

GENETICĂ MEDICALĂ

EVALUAREA INFLUENŢEI GENELOR MODIFICATOARE A METABOLISMULUI ASUPRA MANIFESTĂRILOR PROCESELOR MIOPATICE (PE EXEMPLUL DISTROFIEI MUSCULARE DUCHENNE/BECKER)

¹Victoria Sacară – dr. în med., conf. cercetător,

³Elena Mocan – dr. în biol.,

¹Vitalie Scurtu – masterand,

²Maria Duca – prof., acad. AŞM, prof. univ.,

³Stanislav Groppa – prof., acad.,

¹Institutul Mamei și Copilului, laboratorul de Genetică Moleculară Umană,

²Universitatea AŞ, RM,

³Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”,

victoriasacara@hotmail.com

Rezumat

Prezenta lucrare este dedicată cercetării factorilor genetici modificali la pacienții *MDD/B*. Estimarea rolului lor asupra vitezei progresiei procesului miopatic, determinarea tipului și forței de interacțiuni intergenice, precum și modelarea matematică a vitezei de progresie a procesului miopatic, vor îmbogăți datele actuale cu privire la mecanismele moleculare ale procesului miopatic și va deschide posibilitatea prognozării individuale a evoluției procesului patologic cu indicarea corecției metabolice corespunzătoare. S-a efectuat un studiu epidemiologic- cercetare retrospectivă de cohortă, iar prelucrarea statistică a datelor obținute a fost realizată cu ajutorul programelor SPSS (versiunea 20) și MDR. Metoda regresiei logistice multinomiale a permis alegerea modelului optim al intensității legăturilor parametrilor genetici și a altor date clinice cu viteza progresiei procesului patologic. Un rezultat pozitiv pentru genotipul heterozigot al genei *MTHFR C677T* și homozigot după mutația *MTHFR A1298C* semnifică faptul că aceste categorii acționează în calitate de categorii superioare a variabilei dependente ($p=0,004$ și $0,039$ respectiv). Valoarea matematică a estimărilor parametrilor regresiei a arătat o valoare statistic semnificativă pentru compound heterozigot *MTHFR C677T*, *MTHFR A1298C*, *MTR A2756G* ($\beta=33,7$) și *MTHFR C677T*, *MTRR A66G*, *MTR A2756G* ($\beta=34,7$). Sinergismul pronunțat al interacțiunilor dintre genele ciclurilor folat, metioninic și genei sintazei endoteliale NO constituie baza genetică a predispoziției către progresia procesului miopatic și invaliditate timpurie (până la 9 ani). **Concluzii.** Estimarea efectului modificali al unui șir de sisteme genice asupra manifestărilor fenotipice ale patologiei monogenice prezintă o însemnătate fundamentală. Tipul și forța interacțiunilor dintre genele cercetate cu variante alelice- diferite la pacienții *MDD/B*, imobilizați la vârstele de până la 9 și 12 ani, cel mai probabil joacă un rol important în determinarea predispoziției de evoluție a bolii spre stadiul imobilizării în scaunul cu roțile. Modificarea principiului consultului medico-genetic va permite identificarea formelor clinice potențial-grave de *MDD/B*, precum și oferă posibilitatea de a alege tratamentul individual timpuriu și în anumite cazuri – efectuarea terapiei preventive.

Cuvinte-cheie: Distrofie musculară Duchenne/Becker, gene modificali, ciclul folat, ciclul metioninic, sintaza NO endotelială, interacțiune intergenică

Summary: Assessment of metabolism modifier genes influence on phenotypic expression of myopathic process (duchenne muscular dystrophy)

This work is devoted to modifying genetic factors in patients with DMD/B. Evaluation of their role on the rate of progression of myopathic process, determination of the type and strength of intergenic interaction through mathematical modeling, enrich the available data on the molecular mechanisms of myopathic process and opens the possibility for the individual prediction of the pathological process and the subsequent metabolic correction. Was conducted epidemiological studies, retrospective cohort study. For statistical analysis we used the program SPSS (version 20) and the program MDR 3.0.2. Multinomial logistic regression method helped us to choose the right model intensity due genetic indicators and other clinical data at the speed of progression of the pathological process. Positive assessment of *MTHFR C677T* heterozygous and homozygous *MTHFR C1298C* mutations mean that the corresponding categories act as the highest category of the dependent variable ($p = 0.004$ and 0.039 , respectively). Mathematical value of the parameter estimates of

