



Neurología Argentina

www.elsevier.es/neurolarg



Biopsia muscular en miopatías congénitas y distrofias musculares

Ana Lia Taratuto

Departamento de Neuropatología, Instituto de Investigaciones Neurológicas, Fundación para la Lucha contra las Enfermedades Neurológicas de la Infancia (FLENI). Consultora en Neuropatología y Enfermedades Neuromusculares. Hospital Nacional de Pediatría J.P. Garrahan. Buenos Aires. Argentina.

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 12 de octubre de 2010

Aceptado el 19 de noviembre de 2010

Palabras clave:

Miopatías congénitas
Distrofia muscular
Biopsia muscular
Algoritmo diagnóstico
Inmunohistoquímica

RESUMEN

Introducción. Se efectúa una revisión de los aspectos fundamentales clínicos y de biopsia muscular de las miopatías congénitas, distrofias congénitas y distrofia muscular de cintura. **Objetivo.** El objetivo no es una mera descripción de clínica y patologías bien establecidas y conocidas o bien accesibles en la bibliografía, sino recalcar el abordaje diagnóstico mediante la biopsia muscular con el objetivo de orientar la investigación genética.

Desarrollo. Dentro de las miopatías congénitas se plantea la adecuada caracterización de cada entidad mediante el estudio morfológico, histoquímico y ultraestructural. Existe marcada heterogeneidad genética dentro de cada entidad morfológica y las mutaciones de un mismo gen pueden causar diferentes patologías. En la miopatía nemalínica existen numerosos genes involucrados, lo que hace más compleja la investigación genética. En etapas precoces el diagnóstico por biopsia puede no ser concluyente y ser necesario rebiosar debido a la progresión de las alteraciones morfológicas. La heterogeneidad clínica y morfológica aun en el seno de la misma familia, como en el Central Core, así como la existencia de casos en el adulto que plantean diagnóstico clínico diferencial con distrofias de cintura, representan dificultades diagnósticas adicionales. Se señala el importante aporte de algunas observaciones morfológicas, histoquímicas y ultraestructurales en miopatía centronuclear en el sentido de facilitar una orientación genética.

En las distrofias musculares se destaca la importancia de la elección del músculo a biopsiar, que debe ser indicado por el neurólogo, en algunas circunstancias basado en las observaciones de la resonancia magnética. Se sugiere la actualización permanente consultando la tabla de genes y se señala el algoritmo diagnóstico con técnicas de inmunohistoquímica y Western Blot (WB). Se intenta simplificar la clasificación de distrofia muscular congénita según presenten o no afectación del sistema nervioso central (alteración de la sustancia blanca o trastornos de migración neuronal).

En algunas distrofias, tales como el Emery-Dreifuss por déficit de lamina, la forma FHL1 y la distrofia facioescapulohumeral, es fundamental el rol del neurólogo, dado que no se puede arribar a un diagnóstico siguiendo el algoritmo inmunohistoquímico y de WB. Se señalan las distrofias que pueden tener una presentación clínica tipo metabólica como distrofinopatías, sarcoglicanopatías, FKRP y déficit de calpaína y las que presentan infiltrado inflamatorio en la biopsia muscular, tales como déficit de merosina, déficit de disferlina, déficit de lamina A/C y FSH. Por último, se plantea la utilidad de la identificación por microscopía electrónica de entidades que deberían ser enviadas a biopsiar con diagnóstico presuntivo basado en el interrogatorio clínico exhaustivo.

Conclusiones. Si bien el patólogo es el que efectúa el abordaje diagnóstico de la biopsia muscular, el neurólogo tiene un rol esencial en orientar este estudio, discutir el caso con el patólogo e indicar el estudio genético.

© 2010 Sociedad Neurológica Argentina. Publicado por Elsevier España, S.L.

Todos los derechos reservados.

Correo electrónico: ataratuto@fleni.org.ar

Muscle biopsy in congenital myopathies and muscular dystrophies

A B S T R A C T

Keywords:

Congenital myopathies
Muscular dystrophy
Muscle biopsy
Diagnosis algorithm
Immunohistochemistry

Introduction. This is a review of the main clinical and muscle biopsy aspects in congenital myopathies, congenital dystrophies and limb girdle muscular dystrophy.

