

# Muskeldystrophien Duchenne und Becker

## Molekulargenetische Diagnostik und genetisches Modell

Die häufigste X-chromosomal-rezessive Krankheit ist die Duchenne-Muskeldystrophie (DMD; OMIM #310200). Sie hat eine Inzidenz von  $3 \times 10^{-4}$  unter männlichen Neugeborenen. Die gutartigere Becker-Muskeldystrophie (BMD) ist allelisch mit DMD, ihre Inzidenz beträgt etwa  $5,4 \times 10^{-5}$  [5].

Mutationen im Dystrophingen (OMIM \*300377) sind die genetischen Ursachen von DMD/BMD. Den größten Teil davon machen Deletionen aus, die eines oder mehrere der insgesamt 79 Exons umfassen (etwa 65%; [4]). Bei einer kleineren Gruppe von Patienten besteht die molekulare Ursache in Duplikationen eines oder mehrerer Exons (etwa 7%; [20]). Nach Ausschluss einer Deletion oder einer Duplikation kann bei den restlichen DMD/BMD-Patienten mit einer Wahrscheinlichkeit von 93% eine Punktmutation nachgewiesen werden. Diese betreffen nur ein oder wenige Basenpaare in der kodierenden Sequenz oder an den Spleißstellen und machen etwa 26% aller Mutation aus. In der Summe bleibt die genaue Mutation bei etwa 2% aller DMD/BMD-Patienten unbekannt [3].

### Differenzialdiagnostik

Im Rahmen der Differenzialdiagnostik bei Patienten mit dem klinischen Verdacht auf DMD ist die Methode der Wahl eine Stufendiagnostik.

**Stufe 1.** Für den Nachweis von Exondeletionen und -duplikationen im Dystrophingen hat sich MLPA („multiplex ligation-dependent probe amplification“) für alle 79 Exons bewährt [12].

**Stufe 2.** Wenn eine Deletion/Duplikation im Dystrophingen ausgeschlossen wurde, sollte sich die Sequenzierung der kodierenden Bereiche und Spleißstellen zur Detektion von Punktmutationen im Dystrophingen anschließen.

Die analytische Testsensitivität beträgt für die MLPA alleine etwa 71,3% und für die vollständig Analyse (MLPA und Sequenzierung) etwa 97,3%.

Der Nachweis einer Mutation im Dystrophingen sichert die Diagnose einer Dystrophinopathie. Wenn nur ein Exon fehlt oder doppelt vorhanden ist, sollte die Diagnose durch ein zweites, unabhängiges Verfahren verifiziert werden, um technische Artefakte und seltene Sequenzvarianten, die die Primerbindung beeinflussen könnten, auszuschließen.

Der Nachweis einer Mutation macht in der Regel eine Muskelbiopsie zur Diagnosefindung überflüssig. Für sehr junge Patienten, deren klinischer Verlauf (DMD oder BMD) noch nicht feststeht, wird häufig eine prognostische Interpretation der DNA-Analyse gewünscht. Die Grundlage für die Korrelation einer Deletion im Dystrophingen mit dem (zu erwartenden) klinischen Verlauf und Schweregrad bildet die Leserasterhypothese [16].

In mehreren retrospektiven Studien (z. B. [12]) fanden sich bei DMD-Patienten in mehr als 95% der Fälle Gendeletionen, die das Leseraster verschieben („out-of-frame“- oder „frame shift“-Deletionen). Umgekehrt wurde bei mehr als 95% der BMD-Patienten das ursprüngliche Leseraster durch die Deletion nicht verändert („in-frame“-Deletionen). Die häufigste Ausnahme findet sich bei der Deletion der Exons 3–7 [15]. Auch große „in-frame“-Deletionen können nicht immer sicher einer BMD zugeordnet werden. Bei Duplikationen sind Aussagen zum Schweregrad der Krankheit in der Regel aufgrund des Leserasters nicht sicher möglich. Die Homepage des Instituts für Humangenetik der Universität Leiden stellt ein Programm zur Bestimmung des Leserasters bei Deletionen und Duplikationen im Dystrophingen zur Verfügung (*Infobox 1*). Der immunhistochemische Nachweis von Dystrophin in einer Muskelbiopsieprobe erlaubt in der Regel eine bessere Korrelation mit dem Schweregrad der Krankheit.