the regression showed a statistically significant ($p < 0,05$) value for compound heterozygotes MTHFR677, MTHFR1298 and MTR ($\beta = 33,7$) and MTHFR 677, MTRR, MTR ($\beta = 34,7$). The genetic basis of susceptibility to the progression of myopathic process and early disability (up to 9 years old) show a strong synergism interaction between genes of folate cycle, methionine (FMC) and endothelial NO synthase gene. **Conclusions.** Evaluation of the modifying effect of some genetic systems on phenotypic expression of a monogenic disease have a fundamental importance. The type and strength of the interaction between the studied genes are different in patients who have sat down in the wheelchair up to 9 years and up to 12 years, appear to play an important role in determining the susceptibility of development the prams's stage of the disease. Changing of genetic counseling, allows to identify the potentially severe clinical forms of DMD/B, neurologists will have the possibility of early selection for individual metabolic treatment.

Key words: muscular dystrophy Duchenne/Becker, modifier genes, the folate cycle, methionine cycle, endothelial NO-synthase, intergenic interaction

Резюме: Оценка влияния генов-модификаторов метаболизма на фенотипическое проявление миопатического процесса (на примере Миодистрофии Дюшенна/Беккера)

Данная работа посвящена исследованию модифицирующих генетических факторов у больных МДД/Б. Оценка их роли на скорость прогрессирования миопатического процесса, определение типа и силы межгенного взаимодействия, проведенное математическое моделирование скорости прогрессирования миопатического процесса, обогатит имеющиеся данные о молекулярных механизмах миопатического процесса и открывает возможность к индивидуальному прогнозированию патологического процесса и к последующей метаболической коррекции. Было проведено эпидемиологические исследования- ретроспективное когортное исследование. Для статистической обработки использовалась программа SPSS (version 20) и программа MDR. Метод мультиномиальной логической регрессии помог нам выбрать подходящую модель интенсивности связи генетических показателей и других клинических данных со скоростью прогрессирования патологического процесса. Положительная оценка MTHFR C677T в гетерозиготном состоянии и MTHFR C1298C в гомозиготном по мутации означают, что соответствующие категории действуют в качестве высшей категории зависимой переменной ($p=0,004$ и $0,039$ соответственно). Математическое значение оценок параметров регрессии показало статистически значимую ($p < 0,05$) величину для компаунд гетерозигот MTHFR677, MTHFR1298 и MTR ($\beta=33,7$) и MTHFR 677, MTRR, MTR ($\beta=34,7$). Генетическую основу предрасположенности к прогрессированию миопатического процесса и ранней инвалидизации (до 9 лет) составляют выраженный синергизм взаимодействия между генами фолатного цикла, метионинового (ФМЦ) и геном эндотелиальной NO синтазы. **Выводы.** Оценка модифицирующего эффекта ряда генетических систем на фенотипическое проявление моногенной патологии имеет фундаментальное значение. Тип и сила взаимодействие между исследуемыми генами, отличающиеся у больных, севших в коляску до 9 лет и до 12 лет, по всей видимости, играют важную роль в детерминации предрасположенности больных МДД/Б к развитию колясочной стадии болезни. Изменение принципа медико-генетического консультирования - позволяет провести идентификацию потенциально тяжелых клинических форм МДД/Б, у невропатологов появится возможность раннего подбора индивидуального метаболического лечения.

Ключевые слова: Миодистрофия Дюшенна/Беккера, гены-модификаторы, фолатный цикл, метиониновый цикл, эндотелиальная NO-синтаза, межгенное взаимодействие

Introducere. Această lucrare a fost realizată într-un domeniu contemporan al științei și îmbină trei discipline - medicina (neurologia), biologia (genetica moleculară) și bioinformatica.

Cu toate că gena distrofinei (*DMD*) a fost descoperită în anul 1986, iar mutațiile în această genă provoacă forme clinice diferite de distrofie - Duchenne și Becker (variante unialelice), comunitatea științifică continuă să caute cauza de la baza polimorfismului clinic al acestei patologii.

La momentul actual se cercetează profilul expresiei genice [1,2], precum și culturile celulare [3] și organisme-model [4] pentru înțelegerea proceselor biochimice [6], moleculare [2,5,9] care au loc în cazul miodistrofiilor și căutarea terapiei "target" [7] pentru distrofia Duchenne. Astăzi se realizează analiza genotip-fenotip pe eşantioane mari de bolnavi, precum este prezentată baza de date franceză a bolnavilor cu dis-

trofie musculară Duchenne (UMD-DMD) - ce servește drept model al "bazei științifice multinaționale" [14].

