

A. Noguera Moya, G. Lorenzo Sanz,
M. García Villanueva*, J. Benítez**,
J.M. Aparicio Méix

An Esp Pediatr 1996;44:267-269.

Distrofia muscular de cinturas autosómica recesiva probablemente ligada al cromosoma 15

Introducción

Los síndromes de debilidad progresiva en cinturas son un grupo heterogéneo de enfermedades tanto desde el punto de vista clínico como etiopatogénico⁽¹⁾.

Se han identificado genéticamente varias formas de distrofia muscular (DM) con afectación predominante de cinturas: unas con herencia ligada al X^(1,2), otra con herencia autosómica dominante ligada al cromosoma 5⁽³⁾ y otras dos recesivas, una en relación con el autosoma 15⁽⁴⁾ y otra ligada al 13 (Duchenne-like) que se observa fundamentalmente en el norte de África⁽⁵⁾.

La histopatología de estos trastornos se caracteriza por una serie de cambios degenerativos y regenerativos en el músculo que son inespecíficos. Un rasgo distintivo dentro de las distrofias musculares es la proteína distrofina, pudiendo ésta ser normal o anómala. De este modo, a las distrofias que cursan con afectación primaria de la distrofina se les denomina distrofinopatías⁽⁶⁾, como son la DM de Duchenne y la DM de Becker.

Dentro de las DM, la distrofia muscular de cinturas (DMC) siempre ha sido una forma clínica de difícil reconocimiento como entidad, hasta el punto de que varios autores han cuestionado su existencia como tal, aduciendo que la localización de la debilidad muscular en ambas cinturas no es sino un patrón de distribución que se puede observar en procesos diferentes⁽⁷⁻⁹⁾.

Sin duda los avances en genética e investigación inmunohistoquímica de los últimos años están ayudando a esclarecer esta problemática y delimitar entidades específicas diferentes de otras que antes se incluían en el mismo grupo.

Presentamos el estudio clínico, histopatológico y genético de dos casos de distrofia muscular en dos hermanos sin otros antecedentes familiares previos.

Material y métodos

Caso 1

Lactante de 21 meses en el que se detecta en el estudio por crisis afebriles una CPK de 10.300 U/L.

Sección de Neurología Pediátrica. Servicio de Pediatría. Universidad Alcalá de Henares. H. «Ramón y Cajal». Madrid. *Departamento de Anatomía Patológica. H. «Ramón y Cajal». Madrid.

**Servicio de Genética. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Correspondencia: G. Lorenzo Sanz.

Sección de Neurología Pediátrica. Servicio de Pediatría, Hospital Ramón y Cajal, Ctra. de Colmenar, Km 9,100. 28034 Madrid.

Recibido: Agosto 1994

Aceptado: Mayo 1995

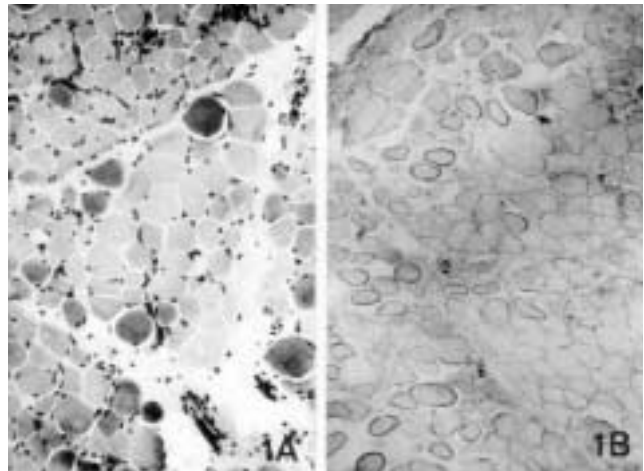


Figura 1. A. Biopsia muscular del caso 1. Se aprecia variabilidad de los tamaños de las fibras, fibrosis intersticial y fibras redondeadas hialinas (H-E, 100X). **B.** Con el anticuerpo Dys 1 (antidominio central) se observa variabilidad de tinción entre las fibras, destacando una tinción débil en la periferia de frecuentes fibras musculares (Inmunoperoxidasa, 100X).