### Heterozygotendiagnostik

Sie dient dem Nachweis oder Ausschluss eines Konduktorinnenstatus für DMD/BMD. Heterozygote Frauen sind in der Regel klinisch unauffällig. In seltenen Fällen (unter 5%) können auch Überträgerinnen klinische Symptome zeigen, bis hin zu schwer verlaufenden Muskeler-

Heterozygote	Betroffene Jungen	
$2u + 2v$	$2u + v$	Generation N
$\frac{1}{2}$		
$u + v$	$u + v$	Vererbung
$u + v$	$u$	Neumutationen
$2u + 2v$	$2u + v$	Generation N+1

Abb. 1 ▲ Mutations-Selektions-Gleichgewicht für X-chromosomal letale Erkrankung (z. B. DMD;  $u$  Neumutationsrate bei Frauen,  $v$  Neumutationsrate bei Männern)

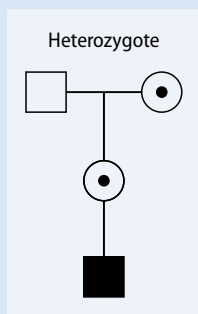


Abb. 2 ◀ Konduktorstatus der Mutter des Patienten beruht auf positivem Konduktorinnenstatus dessen Großmutter, Erläuterungen s. Text und Tab. 4

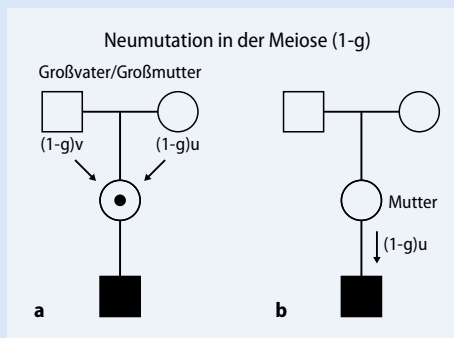


Abb. 3 ▲ a Vorliegen einer Neumutation väterlichen [(1-g)v] oder mütterlichen Ursprungs [(1-g)u] bei der Mutter (Konduktorin) des Patienten, b erstmaliges Auftreten einer Neumutation beim Patienten [(1-g)u], Erläuterungen s. Text und Tab. 4

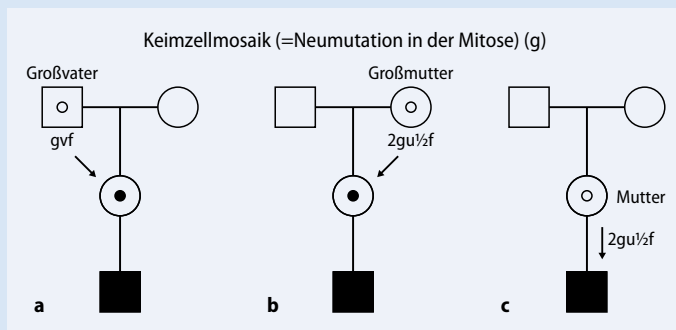


Abb. 4 ▲ a Vorliegen eines Keimzellmosaiks beim Vater der Mutter (Konduktorin) des Patienten (gvf), b Vorliegen eines Keimzellmosaiks bei der Mutter der Mutter (Konduktorin) des Patienten ( $2gu1/2f$ ), c Vorliegen eines Keimzellmosaiks bei der Mutter des Patienten ( $2gu1/2f$ ), Erläuterungen s. Text und Tab. 4

krankungen. Bei einer Patientin mit Muskelschwäche ist daher immer auch an eine Dystrophinopathie zu denken. Bei etwa der Hälfte der heterozygoten Frauen findet man erhöhte CK-Werte (CK: Kreatinkinase) im Serum (Tab. 1).