Pe parcursul a 20 de ani de monitorizare a pacienților DMD/B au putut fi observate momente interesante ce au servit drept bază pentru cercetarea factorilor modificali ca parte componentă a patogenezei miopatiilor. A fost constatată o progresie diferită a procesului miopatic la pacienții cu aceleași mutații în gena distrofinei care urmau un curs standard de terapie de reabilitare care includea consumul de metionină [17]. Aceasta a servit drept bază a cercetării genetice a genelor ciclurilor metioninic și a folatului [16], a polimorfismului genei *eNOS* și determinarea rolului lor în evoluția proceselor miopatic.

Scopul cercetării. Determinarea tipului și forței interacțiunilor intergenice ale sistemelor genetice cercetate la pacienții *MDD/B* cu vârsta diferită de imobilizare în scaunul cu rotile - până la 9 și 12 ani.

Material și metode

Îndeplinirea obiectivelor a fost realizată în cadrul Institutului Mamei și Copilului RM în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană.

A fost realizată o cercetare retrospectivă de cohortă [4] pe un eșantion de pacienți *MDD/B* (n=148) din Registrul Național al Patologiilor Neuro-Musculare (RNPNM). Începând cu anul 1991, RNPNM și banca de ADN a pacienților cu risc crescut [17,18] au fost create și organizate în cadrul secției științifice a Centrului de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală - centru funcțional de însemnătate republicană. Pacienții au fost incluși în grupul "case" după stabilirea diagnosticului conform criteriilor de diagnosticare și recomandărilor Muscular Dystrophy Association (USA) [12].

Datele obținute au fost prelucrate statistic utilizând programul SPSS (Statistical Package for Social Sciences), care include metode standart pentru cercetări biologico-medicale. Metoda regresiei logistice [19] a fost valorificată pentru estimarea influenței polimorfismelor genetice asupra riscului dezvoltării stadiului imobilizării în scaunul cu roțile (particularităților evoluției patologiei).

Metoda MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) a fost utilizată cu scopul modelării interacțiunilor dintre genele ciclurilor folat, metioninic și genelor disfuncției endoteliale în cazul *MDD/B* [10,11,8].

Rezultate și discuții

La momentul actual o atenție deosebită este acordată cercetării proceselor genetice și biochimice care au loc în țesutul muscular la pacienții *MDD/B* [2], precum și studierii rolului diferitor gene care pot determina gravitatea bolii [1]. Astăzi aceste cercetări sunt îndreptate pentru a determina cauza existenței a două variante de evoluție a patologiei, polimorfismului clinic al *MDD* și factorii declanșatori ai procesului miopatic.

Metoda regresiei logistice multinomiale [19] a permis alegerea modelului optim a intensității legăturii dintre variantele genetice și a altor date clinice cu viteza progresiei proceselor miopatic.

Am utilizat vârsta de imobilizare în scaunul cu roțile - până la 9 și 12 ani (începutul stadiului al IV-lea al bolii după clasificarea din anul 2010) - drept variabilă dependentă, iar factorii (forța musculară la prima examinare, tipul deleției genei distrofinei (in-frame sau out-of-frame), genotipul după genele ciclurilor folat, sintezei metioninei și disfuncției endoteliale) ca variabile independente.

Modelul A a permis evaluarea influenței doar a genelor ciclului folat și metioninic asupra vârstei de imobilizare în scaunul cu roțile.

Modelul A1 general, în care variabila dependentă a fost reprezentată de vârsta de imobilizare la 9 ani

este statistic nesemnificativ ($p=0,114$), în baza informațiilor cu privire la aproximarea modelului. Însă conform tabelului testului de încredere, atunci când este exclus factorul principal, valoarea lui $p=0,011$ indică asupra faptului că factorul *MTHFR C677T* prezintă o influență statistic semnificativă asupra variabilei dependente - vârsta de imobilizare până la 9 ani.

Evaluarea parametrilor regresiei care pentru factori poartă denumirea de estimări a stării, ne permit de a evalua influența unor parametri (factori) separați precum și indica asupra nivelului acestei influențe.

Valorile pozitive pentru *MTHFR C677T* în stare heterozigotă și *MTHFR C1298C* în stare homozigotă după mutație indică faptul că acestea acționează ca variabile dependente de categorie superioară ($p=0,004$ și $0,039$ respectiv).