Objective. The objective is not a description of well-known diseases but to emphasize a diagnostic approach through muscle biopsy findings in order to orientate the genetic investigation.

Development. In the field of congenital myopathies and adequate characterization of each disease can be achieved with the morphological, histochemical and ultrastructural studies. There is genetic heterogeneity within each morphological entity and the same gene may be involved in different diseases. In nemaline myopathy genetic findings are more complex because there are many genes responsible of the same disease. Biopsy diagnosis may not be conclusive in early biopsies due to the progression of morphological changes, thus it may be necessary to repeat the muscle biopsy some months or years later. In Central Core Disease there may be clinical and morphological heterogeneity, even within members of the same family and some cases in adults may be interpreted from the clinical point of view as limb girdle muscle dystrophy. Morphological, histochemical and ultrastructural observations in centronuclear myopathy may be useful for genetic orientation.

In muscular dystrophies, the election of the muscle for biopsy is of main importance and the neurologist should in occasions ask for an MRI for this purpose in order to choose a muscle not replaced by fatty tissue. In order to be updated gene table consultation is advisable; an immunohistochemical algorithm as well as Western Blot is proposed. Congenital muscular dystrophy classification is simplified, considering those with no central nervous system involvement and those with white matter changes or abnormal neuronal migration.

In some limb girdle dystrophies such as Emery Dreifuss and FSH, the neurologist has a main role in the identification of the phenotype, because the muscle biopsy diagnostic algorithm performed for other muscular dystrophies doesn't help to arrive to a correct diagnosis.

Some muscular dystrophies may have a metabolic presentation such as dystrophinopathies, sarcoglycanopathies, FKRP and calpainopathies. Other muscular dystrophies may have prominent inflammatory infiltration in the biopsy, such as dysferlin deficiency, lamin/C deficiency and FSH.

Electron microscopy may be extremely helpful in some entities.

Conclusion. Although the pathologist does the diagnostic approach through the muscle biopsy, the neurologist has an essential role in the orientation of this study, discussion with the pathologist as well as genetic advise.

© 2010 Sociedad Neurológica Argentina. Published by Elsevier España, S.L.
All rights reserved.

Miopatías congénitas

Son patologías de origen genético; algunas se conocen desde hace más de 50 años por descripción clínica y de biopsia muscular, caracterizadas por cambios histoquímicos y ultraestructurales distintivos en la biopsia. Presentan en general predominio histoquímico de fibras tipo I en ocasiones asociado a hipotrofia/atrofia de fibras tipo 1. En la última década los avances en la investigación genética molecular de estas patologías han demostrado que existe marcada heterogeneidad genética en cada entidad morfológica, y a su vez las mutaciones de un mismo gen pueden causar diferentes patologías dentro de las miopatías congénitas¹.

Son lentamente progresivas con tendencia a estabilizarse, el diagnóstico puede ser no conclusivo en la biopsia en etapas

precoces y ser necesario rebiopsiar al paciente dado que puede existir progresión de las alteraciones morfológicas.

La presentación clínica es en la mayoría de los casos con hipotonía congénita o en los primeros años de vida con debilidad muscular, retraso en pautas motoras, compromiso facial (paladar ojival, hipomimia). Puede existir debilidad bulbar con problemas en la alimentación y riesgo de aspiración, así como problemas respiratorios. Suelen desarrollar contracturas progresivas y escoliosis. Algunas son lentamente progresivas y suelen estabilizarse con los años. La CPK es normal o moderadamente elevada. El desarrollo intelectual suele ser normal. Excepcionalmente el curso puede ser rápido y fallecer de insuficiencia respiratoria o cardíaca.

La biopsia muscular con histoquímica y microscopia electrónica es esencial para el diagnóstico. En ocasiones la reso-

nancia magnética (RM) de miembros puede contribuir en ese sentido.