Entre sus antecedentes personales destaca, tras un embarazo, parto y período neonatal normales, un ligero retraso en la adquisición de los hitos motores con marcha liberada a los 18 meses y fatigabilidad excesiva con el ejercicio. Había sufrido traumatismo craneal con fractura occipital cerrada a los 19 meses. La exploración física era normal a excepción de un soplo sistólico grado II/VI. En los exámenes complementarios realizados destaca, además de la elevación de la CPK, GOT: 202 U/L, GPT: 206 U/L, FA: 6.820 U/L y aldolasa: 12,6 U/L. En el EEG se observaron descargas bilaterales de morfología punta onda con mayor voltaje en el hemisferio izquierdo. El EMG (deltoides derecho) fue normal. Se realizó una TAC craneal en la que no se apreciaron alteraciones significativas y una RM cerebral en la que se evidenciaron alteraciones de señal en sustancia blanca profunda y subcortical tanto en densidad protónica como en T2. En la biopsia muscular se realizaron, además de las técnicas histológicas habituales, técnicas de inmunoperoxidasa con el método avidina-biotina⁽¹⁰⁾, aplicando los anticuerpos antidistrofina: Dys 1 (mid rod), Dys 2 (C-terminal) y Dys 3 (N-terminal) (Laboratorio Novocastra). En el examen histológico se objetivaron alteraciones miopáticas (Fig. 1A) y en el estudio inmunohistoquímico con anticuerpos antidistrofina se observó variabilidad de tinción inter e intrafibras, así como tinción débil

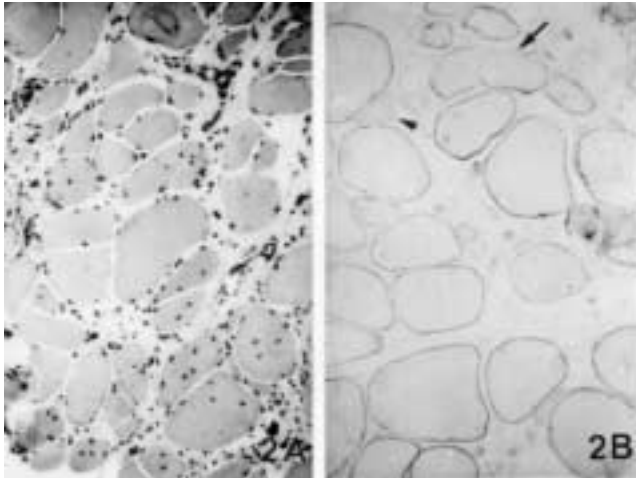


Figura 2. A. La biopsia muscular del caso 2 muestra marcada variabilidad de los tamaños de las fibras, frecuente centralización nuclear y extensa fibrosis intersticial (H-E, 100X). B. Tinción discontinua en la periferia de algunas fibras musculares (flecha) y aisladas fibras vegetativas (cabeza de flecha) con el anticuerpo Dys 3 (anti-amino-terminal) (Inmunoperoxidasa, 100X).

bil en gran número de fibras musculares (Fig. 1B). El patrón de inmunotinción fue similar con anticuerpos antiespectrina.

Caso 2

Mujer de 18 años, hermana del caso 1, que fue estudiada en otro centro por un cuadro de debilidad en cintura pélvica, hipertrofia de gemelos y amiotrofia de cuádriceps de inicio a los 8 años de edad. Se detectó una CPK de 2.000 U/L, el EMG mostraba un patrón miopático y la biopsia muscular era compatible con una distrofia muscular severa. Fue diagnosticada de DM autosómica recesiva. Evolucionó hacia una situación de incapacidad global, de predominio en cinturas, con pérdida de la marcha a los 14 años y deformidades esqueléticas.