Valoarea matematică a estimării parametrilor regresiei a constituit o valoare statistic semnificativă ($p<0,05$) pentru heterozigot compound *MTHFR C677T*, *MTHFR A1298C* și *MTR A2756G* ($\beta=33,7$) și *MTHFR C677T*, *MTRR A66G*, *MTR A2756G* ($\beta=34,7$).

În cazul **Modelului A2** variabila dependentă e reprezentată de vârsta de imobilizare în scaunul cu roțile până la 12 ani. Datele cu privire la aproximarea modelului indică că acest model este statistic semnificativ ($p=0,017$).

Modelul B - în care forța musculară reprezintă variabila dependentă este un model statistic semnificativ ($p=0,032$). Estimarea parametrilor regresiei a arătat 4 factori statistic semnificativi care acționează în calitate de variabile dependente de categorie superioară - genotipul homozigot după alela mutantă a *MTRR A66G* ($\beta=20,40$, $p=0,0000$), genotipul heterozigot după *MTRR A66G* ($\beta=1,4$, $p=0,03$), genotipul heterozigot după *MTR A2756G* ($\beta=1,5$, $p=0,021$) și genotipul heterozigot după polimorfismul *MTHFR C677T* ($\beta=1,5$, $p=0,021$) au o influență majoră asupra parametrului „forța musculară”.

Astfel, pe calea creării și testării acestui model, am descoperit tendințe specifice într-un proces concret, ceea ce permite de a înțelege căile de influență asupra procesului dat. Adică, am demonstrat că ciclul metioninic prezintă o influență majoră asupra stării mușchilor și a forței musculare.

Modelul C. Acest model include variabila dependentă - vârsta de imobilizare până la 9 ani și 5 factori - toate polimorfismele studiate. Datele cu privire la aproximarea modelului indică o relevanță înaltă statistic semnificativă ($\chi^2=101,90$, $df=67$, $p=0,004$).

Modelul D - are la bază variabila dependentă - vârsta de imobilizare până la 9 ani și 6 factori - tipul deleției (in-frame și out-of-frame) - și toate polimorfismele genelor studiate (*MTHFR C677T*, *MTHFR A1298C*, *MTRR A66G*, *MTR A2756G*, *eNOS 4a/4b*).

Informațiile cu privire la aproximarea modelului indică că acest model este semnificativ statistic ($\chi^2=126,37$, $df=95$, $p=0,02$).

În acest fel, după toate modelele statistic semnificative putem determina probabilitatea imobilizării în scaunul cu rotile până la 9 sau până la 12 ani pentru pacienții MDD/B (expuse în tabelele probabilității) și prognoza viteziei procesului miopatic.

Luând în considerație datele din literatură și cele obținute de noi a fost analizată influența genelor ciclurilor folat și metioninic și, a genei sintazei NO endoteliale asupra progresiei procesului miopatic prin metoda regresiei logistice multinomiale. Determinarea interacțiunilor dintre gene cu scopul determinării combinațiilor specifice ale locusurilor care ar fi avut o însemnătate mai mare în evoluția procesului miopatic a reprezentat următoarea etapă a cercetării. Pentru îndeplinirea acestei sarcini a fost utilizată metoda MDR (multifactor dimensionality reduction), conceput pentru studiul caracterului interacțiunilor intergenice în cercetările genotipo-populaționale [15]. Noi am încercat să evidențiem caracterul interacțiunilor dintre genele modificatoare în studiul patologiei monogenice.

Am efectuat analiza tipului și forței interacțiunii intergenice la pacienții MDD/B care au fost imobilizați în scaunul cu rotile la vârstele de până la 9 și 12 ani.

În rezultatul analizei tipului și forței de interacțiune dintre variantele polimorfismice ale genelor ciclurilor folat și metioninic și genei sintazei endoteliale NO la pacienții de 9 ani au fost găsite modele care evidențiază cel mai bine caracterul interacțiunilor a celor 5 locusuri ale genelor MTHFR, MTR, MTRR și eNOS în evoluția procesului miopatic spre stadiul de imobilizare în scaunul cu rotile.

În tabelul 1 sunt prezentate cele mai însemnate modele ale interacțiunilor intergenice- uni-, bi-, din 3 și din 4 alele, determinate cu ajutorul algoritmului de căutare selectivă MDR în grupuri cu clasificator binar - imobilizare în scaunul cu rotile până la 9 ani (0) și imobilizare la vârstă mai mare de 9 ani (1) în grupul de pacienți MDD/B.