Zum Mutationsnachweis bei fraglich heterozygoten Frauen kann sowohl die MLPA für Deletionen und Duplikationen als auch die Sequenzierung für Punktmutationen im Dystrophingen herangezogen werden. Sinnvoll ist es, immer zuerst die Mutation in einer Familien bei sicheren Genträgern zu suchen (z. B. Patient oder obligate Konduktorin). Steht kein sicherer Genträger in einer Familie zur Verfügung, muss man berücksichtigen, dass die Sensitivität der Testverfahren nicht 100% beträgt (MLPA etwa 99%; Sequenzierung nach Ausschluss einer Deletion oder Duplikation etwa 93%). Folglich bleibt bei einer fraglichen Heterozygoten auch bei einem negativen Testergebnis ein Restrisiko bestehen, dennoch heterozygot zu sein (Tab. 2).

Die in Tab. 2 aufgeführten Testergebnisse können sich noch aufgrund weiterer Informationen (z. B. CK-Werte, Haplotypen) deutlich verändern. Zur Berechnung der Heterozygotenrisiken benutzt man das Bayes-Theorem und legt ein genetisches Modell zugrunde, welches versucht, die Wirklichkeit möglichst gut abzubilden.

### Genetisches Modell von DMD/BMD

Unter der Annahme, dass die Häufigkeiten von DMD/BMD sich in der Population nicht verändern und dass die Neumutationsrate bei Männern  $v$  und Frauen  $u$  beträgt, kann man den Anteil der heterozygoten Überträgerinnen und den Anteil der Patienten als ein Vielfaches der Mutationsraten ausdrücken ([10], Tab. 1).

Für DMD/BMD muss dieses Modell um die Möglichkeiten eines Keimzellmosaiks (KZM) erweitert werden [8], da ein solches für Dystrophinmutationen kein seltenes Ereignis ist. Bakker et al. [1] schätzten ein Wiederholungsrisiko von 14% für Brüder von sporadischen Fällen mit demselben Haplotyp, wenn die Mutation bei der Mutter in Lymphozyten nicht nachgewiesen werden konnte, Van Essen

**Tab. 1** Relatives Risiko für einen Überträgerstatus in Abhängigkeit der Serum-CK-Werte<sup>a</sup>

Relatives Risiko (Odds-Ratio)	Serum-CK-Wert (mit Normbereich)				
	26–167	11–86	10–70	9–55	0,9–2,4
0,2	≤39	≤17	≤15	≤13	≤1,14
0,2	40–48	18–22	16–19	14–16	1,14–1,27
0,2	49–59	23–28	20–24	17–20	1,28–1,42
0,3	60–74	29–35	25–30	21–25	1,43–1,58
0,4	75–92	36–44	31–37	26–31	1,59–1,76
0,7	93–113	45–56	38–47	32–38	1,77–1,97
1,4	114–140	57–70	48–58	39–46	1,98–2,19
3,2	141–173	71–89	59–73	47–57	2,20–2,44
8,2	174–214	90–112	74–91	58–70	2,45–2,72
24,0	>215	>112	>91	>70	>2,72

<sup>a</sup>Serumkreatinkinasewerte mit unterschiedlichen Normbereichen (Daten gelten nicht in der Schwangerschaft, nicht bei Frauen unter 16 Jahren)

**Tab. 2** Heterozygotenrisiken bei negativen Testergebnissen

	Heterozygotenrisiko der Ratsuchenden Tochter [%]
Verstorbene Mutter der Ratsuchenden ist sichere Konduktorin	50
Testergebnis negativ mit MLPA bei der Tochter	26,5
Testergebnis negativ mit MLPA und kein Nachweis einer Mutation nach Sequenzierung bei der Tochter	3,0

**Tab. 3** Mutations-Selektions-Gleichgewicht für X-chromosomale Erkrankung (z. B. DMD oder BMD) mit Berücksichtigung eines Keimzellmosaiks