En nuestro hospital se hizo una nueva biopsia muscular, que mostró signos de distrofia muscular severa (Fig. 2A). Con anticuerpos antidistrofina se observó tinción débil e irregular en la periferia de las fibras musculares, así como fibras con tinción parcial y ocasionales fibras negativas (Fig. 2B). El patrón de inmunotinción con la espectrina fue normal.

Otros dos hermanos y los padres eran clínicamente asintomáticos y con niveles de CPK normales.

Se realizó estudio molecular del gen de la DM de Duchenne⁽¹¹⁾, no observándose deleciones en ninguno de los dos casos, y estudio citogenético en la hermana que descartó anomalía numérica o estructural del cromosoma X.

También se analizaron los polimorfismos cromosómicos de los cromosomas 13 y 15 en los dos hermanos. Con respecto al cromosoma 13 los polimorfismos eran distintos, pero en el caso del 15 eran iguales en ambos (Fig. 3).

Discusión

Las DMC son un grupo de enfermedades heredofamiliares que

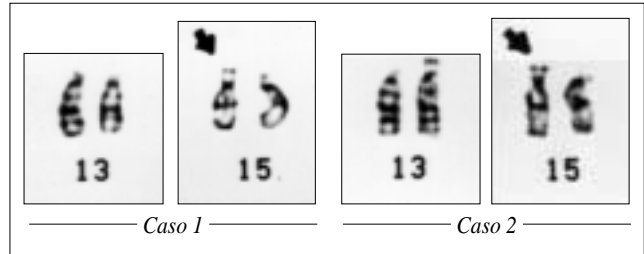


Figura 3. Comparación de polimorfismos cromosómicos en los dos casos: identidad en los polimorfismos satélites de los cromosomas 15 (flechas).

cursan con afectación muscular más proximal que distal y frecuente pseudohipertrofia muscular (20%). La expresividad clínica es muy variable, así como el grado de severidad. En las formas autosómicas recesivas se ha descrito una debilidad muscular progresiva que afecta a los músculos de ambas cinturas, iniciándose en la primera y segunda décadas de la vida. En aproximadamente la mitad de los casos, la debilidad se inicia en la musculatura de la cintura pélvica (tipo Leyden-Möbius) y en la otra mitad, en la cintura escapular (tipo Erb). Gradualmente la debilidad progresa y eventualmente todos los músculos del cuerpo pueden verse implicados, pero son los músculos de la cintura escapular o pelviana los más precoz y gravemente afectados^(1,7). La CPK está moderadamente aumentada, aunque puede estar tan elevada como en la DM de Duchenne⁽¹⁾.

La DMC autosómica dominante se caracteriza por un inicio más tardío de debilidad muscular y un curso más lentamente progresivo, no produciendo, generalmente, pérdida de la marcha. La clínica de debilidad se manifiesta en ambas cinturas, con predominio en extremidades inferiores. Los valores de CPK pueden estar leve o moderadamente elevados^(1,3).

En nuestros casos la presentación clínica con afectación de cinturas, preferentemente pélvica, la marcada elevación de la CPK, el curso severo en el caso más evolucionado (caso 2) y el patrón de herencia autosómica recesiva, orientan el diagnóstico hacia una distrofia muscular de cinturas tipo Leyden-Möbius.

Mediante estudios genéticos se ha demostrado heterogeneidad en las DM autosómicas recesivas⁽¹²⁾, en unos casos vinculadas al cromosoma 13⁽⁵⁾, y en otros casos al cromosoma 15⁽⁴⁾, aunque todavía no se ha identificado el gen responsable en ninguno de los dos cromosomas. La forma autosómica dominante se ha ligado al cromosoma 5⁽³⁾.