El interés esencial de esta revisión no es el hacer una descripción detallada de patologías bien conocidas sino destacar algunos aspectos, tales como:

- La heterogeneidad clínica y morfológica que se puede presentar en una misma familia, especialmente en pacientes adultos que pueden ser casi asintomáticos.
- Las dificultades que se pueden plantear en la identificación genética en las miopatías nemalínica y centronuclear, entre otras.
- La existencia de cambios morfológicos progresivos en biopsias sucesivas en algunas miopatías congénitas.
- La existencia de casos de adultos en los que se plantea clínicamente el diagnóstico diferencial con distrofias de cintura.

Constituye el grupo 3 de la tabla de genes².

Se enumeran sólo las más clásicas y fundamentales sobre las que existe amplia experiencia clínica, histoquímica, ultraestructural y genética.

Miopatía nemalínica (NEM)

- **NEM 1, herencia AD, cromosoma (cr) 1q21.2, gen/símbolo TPM3, proteína: tropomiosina 3**
- **NEM 2, herencia AR, cr 2q22, gen/símbolo NEB, proteína: nebulina**
- **NEM 3, herencia AD y AR, cr 1q42.1, gen/símbolo ACTA 1, proteína: actina α -1**
- **NEM 4, herencia AD, cr 9p13, gen/símbolo TPM2, proteína: tropomiosina 2**
- **NEM 5, TPM3M 5, herencia AR, cr 19q13, gen/símbolo TNNT1, proteína: troponina T tipo 1**
- **NEM 6, herencia AD, cr 15q, gen/símbolo ?, proteína ?; NEM 7, herencia AR, cr 14q12, gen/símbolo: CFL2, proteína: cofilina 2**

Todos los genes responsables codifican para proteínas componentes de los filamentos finos del sarcómero, como α -y β -tropomiosina, troponina T, nebulina y α -actina del citoesqueleto o bien las que regulan el recambio de los filamentos finos como la cofilina que regula la despolimerización de la actina. Los bastones o *rods* característicos de esta entidad se disponen a nivel subsarcolemal y menos frecuente intranuclear y son detectables con tricrómico de Gomori de color rojizo y a nivel ultraestructural como material bastonoide osmífilo denso. Son reactivos para la α -actinina, y relacionados con la banda Z en continuidad con los filamentos de actina. Resultarían de la disrupción del sarcómero o modificaciones de los filamentos finos con acumulación de componentes sarcoméricos adoptando aspecto de *rods*¹. Los *rods* pueden comprometer las fibras tipo 1 o bien ambos tipos de fibras; la cantidad de *rods* en diferentes músculos del mismo paciente puede variar y no tener correlación con la severidad del cuadro. Miembros asintomáticos de familias afectadas pueden presentar sólo predominio 1 sin *rods*.

Además de hipotonía congénita y de debilidad muscular generalizada, presentan compromiso facial con paladar ojival. Ocasionalmente puede haber deformidades esqueléticas y articulares, así como formas neonatales asociadas a artrogriposis múltiple, de muy baja incidencia, a veces letales, en general por mutaciones de Acta 1. En el curso de la miopatía pueden presentar escoliosis, insuficiencia respiratoria y cardíaca. Existirían por lo tanto casos de aparente comienzo en la niñez, edad juvenil o adulta, y formas con cardiomiopatía y oftalmoplejía³.

Mutaciones dominantes en β -tropomiosina pueden determinar desorganización de miofibrillas y engrosamiento de la banda Z característicos de *cap disease*⁴.

Desproporción congénita en tipos de fibras (CFTD)

- **CFTD, herencia AD, cr 1q42.1, gen/símbolo ACTA1, proteína: actin α -1 (alélica a NEM3)**
- **CFTD, herencia AR, cr 1p36, gen/símbolo SEPN1, proteína: selenoproteína N1 (alélica a RSMD1 y multiminicore)**
- **CFTD, herencia AR, cr 1q21.2, gen/símbolo TPM3, proteína tropomiosina (alélica a NEM1)**

No está aún incluida en la tabla de genes 2010 la forma por mutación RyR1⁵, alélica de *central core disease* y *multiminicore disease*.