Cel mai bun model predictiv cu cele mai mici erori a fost modelul din 4 alele - cu următoarea combinație a locusurilor: MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G, MTRR A66G - cu repetabilitatea rezultatului CVC=10/10 și $\chi^2 = 27,7601$ ($p<0,0001$).

Tabelul 1

Modelele interacțiunilor intergenice (genelor modificatoare) la pacienții MDD/B cu vârsta de imobilizare până la 9 ani

	Test. Bal. Acc.	Bal. Acc.	χ^2 (P)	SE	SP	CVC	Pre.
Model monoalelic	MTHFR C677T						
	0,52	0,57	3,9528 (0,0468)	0,55	0,6	9/10	0,694
Model Din 2 alele	MTHFR C677T, MTR A2756G						
	0,44	0,61	8,8761 (p=0,003)	0,74	0,4769	8/10	0,6991
Model din 2 alele	MTHFR C677T, eNOS						
	0,48	0,59	5,3001 (p=0,0213)	0,67	0,51	10/10	0,69
Model din 3 alele	MTHFR C677T, MTR A2756G, eNOS						
	0,41	0,66	18,3459 (p<0,0001)	0,69	0,65	8/10	0,76
Model din 4 alele	MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G, eNOS						
	0,41	0,75	39,824 (<0,0001)	0,73	0,77	5/10	0,84

Tr. Bal. Acc. – precizie balansată antrenată;

Test. Bal. Acc. – precizie balansată testată;

Sign Test.(P) – test de semnificație;

SE – sensibilitate; SP – specificitate; CVC – repetabilitatea rezultatului;

Pre. (precision) – precizia modelului.

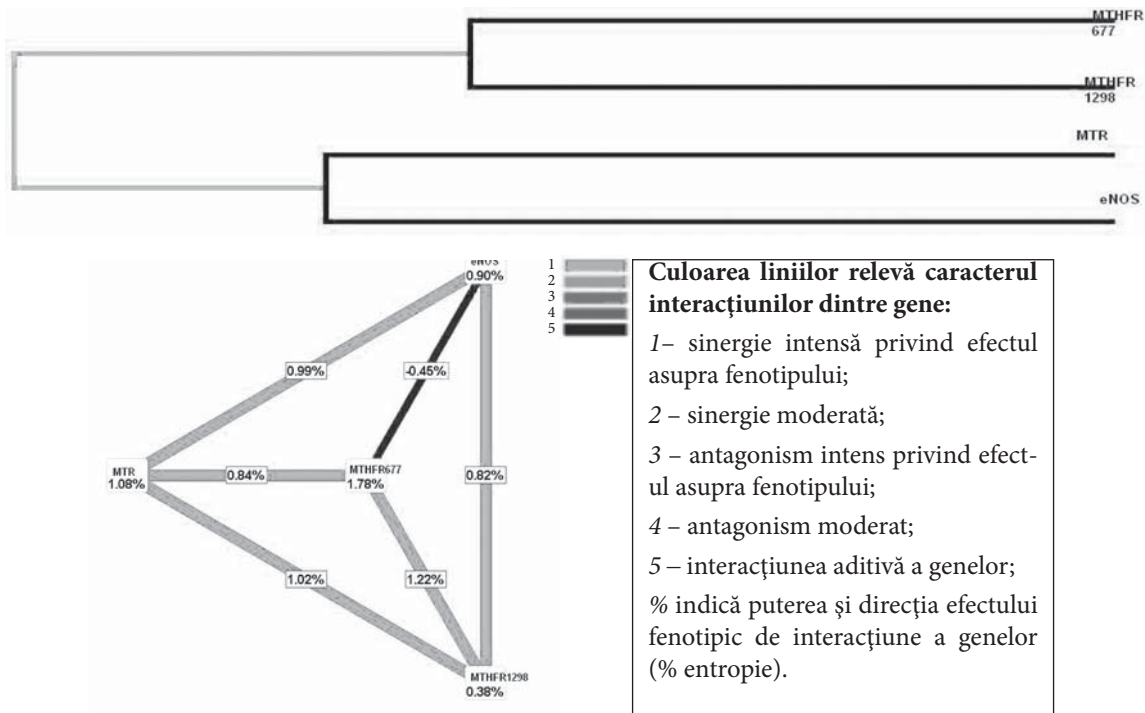


Fig. 1. Structura interacțiunilor variantelor polimorfice ale genelor ciclurilor folat, metioninic și sintezei NO endoteliale la pacienții MDD/B imobilizați la vârsta de până la 9 ani. (sus- analiza de cluster, jos-graficul forței de interacțiune)

Analiza de cluster a permis evidențierea interacțiunii dintre variantele polimorfice studiate care pot influența evoluția procesului miopatic la pacienții MDD/B.