Aunque el patrón de herencia en nuestros casos orienta hacia una DM autosómica recesiva, se realizó estudio genético para valorar la presencia de deleciones del gen responsable de la DM de Duchenne en los dos pacientes, ya que el 50-70% de estos casos muestran deleciones detectables⁽¹²⁾. También se descartaron alteraciones estructurales o numéricas del cromosoma X en la hermana, ya que en algunas ocasiones se han descrito casos de DM de Duchenne en mujeres⁽¹³⁾, e incluso portadoras sintomáticas, si bien no con la clínica tan agresiva de nuestra paciente. Basándonos en el estudio citogenético del análisis de los polimorfismos de los cromosomas 13 y 15, demostrándose, como hemos visto, que eran idénticos para el cromosoma 15 y diferentes para el 13, pensamos que

nuestra familia presenta una DM de cinturas de transmisión autosómica recesiva probablemente ligada al cromosoma 15.

Actualmente, la teoría más aceptada sobre la patogenia de la necrosis muscular en las distrofinopatías, propone que la ausencia primaria de distrofina conduce a una marcada reducción secundaria de las proteínas asociadas a la distrofina (PADs), complejo oligomérico de 9 proteínas sarcolémicas que junto con la distrofina constituyen el punto de anclaje del citoesqueleto subsarcolémico a la matriz extracelular. La disrupción de esta cadena produciría inestabilidad de la membrana de la célula muscular, permitiendo el flujo masivo de calcio hacia el citosol y, en último término, la necrosis de la célula^(6,15-17).

En el caso de las DM con expresión normal de distrofina, los últimos descubrimientos acerca de la organización estructural del complejo distrofina-PADs orientan hacia la posibilidad de que un defecto primario en una de las PADs pudiera ser la causa de este tipo de distrofias. Hasta ahora se han comunicado dos formas de distrofia autosómica con anomalías en las PADs.

Una, la DMC con fenotipo Duchenne-like, conocida también como forma Norteafricana. En este tipo de distrofia existe un defecto marcado de la PAD-50 en estadios iniciales con distrofina normal, por lo que no se puede considerar un déficit secundario a la ausencia de distrofina^(5,12,15,17). En estos casos se ha demostrado que el resto de las PADs, incluida la distrofina, aparecen reducidas en las muestras musculares de pacientes con el fenotipo más severo. Es probable que esto ocurra de forma secundaria a la desestructuración del aparato distrofina-PADs y desestabilización de la membrana por la práctica ausencia primaria de la PAD-50^(15,17).

También en la DM congénita tipo Fukuyama se ha visto una reducción de la PAD-43, pudiendo además alterarse secundariamente la expresión de la distrofina^(15,16).

Es de reseñar la enorme trascendencia, desde el punto de vista diagnóstico, de los antecedentes familiares del caso 1; en el contexto aislado de un varón que inicia síntomas de debilidad muscular de forma tan precoz y con valores séricos de CPK tan elevados, la principal sospecha diagnóstica recae en la DM tipo Duchenne. De hecho, son varias las revisiones que inciden en este hecho y el índice de error diagnóstico cuando éste residía en la clínica, en la época previa al descubrimiento de la distrofina, no es en modo alguno despreciable^(8,9).

La existencia de alteraciones semejantes con la distrofina y espectrina en el caso 1, y el hecho de que hasta ahora no se hayan comunicado anomalías de la distrofina en la DMC ligada al cromosoma 15, aconsejan una interpretación cautelosa de los hallazgos inmunohistoquímicos en nuestros dos casos. Ya que es posible que se deban a artefactos por una alteración secundaria de la membrana de las fibras musculares.

No obstante, el descubrimiento de defectos primarios del complejo proteico asociado a la distrofina en otras enfermedades no ligadas al Xp21, previamente citadas, debe llevar a mantener una actitud flexible ante hallazgos de difícil interpretación como los nuestros. Cabe resaltar la limitación que en estos casos dudosos supone la realización aislada del estudio inmunohistoquímico de la distrofina en ausencia de otros estudios complementarios, que no hemos

podido realizar, como el Western-blot y el análisis con anticuerpos frente al complejo distrofina-glicoproteína. Por tanto, pensamos que en la actualidad para un correcto diagnóstico diferencial de las DM es necesario el estudio inmunohistoquímico tanto de la distrofina como de las PADs, así como el Western-blot y, en último término, los estudios genéticos. Con la realización de estas técnicas será mucho más exacto el diagnóstico de las DM, con las importantes implicaciones que esto conlleva para el consejo genético.