La CFTD, caracterizada por atrofia de fibras tipo 1, fue originalmente descrita por Brooke en 1973⁶ como hipotonía congénita con fibras tipo 1 pequeñas o hipotróficas y relativo buen pronóstico. Se requiere por lo menos un 12% de diferencia entre los dos tipos de fibras. Si bien originalmente se interpretó como una entidad, la existencia de un patrón similar y el hecho que comparte genes con otras miopatías congénitas sugiere la importancia de efectuar biopsias secuenciales para mejor la caracterización en algunos casos⁷.

Miopatías centronucleares

El concepto de miopatía miotubular y centronuclear, al igual que otras miopatías congénitas, se conoce desde hace más de 44 años por las descripciones clínicas y de biopsia, histológicas y ultraestructurales^{8,9}.

Basado en el conocimiento actual sobre la función de los genes de la forma recesiva ligada al X y de las otras formas de centronuclear, las miopatías centronucleares tendrían en común un defecto en endocitosis y tráfico de membranas¹.

Miopatía miotubular (MTM)

- **MTM1, herencia XR, cr Xq28, gen /símbolo MTM1, proteína miotubularina**

El gen codifica una tirosinfosfatasa o miotubularina que desfosforila el lípido segundo mensajero fosfatidil-inositol 3 fosfato con efecto potencial durante la miogénesis.

Es probablemente la forma más severa de miopatía congénita. El diagnóstico es relativamente sencillo a nivel óptico y

ultraestructural, con presencia de fibras redondas pequeñas que recuerdan los miotubos de la vida fetal y núcleos centrales. La concentración central de enzimas oxidativas mitocondriales entre los núcleos y un halo más claro periférico plantea el diagnóstico diferencial con Steinert neonatal. El músculo puede ser indiferenciado o diferenciado en ambos tipos de fibras con hipotrofia de fibras tipo 1. Presentan en general historia de hidramnios materno y abortos previos.

Comienza durante el período fetal, con disminución de los movimientos intrauterinos. Al nacer se observa hipotonía severa y falta de movimientos espontáneos, frecuente contractura de cadera y rodilla, compromiso facial y limitación de movimientos extraoculares. El deceso ocurre a los pocos días o semanas o bien durante el primer año de vida por insuficiencia respiratoria. Las madres portadoras heterocigotas son generalmente asintomáticas o bien pueden presentar debilidad de cintura, cifoscoliosis, debilidad facial y disartria por expresión anormal en la distribución de la miotubularina. Esto debe ser considerado en el diagnóstico diferencial clínico de las distrofias de cintura¹⁰. La miopatía miotubular en algunos pacientes puede no ser progresiva y compatible con larga sobrevida¹¹.

En algunos casos el diagnóstico no se define en la primera biopsia y pueden necesitarse biopsias secuenciales en el tiempo hasta observar una definida hipotrofia de fibras tipo 1 y un incremento en el porcentaje de núcleos centrales que permita el diagnóstico morfológico y oriente el genético molecular^{12,13}.

Casos severos que remedan clínica y morfológicamente a esta miopatía, en nuestra experiencia, pueden corresponder a miopatía centronuclear por mutación del gen de la dinamina¹⁴.

Miopatía centronuclear (CNM)

- **CNM, herencia AD, cr 19p.13.2, gen/símbolo DNM2, proteína: dinamina 2 (alélica a una forma de neuropatía DICTTB [grupo 14 de tabla de genes 2010])**
- **CNM, herencia AR, cr 3p25.3, gen/símbolo MTMR14, proteína asociada a la miotubularina 14 (humpy)**
- **CNM, herencia AR, cr 2q14, gen/símbolo BIN1, proteína anfifisina**

La dinamina 2 es una GTPasa involucrada en la endocitosis, tráfico de membranas, ensamblaje de actina y cohesión del centrosoma.

La anfifisina 2 (BIN1) está involucrada en el remodelamiento de membranas, interactúa con la dinamina 2 y tiene un rol en la organización de los túbulos T que se considera estarían alterados en la miopatía miotubular ligada al X.