Genetisches Modell für DMD (w=0) und BMD (w=0,7)			
Heterozygote	KZM bei Frauen	Betroffene Jungen	KZM bei Männern
$[(2u+2v+2wu)(1-g+fg)]/(1-w)$	2 gu	$[(2u+v)(1-g+fg)]/(1-w)$	gv

f Segregation der Mutation beim Keimzellmosaik (KZM); g Anteil der Neumutationen in der Mitose; 1-g Anteil der Neumutationen in der Meiose; u weibliche Mutationsrate; v männliche Mutationsrate; w relative Fitness

**Tab. 4** Parameter für das erweiterte genetische Modell bei DMD

Parameter	Wertigkeit	Zitat
Inzidenz (DMD)	I=0,000333	Emery [5]
– Anteil der Deletionen	D=0,650	Den Dunnen et al. [4]
– Anteil der „Punktmutationen“	P=0,280	p=1-d-o
– Anteil der Duplikationen	O=0,070	White et al. [20]
Fitness (DMD)	w=0	
Geschlechtsverhältnis der Mutationsraten	K=1,10	Barbujani et al. [2]
– Geschlechtsverhältnis der Deletionen	K <sub>d</sub> =0,385	Nach Grimm et al. [9]
– Geschlechtsverhältnis der Punktmutationen	K <sub>p</sub> =5,000	Nach Grimm et al. [9]
– Geschlechtsverhältnis der Duplikationen	K <sub>o</sub> =5,000	Nach Kawamura et al. [11]
Wahrscheinlichkeit für Neumutation in der Mitose	g=0,81	Grimm et al. [8]
Wahrscheinlichkeit für Neumutation in der Meiose	1-g=0,19	
Segregation beim Keimzellmosaik	f=0,34	Müller et al. [17]

et al. [19] gaben einen Wert von 20% (95%-Konfidenzintervall 10–30%) an. Unter Zuhilfenahme von CK-Werten schätzten Passos-Bueno et al. [18], dass die Mütter isolierter DMD-Fälle zu 62,3% heterozygote Überträgerinnen, zu 6,7% Trägerinnen von Keimzellmosaiken und zu 31% mit 2 normalen Allelen ausgestattet sind.

Barbujani et al. [2] vermuteten anhand der größten publizierten Studie zu dieser Frage mit fast 2000 Familien, dass mindestens 10% der sporadisch auftretenden Fälle auf in einem frühen Stadium der Keimzellentwicklung entstandene Mutationen zurückzuführen sind [2].

medgen 2009 · 21:327–331  
DOI 10.1007/s11825-009-0186-3  
© Springer Verlag 2009

T. Grimm · W. Kress · G. Meng · C.R. Müller-Reible

## Muskeldystrophien Duchenne und Becker. Molekulargenetische Diagnostik und genetisches Modell

### Zusammenfassung

Die Duchenne-Muskeldystrophie (DMD) ist die häufigste Muskelerkrankung im Kindesalter. Es liegt ein X-chromosomal rezessiver Erbgang mit Mutationen im Dystrophinogen (etwa 65% Deletionen, etwa 7% Duplikationen, etwa 26% Punktmutationen und etwa 2% unbekannte Mutationen) vor. Das genetische Modell ist komplex. Die Mutationsraten in beiden Geschlechtern sind ungleich. Punktmutationen und Duplikationen entstehen eher in der Spermatogenese, Deletionen eher in der Oogenese. Angenähert handelt es sich bezüglich aller Patienten bei etwa 33% um Neumutationen, von welchen der größere Teil als Keimzellmosaik vorliegt. Die Becker-Muskeldystrophie (BMD) ist mit der DMD allelisch.