În figura 1 sunt prezentate interacțiunile dintre genele studiate în limitele modelului obținut de interacțiune dintre gene.

S-a depistat un sinergism relevant între locusurile polimorfice MTHFR C677T – MTHFR A1298C și MTR A2756G – eNOS 4a/4b. Conform figurii 1, pentru locusurile MTHFR C677T (1,78%) și MTR A2756G (1,08%) este caracteristic un efect fenotipic mai pronunțat exprimat prin agravarea procesului miopatic la vârsta de imobilizare de până la 9 ani.

În tabelul 2 sunt prezentate cele mai însemnate modele uni-, bi-, din 3 și din 4 alele a interacțiunilor intergenice determinate cu ajutorul algoritmului de căutare selectivă MDR în grupuri cu clasificator binar-imobilizare în scaunul cu roțile până la 12 ani (0) și imobilizare la vârstă mai mare de 12 ani (1) în grupul de pacienți MDD/B.

Cel mai bun model predictiv cu cele mai mici erori a fost modelul din 4 alele - cu următoarea combinație a locusurilor: MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G, MTRR A66G - cu repetabilitatea rezultatului: CVC=9/10 și $\chi^2 = 54,2182$ ($p < 0,0001$).

Tabelul 2

Modelele interacțiunilor intergenice (genelor modificatoare) la pacienții MDD/B cu vârsta de imobilizare de până la 12 ani

	Test. Bal. Acc.	Bal. Acc.	χ^2 (P)	SE	SP	CVC	Pre.
Model Monoalelic	MTHFR A1298C						
	0,47	0,58	4,0544 (p=0.0441)	0,52	0,64	5/10	0,414
Model din 2 alele	MTR A2756G, eNOS						
	0,49	0,63	11,15(p=0,0008)	0,59	0,68	4/10	0,47

Model din 3 alele	MTHFR C677T, MTR A2756G, eNOS						
	0,55	0,72	30,574 (<0.0001)	0,66	0,77	8/10	0,59
Model din 4 alele	MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G, eNOS						
	0,54	0,79	54,2182 (<0.0001)	0,79	0,8	9/10	0,67

Tr. Bal. Acc. – precizie balansată antrenată;
 Test. Bal. Acc. – precizie balansată testată;
 Sign Test.(P) – test de semnificație;
 SE – sensibilitate; SP – specificitate; CVC – repetabilitatea rezultatului;
 Pre. (precision) – precizia modelului.

Analiza tipului și forței interacțiunii genelor modificatoare studiate la pacienții MDD/B care sunt imobilizați la vârsta de până la 12 ani a arătat diferențe semnificative după tipul și forța interacțiunii comparativ cu pacienții imobilizați la vârsta de până la 9 ani. S-au conturat 2 clustere: MTHFR A1298C-eNOS 4a/4b cu efect antagonist asupra fenotipului și MTHFR C677T- MTR A2756G cu efect pronunțat sinergic asupra fenotipului.

În figura 2 sunt prezentate interacțiunile dintre gene în limitele modelului obținut. S-a depistat un si-

nergism relevant între locusurile polimorfice MTR A2756G- MTHFR C677T și un synergism moderat între eNOS 4a/4b - MTR A2756G, precum și MTHFR A1298C - MTHFR C677T. Însă între locusurile eNOS 4a/4b - MTHFR A1298C a fost obținut un efect antagonist, iar între MTR A2756G - MTHFR A1298C și MTHFR C677T - eNOS 4a/4b - interacțiune aditivă (neutră).