La recientemente identificada proteína asociada a la miotubularina 14 (humpy) es una fosfatasa que interactúa con los mismos sustratos que la miotubularina; podría actuar en la regulación del nivel de los fosfoinosítoles en el músculo esquelético y sería un gen candidato para la forma autosómica centronuclear¹.

En la miopatía centronuclear, los núcleos centrales comprometen del 35 al 90% de las fibras, en general tipo 1, y se

suelen asociar a predominio e hipotrofia 1. Las biopsias secuenciales muestran una migración nuclear posnatal hacia el centro de las fibras. Los músculos extraoculares suelen estar involucrados y existe heterogeneidad clínica con comienzo neonatal o comienzo tardío con curso lentamente progresivo.

Los características clínicas de la CNM relacionada con DNM2, de la que existe mayor cantidad de casos reportados, se caracteriza por ptosis, debilidad facial, oftalmoplejía y debilidad muscular lentamente progresiva con compromiso de cintura. En algunos casos puede haber signos de neuropatía con características fenotípicas tipo DNM2. La RM puede contribuir en el diagnóstico diferencial con otras miopatías. La biopsia puede ocasionalmente mostrar cambios distróficos^{15,16}, y excepcionalmente se han comunicado alteraciones mitocondriales asociadas¹⁷. Formas severas de comienzo neonatal que plantearon diagnóstico diferencial con miotubular fueron identificadas entre nuestros casos como mutaciones de novo en el exón 16 en el dominio homólogo a la plekstrina (PH) del gen de la dinamina¹⁴.

Una reciente revisión sobre miopatías centronucleares presenta un importante aporte en el sentido de orientar el estudio genético molecular basándose en aspectos morfológicos, histológicos e histoquímicos y ultraestructurales¹⁸. En las CNM dominante relacionada con DNM2 se describe:

- Significativa centralización e internalización nuclear (la centralización es mayor que la internalización).
- Aspecto típico de estrías sarcoplásmicas radiadas evidentes con NADH-TR y microscopía electrónica.
- Predominio histoquímico de fibras tipo 1 y menores diámetros de las mismas.

El aspecto de estrías sarcoplásmicas puede no observarse en casos de comienzo precoz. En la forma recesiva relacionada con BIN1, aunque son escasos los casos descritos, existiría una población homogénea de fibras 1 hipotróficas con núcleos centrales en forma de pequeño grupo o paquetes, incremento en tejido conectivo o reemplazo adiposo. Las fibras en collar, o *necklace*, se observan en la forma MTM1 esporádica de comienzo tardío con síntomas leves en la niñez y progresión en la segunda y tercera décadas de la vida¹⁹. Se caracterizan por la presencia de un anillo basófilo evidente en la fibra muscular en corte transversal, siguiendo el contorno de la célula en la que los núcleos están alineados (evidentes con hematoxilina eosina y con SDH). A nivel ultraestructural en la zona del collarite las miofibrillas presentan menor diámetro. Este aspecto morfológico difiere de los casos en los que, además de observarse internalización y centralización del núcleo, existen áreas de desorganización de la estructura miofibrilar sin límites netos. Se calcula que alrededor de la mitad de estos pacientes tendría formas AR relacionadas con el gen RYR1.

Miopatías por cores

Las mutaciones del gen RYR1 que codifica el receptor de la rianodina del músculo esquelético causan la miopatía congé-

nita *central core disease* (CCD), de la cual existen formas de transmisión autosómica dominante (AD) y autosómica recesiva (AR), y la susceptibilidad a la hipertermia maligna (MHS), una enfermedad farmacogenética AD. En la secuencia del gen *RYR1* se distinguen tres puntos *hot spot*, que son los principales sitios de localización de las mutaciones: dos sectores en el gran dominio hidrofílico de *RyR1* (N-terminal y la zona media FKBP12) y uno en el dominio hidrofóbico o C-terminal (segmento transmembrana del canal cálcico). Las mutaciones asociadas a la hipertermia maligna se encuentran preferentemente localizadas en los dos primeros dominios (N-terminal y FKBP12). La mayoría de las mutaciones heterocigotas dominantes que causan CCD se asignan al dominio C-terminal, mientras que las mutaciones recesivas en CCD y MMC son distribuidas ampliamente a lo largo de la secuencia *RyR1*, incluso entre los diferentes *hot spot*.