Bibliografía

- 1 Jerusalem F, Sieb JP. The limb girdle syndromes. *Handbook of Clinical Neurology* 1992;**18**:179-195.
- 2 Aparicio Meix JM. Distrofias musculares, miopatías congénitas y síndromes miotónicos. *Medicine* 1994;**6**:2339-2350.
- 3 Speer MC, Yamaoka LH, Gilchrist JH, Gaskell CP, Stajich JM, Vance JM, Kazantsev A, Lastra AA, Haynes CS, Beckmann JS, Cohen D, Webwe JL, Roses AD, Pericak-Vance MA. Confirmation of genetic heterogeneity in limb-girdle muscular dystrophy: linkage of an autosomal dominant form to chromosome 5q. *Am J Hum Genet* 1992;**50**:1211-1217.
- 4 Youngk, Foroud T, Williams P, Jackson CE, Beckmann JS, Cohen D, Conneally PM, Tischfield Hodes ME. Confirmation of linkage of limb-girdle muscular dystrophy type 2 to chromosome 15. *Genomics* 1992;**13**:1370-1371.
- 5 Azibi K, Bachner L, Beckmann JS, Matsumura K, Hamouda E. Severe childhood autosomal recessive muscular dystrophy with the deficiency of the 50 kDa dystrophin-associated glycoprotein maps to chromosome 13q12. *Hum Mol Genet* 1993;**2**:1423-1428.
- 6 Padberg GW. The muscular dystrophies and dystrophin. *Current Science* 1993;**6**:688-694.
- 7 Brakley WG. The limb-girdle syndromes. *Handbook of Clinical Neurology* 1979;**40**:433-469.
- 8 Arikawa F, Hoffman EP, Kaido M, Nonaka I, Sugita H, Arahata K. The frequency of patients with dystrophin abnormalities in a limb-girdle patient population. *Neurology* 1991;**41**:1491-1496.
- 9 Norman A, Coakley J, Thomas N, Harper P. Distinction of Becker from limb-girdle muscular dystrophy by means of dystrophin cDNA probes. *Lancet* 1989;**4**:466-468.
- 10 Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;**29**:577-589.
- 11 Villamar López M, Fernández García A, Ramos Corrales C, Benítez Ortiz J. Estudio del gen de la distrofia muscular de Duchenne mediante análisis con PCR. *An Esp Pediatr* 1993;**38**:7-9.
- 12 Passos-Bueno MR, Oliveira JR, Bakker E, Anderson RD, Marie SK. Genetic heterogeneity for Duchenne-like muscular dystrophy (DLMD) based on linkage and 50 DAG analysis. *Hum Mol Genet* 1993;**2**:1945-1947.
- 13 Aicardi J. Diseases of the nervous system in childhood, 1ª ed. Oxford/New York: *Mac Keith Press* 1992;1172-1182.
- 14 Maytall J, Shanske AL, Fox JE, Lipper S, Eviatar L. Duchenne muscular dystrophy in a girl identified by dystrophin deficiency. *Neuropediatrics* 1991;**22**:163-165.
- 15 Matsumura K, Campbell KP. Dystrophin glycoprotein complex: its role in the molecular pathogenesis of muscular dystrophies. *Muscle Nerve* 1994;**17**:2-15.
- 16 Matsumura K, Nonaka I, Campbell KP. Abnormal expression of dystrophin-associated proteins in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Lancet* 1993;**341**:521-522.
- 17 Matsumura K, Tome FMS, Collin H, Azibi K, Chaouch M, Kaplan JC, Fardeau M, Campbell K. Deficiency of the 50k dystrophin-associated glycoprotein in severe childhood autosomal recessive muscular dystrophy. *Nature* 1992;**320**: