyon tipleri için hastalık seyrini iyileştirici etkisi gösterilmiş tedavilerin ortaya çıkması, tedavi etkinliğini değerlendirmede farklı mutasyon tipleri için doğal klinik seyrin tanımlanmasını önemli hale getirmiştir (2, 3).

Çalışmamızda, yürüyebilen DMD tanılı çocuklarda mutasyon tipi ile motor fonksiyonlar arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çocuk Nörolojisi Polikliniğinde Ocak 2016 ile Ocak 2018 tarihleri arasında DMD tanısı ile takip edilen çocukların retrospektif olarak değerlendirildiği tek merkezli bir çalışmadır.

Distrofin geninde hastalığa neden olan mutasyon saptanan, fenotipi DMD ile uyumlu, 4 yaşından büyük, yürüyebilen ve basit komutları yerine getirebilen çocuklar çalışmaya dahil edildi. Ek hastalığı olan ve steroid dışında ilaç kullanımı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma protokolü, İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Tüm katılımcılar çalışmaya katılmayı kabul etti ve katılımcıların yasal velisinden yazılı bilgilendirilmiş onam alındı.

Hastaların demografik verileri, distrofin genindeki mutasyonunun tipi, steroid kullanım süreleri, kardiyolojik değerlendirmeleri, ekokardiyografi ve 6 dakika yürüme testi sonuçları kaydedildi. Çocuklar distrofin genindeki mutasyona göre delesyon, duplikasyon ve nokta mutasyona sahip olanlar olarak 3 gruba ayrıldı. Mutasyonun bulunduğu yere göre distrofin geninin 5' ucundaki mutasyonlar (ekzon 44'den yukarı) proksimal, DMD

geninin 3' ucundaki mutasyonlar (ekzon 44'den aşağı) distal mutasyonlar olarak sınıflandırıldı (4).

Altı dakika yürüme testi yürüyebilen DMD tanılı hastalarda motor fonksiyonun ve dayanıklılığın değerlendirilmesinde geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış bir testtir (5-7). McDonald ve ark. (5) tarafından tanımlanan standart prosedürlere uygun olarak 6 dakika boyunca yürünen mesafe metre olarak kaydedilir. Altı dakika yürüme testi sonuçları DMD klinik seyriyle ilişkilendirilmiştir (6).

İstatistiksel analiz

Tüm istatistiksel analizlerde SPSS for Windows sürüm 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığını belirlemek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Nicel değişkenlerin değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi, nitel değişkenlerin değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen DMD tanılı 33 erkek hastanın yaş ortalaması 6.7 ± 2 yıldır (4-11 yıl). Hastaların tanı alma yaşı ortalama 4.2 ± 2.2 yıldır (1-8 yıl). Yirmi beş hastada (%76) erken çocukluk döneminde motor gelişimde gecikme mevcuttu. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar yardımsız yürüyebiliyordu.

Altı dakika yürüme testi sırasında 15 hasta steroid tedavisi almıyordu. Tedavi alan 18 hastanın ortalama steroid kullanma süresi 1.6 ± 0.8 yıldır (0.5-3 yıl).

Yirmi iki hastada (%67) delesyon, 6 hastada (%18) duplikasyon, 5 hastada (%15) nokta mutasyon mevcuttu. Delesyona uğrayan ekzon sayısı açısından 4 hastada (%12) tek ekzonda, 4 hastada (%12) 2 ekzonda, 4 hastada (%12) 6 ekzonda, 3 hastada (%11) 3 ekzonda, 3 hastada (%11) 5 ekzonda delesyon mevcuttu. Birer hastada (%3) ise 4, 8, 10 ve 19 ekzonu içeren delesyon saptandı. Tek ekzon delesyonu saptanan 2 hastada ekzon 45, bir hastada ekzon 43 ve 1 hastada ekzon 48 delesyonu mevcuttu. En büyük delesyon saptanan hastada 3-19 arasındaki ekzonlar

Tablo I: Duchenne musküler distrofi tanılı hastaların genetik mutasyon tipine göre demografik ve klinik verileri.

	Delesyon	Duplikasyon	Nokta mutasyon	p
n (%)	22 (67)	6 (18)	5 (15)	
Yaş ortalaması (yıl), aralık	6.8 ± 1.9 (4.5-10.5)	7.2 ± 1.6 (4.5-9)	6 ± 2.9 (4-11)	0.500
Steroid kullanan hastalar, n (%)	12 (55)	4 (67)	2 (40)	0.680
Steroid kullanım süresi (yıl) aralık	1.8 ± 0.8(0.5-3)	1.1 ± 0.6(0.5-2)	0.8 ± 0.4(0.5-1)	0.480
Altı dakika yürüme testi (metre), aralık	324 ± 51 (220-427)	326 ± 77(264-440)	285 ± 38 (250-326)	0.270

ile 43-44 ekzonunda delesyon mevcuttu.

Toplamda 20 hastada (%60) 6 veya daha az ekzonu içeren delesyon mevcuttu, 2 hastada (%6) ise 10 ve üzerinde ekzonu içeren delesyon saptandı. Tek ekzon delesyonu ekzon 45 (n=2), ekzon 48 (n=1) ve ekzon 43'te (n=1) saptandı. Tüm delesyonlarda en sık etkilenen ekzon, ekzon 50 (n=11)'di, sonrasında sıklık sırasına göre ekzon 49 (n=10), 48 (n=10) ve 47 (n=7) delesyonu saptandı. Çoklu ekzon delesyonu olan hastalarda en sık 45-50 delesyonlarını içeren 6 ekzonda delesyon (n=3) ve 48-50 delesyonlarını içeren 3 ekzonda delesyon saptandı. Delesyon saptanan hastalardan 17 hastada (%77) distal mutasyon, 4 hastada (%18) proksimal mutasyon, 1 hastada (%5) ise proksimal-distal mutasyon saptandı.

Duplikasyon saptanan 6 hastada en sık ekzon 5-6 (n=3), 8-11 (n=2), 12-13 (n=2) ve 45'i (n=2) içeren duplikasyonlar saptandı. Tek ekzon duplikasyonu 1 hastada (%3) saptandı. Dört hastada (%12) 6'dan az sayıda ekzonu içeren duplikasyon, 1 hastada (%3) ise 17 ekzonu içeren duplikasyon mevcuttu. Dört hastada (%67) proksimal, 2 hastada (%33) distal duplikasyon saptandı.

Nokta mutasyonu saptanan hastaların tümünde nonsense mutasyon mevcuttu. Tüm DMD tanılı hastalarda nonsense mutasyonunun sıklığı %15 olarak saptandı. Delesyon, duplikasyon ve nokta mutasyonu olan hastalar arasında test anındaki yaş ortalaması sırasıyla 6.8 ± 1.9 yıl (4.5-10.5 yıl), 7.2 ± 1.6 yıl (4.5-9 yıl), 6 ± 2.9 yıld (4-11 yıl). Üç grup arasında yaş ortalaması ve steroid kullanım sıklığı ve süresi açısından anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla, p=0.5, p=0.68, p=0.48).

Tüm hastaların 6 dakika yürüme mesafesi ortalaması 322 ± 55 (220-440 metre) metreydi. Distrofin geninde delesyon saptanan hastaların ortalama 6 dakika yürüme mesafesi 324 ± 51 metre (220-427 metre), duplikasyon saptananlarda 326 ± 77 metre (264-440 metre) ve nokta mutasyonu olanlarda 285 ± 38 metreydi (250-326 metre). Altı dakika yürüme testi açısından nokta mutasyon saptanan hastalarda delesyon ve duplikasyon saptanan hastalara göre yürüme mesafesi daha kısa olmakla birlikte istatistiksel olarak 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.27) (Tablo I).

TARTIŞMA

Çalışmamızda, 4 ile 11 yaşları arasındaki DMD tanılı çocuklarda genetik mutasyon tipiyle motor fonksiyonlar arasındaki ilişki

retrospektif olarak incelendi. Distrofin geninde delesyon, duplikasyon ve nokta mutasyon saptanan hastaların motor fonksiyonları 6 dakika yürüme testiyle değerlendirildi. Altı dakika yürüme testi sonuçları delesyon ve duplikasyon saptananlarda nokta mutasyonu olanlardan daha iyiydi, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Altı dakika yürüme testinin başvuruda ve başvurudan 12 ay sonra değerlendirildiği 191 DMD tanılı çocuğu içeren bir çalışmada da benzer şekilde 3 grup arasında 6 dakika yürüme testi sonuçları açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bununla birlikte, duplikasyon ve nokta mutasyonu olan hastaların 6 dakika yürüme testi sonuçlarının delesyonu olanlardan daha iyi olduğu bildirilmiştir (8). Altı dakika yürüme testi sonuçlarındaki fark, hastalık seyriyle etkileyen boy, ağırlık değişkenlerinin ya da hastalık fenotipi ile ilişkili olduğu gösterilmiş SPP1 veya LTBP4 genotiplerinin farklılığından kaynaklanabilir (9, 10).

Çalışmaya dahil edilen DMD tanılı hastaların yarısından çoğunda (%67) distrofin geninde delesyon saptandı. DMD tanılı hastalarda yapılan çalışmalarda bir veya daha fazla ekzonda delesyon saptanma sıklığı %46-78 olarak bildirilmiştir (11-16). Çalışmamızda önceki çalışmalarla benzer şekilde en sık tek ekzon delesyonu ekzon 45'te saptanmıştır (14, 17, 18). Japonya'daki bir referans merkezinde ise en sık ekzon 52, ikinci sıklıkta ekzon 45'te tek ekzon delesyonu saptandığı bildirilmiştir (15). Tüm delesyona uğrayan ekzonlar arasında ise literatürle benzer şekilde en sık ekzon 50 delesyonu saptandı (17). Delesyonların çoğu distal (%77), az bir kısmı proksimal (%18) başlangıçlıydı. Daha geniş hasta gruplarında yapılan çalışmalarda da distal başlangıçlı delesyonların (%56-74) proksimal başlangıçlı delesyonlardan (%15-38) daha sık olduğu bildirilmiştir (11, 14).

DMD tanılı hastalarda ikinci sıklıkta (%18) distrofin geninde duplikasyon saptandı. Önceki çalışmalarda duplikasyon sıklığı %7-20 olarak saptanmıştır (11, 16, 19). En sık duplikasyona uğrayan ekzon 5-6 olarak saptandı. Önceki çalışmalarda ise en sık ekzon 2 duplikasyonu saptandığı bildirilmiştir (11, 16, 18). Bu farklılık çalışmamızdaki hasta sayısının göreceli olarak azlığından kaynaklanabilir. Duplikasyon yerleşimi ise literatürle benzer şekilde çoğunlukla proksimal daha az sıklıkta distaldeydi (11, 16).

Nokta mutasyonu üçüncü sıklıkta (%15) saptandı, nokta mutasyonu olan hastaların tümünde nonsense mutasyon mevcuttu. Nokta mutasyon sıklığı %10-34 olarak saptanmış olup bunlarında çoğunda (%50-75) nonsense mutasyon

bulunduğu bildirilmiştir (11-13,15). Çalışmamızdaki tüm DMD tanılı hastalar içinde nonsense mutasyonu olan hastaların sıklığı (%15) literatürde tanımlanan sıklıkla (%17) benzerdi (11). Nonsense mutasyonu olan hastalarda ataluren tedavisiyle erken stop kodon okunmasının engellenmesi hastalığın prognozunu iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir (2). Uygun zamanda ataluren tedavisinin planlanabilmesi açısından nonsense mutasyonu olan hastaların tanınması önemlidir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardı. Hasta sayısı göreceli olarak azdı. İkincil olarak, yaş, boy, steroid kullanım süreleri gibi değişkenlerin homojen olduğu gruplar arasında karşılaştırma yapılması daha güvenilir sonuçlar verebilirdi. Üçüncül olarak, hastalığın fenotipiyle ilişkili olduğu tanımlanan SPP1 veya LTBP4 genotipleri değerlendirmeye dahil edilebilirdi (9, 10). Son olarak, 6 dakika yürüme testinin hastalığın seyri boyunca değişiminin incelenmesi genotipin hastalığın ilerleme hızı üzerine etkisini değerlendirmek açısından yol gösterici olabilirdi.

Sonuç olarak, DMD tanılı çocuklarda distrofin genindeki mutasyonun tipi ile klinik gidiş arasında anlamlı ilişki bulunmamaktadır. Hastalığın ilerleme hızı benzer mutasyon tiplerinde dahi bireysel farklılıklar gösterebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Mah JK, Korngut L, Dykeman J, Day L, Pringsheim T, Jette N. A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2014;24:482-91.
- 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;390:1489-98.
- Shimizu-Motohashi Y, Murakami T, Kimura E, Komaki H, Watanabe N. Exon skipping for Duchenne muscular dystrophy: a systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis* 2018;13:93.
- D'Angelo MG, Lorusso ML, Civati F, Comi GP, Magri F, Del Bo R, et al. Neurocognitive profiles in Duchenne muscular dystrophy and gene mutation site. *Pediatr Neurol* 2011;45:292-9.
- McDonald CM, Henricson EK, Han JJ, Abresch RT, Nicorici A, Elfring GL, et al. The 6-minute walk test as a new outcome measure in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2010;41:500-10.
- McDonald CM, Henricson EK, Han JJ, Abresch RT, Nicorici A, Atkinson L, et al. The 6-minute walk test in Duchenne/Becker muscular dystrophy: longitudinal observations. *Muscle Nerve* 2010;42:966-74.
- McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Florence J, Eagle M, Gappmaier E, et al. The 6-minute walk test and other clinical endpoints in duchenne muscular dystrophy: reliability, concurrent validity, and minimal clinically important differences from a multicenter study. *Muscle Nerve* 2013; 48:357-68.
- Pane M, Mazzone ES, Sormani MP, Messina S, Vita GL, Fanelli L, et al. 6 Minute walk test in Duchenne MD patients with different mutations: 12 month changes. *PLoS One* 2014;9:e83400.
- Pegoraro E, Hoffman EP, Piva L, Gavassini BF, Cagnin S, Ermani M, et al. SPP1 genotype is a determinant of disease severity in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 2011;76:219-26.
- Flanigan KM, Ceco E, Lamar KM, Kaminoh Y, Dunn DM, Mendell JR, et al. LTBP4 genotype predicts age of ambulatory loss in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2013;73:481-8.
- Vieitez I, Gallano P, González-Quereda L, Borrego S, Marcos I, Millán JM, et al. Mutational spectrum of Duchenne muscular dystrophy in Spain: Study of 284 cases. *Neurologia* 2017;32:377-85.
- Cunniff C, Andrews J, Meaney FJ, Mathews KD, Matthews D, Cifaloni E, et al. Mutation analysis in a population-based cohort of boys with Duchenne or Becker muscular dystrophy. *J Child Neurol* 2009;24:425-30.
- Juan-Mateu J, Gonzalez-Quereda L, Rodriguez MJ, Baena M, Verdura E, Nascimento A, et al. DMD Mutations in 576 Dystrophinopathy Families: A Step Forward in Genotype-Phenotype Correlations. *PLoS One* 2015;10:e0135189.
- Tuffery-Giraud S, Bérout C, Leturcq F, Yaou RB, Hamroun D, Michel-Calemard L, et al. Genotype-phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD-DMD database: a model of nationwide knowledgebase. *Hum Mutat* 2009;30:934-45.
- Takehima Y, Yagi M, Okizuka Y, Awano H, Zhang Z, Yamauchi Y, et al. Mutation spectrum of the dystrophin gene in 442 Duchenne/Becker muscular dystrophy cases from one Japanese referral center. *J Hum Genet* 2010;55:379-88.
- 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;36:395-402.
- Vengalil S, Preethish-Kumar V, Polavarapu K, Mahadevappa M, Sekar D, Purushottam M, et al. Duchenne Muscular Dystrophy and Becker Muscular Dystrophy Confirmed by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification: Genotype-Phenotype Correlation in a Large Cohort. *J Clin Neurol* 2017;13:91-7.
- Yang J, Li SY, Li YQ, Cao JQ, Feng SW, Wang YY, et al. MLPA-based genotype-phenotype analysis in 1053 Chinese patients with DMD/ BMD. *BMC Med Genet* 2013;14:29.
- White SJ, Aartsma-Rus A, Flanigan KM, Weiss RB, Kneppers AL, Lalic T, et al. Duplications in the DMD gene. *Hum Mutat* 2006;27:938-45.