### Schlüsselwörter

Duchenne-Muskeldystrophie · Becker-Muskeldystrophie · Dystrophinogen · Genetisches Modell · Keimzellmosaik

## Duchenne and Becker muscular dystrophies. Molecular genetic diagnosis and genetic models

### Abstract

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is the most frequent muscular disorder in infancy. The inheritance is X-linked recessive with mutations in the dystrophin gene (about 65% deletions, about 7% duplications, about 26% point mutations, and about 2% unknown mutations). The genetic model is complex. The sex ratio of the mutations is unequal. Point mutations and duplications arise in spermatogenesis, whereas deletions arise in oogenesis. About 33% of all patients are new mutations; however, most new mutations are germline mosaic. Becker muscular dystrophy is allelic to DMD.

### Keywords

Duchenne muscular dystrophy · Becker muscular dystrophy · Dystrophin gene · Genetic model · Germline mosaicism

**Tab. 5** Wahrscheinlichkeiten sporadischer DMD-Patienten bezüglich Konduktorinnenstatus der Mutter, Vorliegen eines KZM oder einer meiotischen Neumutation

Alle Mutationen	Mutter ist heterozygot	0,677
	Bei der Mutter liegt ein KZM vor	0,190
	Meiotische Neumutation beim Sohn	0,133
Deletionen	Mutter ist heterozygot	0,581
	Bei der Mutter liegt ein KZM vor	0,247
	Meiotische Neumutation beim Sohn	0,173
Punktmutationen oder Duplikationen	Mutter ist heterozygot	0,857
	Bei der Mutter liegt ein KZM vor	0,084
	Meiotische Neumutation beim Sohn	0,059

KZM Keimzellmosaik

**Infobox 1****Internetlinks**

- Programm zur Bestimmung des Leserasters bei Deletionen und Duplikationen im Dystrophin: [www.dmd.nl](http://www.dmd.nl)

Berücksichtigt man auch die BMD, für die eine relative Fitness ( $w$ ) von 0,7 angenommen wird, erhält man das in **Tab. 3** aufgeführte Mutations-Selektions-Gleichgewicht. Nach diesem Modell gibt es also 3 Situationen:

1. Frauen sind Konduktorinnen, weil ihre Mutter ebenfalls Konduktorin ist (**Abb. 2**).
2. Neumutationen in der Meiose können bei Frauen (in der Spermatogenese oder Oogenese entstandene Neumutation; **Abb. 3a**) oder bei Jungen erstmalig auftreten (in der Oogenese entstandene Neumutation; **Abb. 3b**).
3. Mitotische Neumutationen, die ein Keimzellmosaik zur Folge haben, können beim Vater (**Abb. 4a**) oder bei der Mutter vorliegen (**Abb. 4b,c**).

In der **Tab. 4** sind die für dieses Modell erforderlichen Parameter aufgeführt. Diese berücksichtigen, dass Keimzellmosaik vorliegen können. Des Weiteren beziehen die Daten mit ein, dass sich Deletionen überwiegend in der Oogenese ereignen, Punktmutationen und Duplikationen dagegen überwiegend auf die Spermatogenese zurückgehen [9, 11]. Das hat unmittelbare Auswirkung auf die Risikoabschätzung in DMD-Familien [6]. In **Tab. 5** ist die Wahrscheinlichkeit für sporadische DMD-Patienten (keine gesunden Brüder und mütterlichen Onkel) bezüglich Kon-

duktorinnenstatus der Mutter, Vorliegen eines KZM oder einer meiotischen Neumutation angegeben.

Programme, mit denen man unter Annahme eines genetischen Modells bedingte Wahrscheinlichkeiten für Stammbäume berechnen kann, sind im Prinzip als Werkzeug benutzbar. Immer müssen das genetische Modell mit den spezifischen Parametern und der Stammbaum eingegeben werden. Das ist nicht unbedingt bequemer als die Handrechnung und durchaus fehleranfällig, allerdings für größere Stammbäume unvermeidbar. Als Beispiele für 2 frei verfügbare Programme zur Risikoberechnung seien genannt:

- MLINK und LINKMAP, Teile des LINKAGE-Pakets, [14], ein MS-DOS Programm welches nicht die Berücksichtigung von KZM und die Unterscheidung von Deletionen, Duplikationen und Punktmutationen erlaubt und
- RISCALW [7], ein Windows-Programm zur Risikoberechnung in Familien mit DMD, welches bis auf Duplikationen praktische alle wichtigen Parameter berücksichtigt.