Conform figurii 2, interacțiunea dintre locusurile eNOS 4a/4b-MTHFR A1298C prezintă cel mai pronunțat efect fenotipic asupra procesului miopatic la

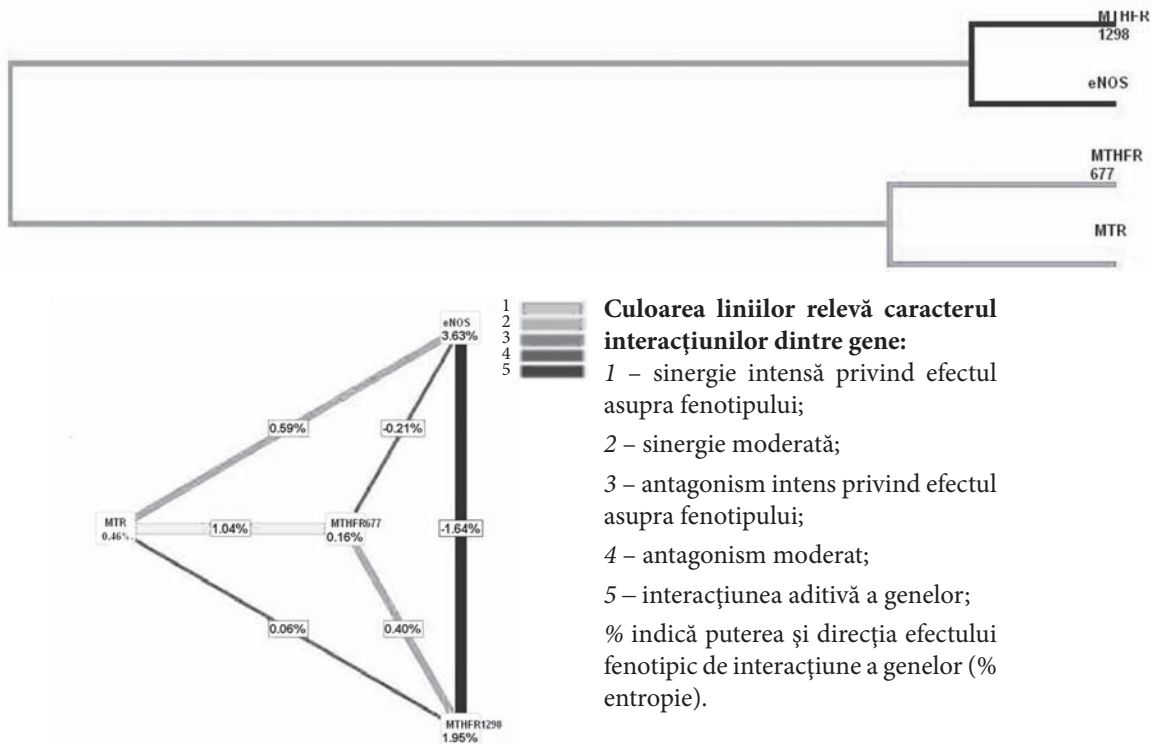


Fig. 2. Structura interacțiunilor variantelor polimorfice ale genelor ciclurilor folat, metioninic și sintazei NO endoteliale la pacienții MDD/B imobilizați la vârsta de până la 12 ani. (sus- analiza de cluster, jos - graficul forței de interacțiune)

pacienții MDD/B, imobilizați la vârsta de până la 12 ani.

În acest fel, interacțiunile dintre genele cercetate cu variantele lor polimorfice diferite la pacienții MDD/B imobilizați în scaunul cu rotile la vârstele de până la 9 și 12 ani, joacă un rol important în determinarea predispoziției de evoluție a bolii spre stadiul imobilizării în scaunul cu rotile.

Concluzii:

1. Evaluarea efectului modificador al unor sisteme genice asupra manifestărilor fenotipice ale patologiei lor monogenice prezintă o însemnătate fundamentală în înțelegerea patogenezei procesului patologic.

2. Tipul și forța interacțiunii dintre genele studiate cu variantele lor alelice - diferite la pacienți imobilizați în scaunul cu rotile la vârsta de până la 9 și la 12 ani, cel mai probabil joacă un rol important în determinarea predispoziției de progresie a bolii spre stadiul de imobilizare în scaunul cu rotile.

3. Modificarea principiului consultului medico-genetic permite identificarea formelor clinice potențial-grave de MDD/B, precum și oferă posibilitatea de a alege tratamentul individual timpuriu și în anumite cazuri - efectuarea terapiei preventive.

Bibliografie

- Pegoraro E., et al., *SPP1 genotype is a determinant of disease severity in Duchenne muscular dystrophy*. *Neurology*, 2011; 76:219-226.
- Rolf Turk, *Molecular Mechanisms in Muscular Dystrophy. A gene Expression Profiling study*. Thesis, Leiden University Medical Center, 2006; 189p.
- Ashley C. Wozniak, Jiming Kong, Erika Bock, Orest Pilipowicz, Judy E. Anderson, *Signaling satellite-cell activation in skeletal muscle: Markers, models, stretch, and potential alternate pathways*. *Muscle & Nerve*, 2005; 31(3):283-300.
- Dogra C., Srivastava D.S., Kumar A., *Protein-DNA array-based identification of transcription factor activities differentially regulated in skeletal muscle of normal and dystrophin-deficient mdx mice*. *Mol.Cell Biochem.*, 2008; 312:17-24.
- Abdel-Salam E., Abdel-Meguid I., Korraa S.S., *Markers of degeneration and regeneration in Duchenne muscular dystrophy*. *Acta Myologica*, 2009; XXVIII:94-100.
- Eric C., *Muscle Biochemistry*. Niederhoffer, 2004, 23p http://www.siumed.edu/~eniederhoffer/som_pbl/SSB/musc_bioch/musc_biochem.pdf
- Kotelnikova E., Shkrob M., Ferlini A., Daraselia N., *Novel Approach to Meta-Analysis of Microarray Datasets Reveals Muscle Remodeling-related Drug Targets and Biomarkers in Duchenne Muscular Dystrophy*. *PLOS Computational Biology*, 2012; 8(2):e1002365.
- Agirbasli D., Agirbasli M., Williams S.M., Philips J.A., *Interaction among 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase, plasminogen activator and endothelial nitric oxidesynthase gene polymorphisms predicts the severity of coronary artery disease in Turkish patients*. *Coronary Artery Disease*, 2006; 17: 413-417.
- Francesconi M., Jelier R., Lehner B., *Integrated genome-scale prediction of detrimental mutations in transcriptor. Networks*. *PLOS genetics*, 2011; 7(5): e1002077-e1002077.
- Pothman K., Greenland S., *Types of Epidemiologic studies*. In Rothman K., Greenland S. *Modern Epidemiology*. 2nd ed., Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 1998.- p.67-78.
- Hahn Lance W., Marylyn D. Ritchie and Jason H. Moore, *Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions*. *Bioinformatics*, 2003; 19(3):376-382.
- Ramanan V.K., Shen Li, Moore J.H., Saykin A.J., *Pathway analysis of genomic data: concepts, methods, and prospects for future development*. *Trends in Genetics*, 2012; 28(3):323-332.
- Bushby Katharine, R. Finkel, et al. *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management*. www.thelancet.com/neurology Published online November 30, 2009.
- Sylvie Tuffery-Giraud, Christophe Bérout, France Leturcq, Rabah Ben Yaou, Dalil Hamroun, Laurence Michel-Calemard, Marie-Pierre Moizard, Rafaëlle Bernard, Mireille Cossée, Pierre Boisseau, Martine Blayau, Isabelle Creveaux, Anne Guiochon-Mantel, Bérengère de Martinville, Christophe Philippe, Nicole Monnier, Eric Bieth, Philippe Khau Van Kien, François-Olivier Desmet, Véronique Humbertclaude, Jean-Claude Kaplan, Jamel Chelly and Mireille. *Genotype-phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD-DMD database: a model of nationwide knowledgebase*. *Human Mutation*, 2008; 30:934-945.
- Lehner Ben, *Modelling genotype-phenotype relationships and human disease with genetic interaction networks*. *The journal of experimental biology*, 2007; 210:1559-1566.
- V. Sacară V., Scvortova E., Florea V., *Analiza efectului modificador al factorilor genetici (genelor ciclului folat) asupra manifestărilor fenotipice în distrofia musculară Duchenne / Becker*. *Buletin de Perinatologie*, 2009;2(42): 45-51.
- Sacara V., *Genetic analysis of dystrophin gene in affected males and females carriers with Duchenne/Becker muscular dystrophy in Republic of Moldova between 1992 and 2012*. *Buletin de Perinatologie*, 2012; 3(55): 29-36.
- Sacara V., Levițchi Al., Groppa St., Duca M., Moșin V., *Spectrul nozologic al bolilor ereditare ale sistemului nervos și particularitățile răspândirii patologiilor neuromusculare în Republica Moldova*. *Buletin de Perinatologie*, 2012; 3(55):36-44.
- <http://www.hr-portal.ru/spss/Glava16/Index9.php>