**Korrespondenzadresse****Prof. Dr. T. Grimm**

Abteilung für Medizinische Genetik und Institut für Humangenetik, Universität Würzburg  
Theodor-Boveri-Weg, 97074 Würzburg  
[tgrimm@biozentrum.uni-wuerzburg.de](mailto:tgrimm@biozentrum.uni-wuerzburg.de)

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

**Literatur**

1. Bakker E, Veenema H, Den Dunnen JT et al (1989) Germinal mosaicism increases the recurrence risk for 'new' Duchenne muscular dystrophy mutations. *J Med Genet* 26:553–559

2. Barbutani G, Russo A, Danielli GA et al (1990) Segregation analysis of 1885 DMD families: significant departure from the expected proportion of sporadic cases. *Hum Genet* 84:522–526
3. Debrugrave N, Daoud F, Lense S et al (2007) Protein- and mRNA-based phenotype-genotype correlations in DMD/BMD with point mutations and molecular basis for BMD with nonsense and frameshift mutations in the *DMD* gene. *Hum Mutat* 28:183–195
4. Den Dunnen JT, Grootsholten PM, Bakker E et al (1989) Topography of the Duchenne muscular dystrophy (*DMD*) gene: FIGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletions and 13 duplications. *Am J Hum Genet* 45:835–847
5. Emery AE (1991) Population frequencies of inherited neuromuscular diseases – a world survey. *Neuromuscul Disord* 1:19–29
6. Fischer C, Gross W, Krüger J et al (2006) Modelling germline mosaicism and different new mutation rates simultaneously for appropriate risk calculations in families with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Hum Genet* 70:237–248
7. Fischer C, Krüger J, Gross W (2006) RISCALW: a Windows program for risk calculation in families with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Hum Genet* 70:249–253
8. Grimm T, Müller B, Müller CR, Janka M (1990) Theoretical considerations on germline mosaicism in Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet* 27:683–687
9. Grimm T, Meng G, Liechti-Gallati S et al (1994) On the origin of deletions and point mutations in Duchenne muscular dystrophy: most deletions arise in oogenesis and most point mutations result from events in spermatogenesis. *J Med Genet* 31:183–186
10. Haldane JSB (1935) The rate of spontaneous mutation of a human gene. *J Genet* 31:317–326
11. Kawamura J, Kato S, Ishihara T et al (1997) Difference of new mutation rates in dystrophin gene between deletion and duplication mutation in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Rinsho Shinkeigaku* 37:212–217
12. Koenig M, Beggs AH, Moyer M et al (1989) The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet* 45(4):498–506
13. Lalic T, Vossen RH, Coffa J et al (2005) Deletion and duplication screening in the *DMD* gene using MLPA. *Eur J Hum Genet* 13:1231–1234
14. Lathrop GM, Lalouel JM, Julier C, Ott J (1984) Strategies for multilocus linkage analysis in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3443–3446
15. Malhotra SB, Hart KA, Klamut HJ et al (1988) Frameshift deletions in patients with Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Science* 242:755–759
16. Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S et al (1988) An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the *DMD* locus. *Genomics* 2:90–95
17. Müller B, Grimm T, Golla A (1995) Estimating the proportion of affected germ-cells in cases of germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Med Genet* 7:119
18. Passos-Bueno MR, Rapaport D, Love D et al (1990) Screening of deletions in the dystrophin gene with the cDNA probes Cf23a, Cf56a, and Cf115. *J Med Genet* 27:145–150
19. Van Essen AJ, Abbs S, Baiget M et al (1992) Parental origin and germline mosaicism of deletions and duplications of the dystrophin gene: a European study. *Hum Genet* 88:249–257
20. White SJ, Aartsma-Rus A, Flanigan KM et al (2006) Duplications in the *DMD* gene. *Hum Mutat* 27:938–945

Hier steht eine Anzeige.