Central core

- CCD, herencia AD, cr 19q13.1, gen/símbolo *RYR*, proteína receptor a la rianodina
- CCD (transitorio miopatía multiminicore), herencia AR, cr 19q13.1, gen/símbolo *RyR1*, proteína receptor a la rianodina (ambas alélicas entre sí y a *MHS1* [grupo 8 tabla de genes 2010])

La CCD, la primera de las miopatías congénitas en ser identificada, fue inicialmente descrita en 1956²⁰. Destacan en la biopsia con histoquímica, en las fibras tipo 1, áreas de defecto oxidativo (evidentes con SDH, NADH-TR y COX) redondeadas bien delimitadas, centrales o excéntricas en número de una o más por fibra. Ocasionalmente se pueden detectar con ATPasa. A nivel ultraestructural no se detectan mitocondrias en el área del core, y presentan alteración en el sarcómero con aspecto zigzagueante de banda Z que se extiende abarcando varios sarcómeros a lo largo de la fibra muscular. Existe marcada heterogeneidad en el seno de la misma familia, e incluso puede existir uniformidad de fibras tipo 1 sin cores en algunos miembros. La RM ha demostrado ser de utilidad en la caracterización del tipo de compromiso en esta patología, independientemente de la variabilidad de los hallazgos patológicos²¹.

Hipotonía congénita, debilidad y retardo en adquirir pautas motoras, así como dislocación congénita de cadera, son características clínicas en esta entidad. Excepto algunos casos severos, es en general no progresiva o lentamente progresiva, e incluso en las familias afectadas puede haber miembros asintomáticos. En ese sentido tuvimos oportunidad de estudiar a través de los años cuatro generaciones de una forma de herencia dominante (Exon101-A4846P-p.Ala4846Pro, N. Monnier, Lunardi, Grenoble, Francia). La primera paciente derivada por el Dr. Dubrovsky, hace aproximadamente 35 años, tenía 2 años en el momento de la biopsia, presentaba hipotonía y dislocación congénita de cadera. La biopsia muscular presentó músculo indiferenciado y 100% de cores centrales. Su madre y su abuela materna eran asintomáticas, y como único antecedente no practicaba deportes la primera y le costaba levantarse de sillones profundos a la segunda. Ambas presen-

taban en la biopsia músculo diferenciado en tipos de fibras 1 y 2 con el 45% de cores excéntricos en fibras tipo 1. En 2003 estudiamos en el Hospital Garrahan a la sobrina de la primera paciente, de 2 años de edad, hipotonía congénita y cores excéntricos en la biopsia. Su padre, portador de la mutación al igual que los otros miembros de la familia, es prácticamente asintomático y su tía (nuestra primer paciente) evolucionó muy favorablemente y tiene dos hijos aparentemente asintomáticos. Esta observación no es infrecuente en familias con herencia dominante de CCD²².

Existen miopatías a cores y rods con mutación del gen *RyR1* que en la edad adulta pueden semejar clínicamente una distrofia de cintura. La biopsia muscular detecta a nivel histológico, histoquímico y ultraestructural las alteraciones características.

Multiminicore

- MMC con oftalmoplejía externa, herencia AR, cr 19q13.1, gen/símbolo *RyR1*, proteína: receptor de la rianodina (alélica a CCD y a *MHS1*)
- MMC forma clásica, herencia AR, cr 1p36, gen/símbolo *SEPN1*, proteína: selenoproteína N1 (alélica a *RSMD1*)

Se caracteriza morfológicamente por presentar en la biopsia múltiples pequeñas áreas de desorganización sarcomérica con falta de actividad oxidativa y un porcentaje variable de núcleos centrales, afectando ambos tipos de fibras con predominio e hipotrofia tipo 1 o bien músculo indiferenciado tipo 1²³. Las características de la biopsia en el contexto clínico de una miopatía congénita permitieron su identificación y caracterización, al igual que otras miopatías congénitas, precediendo en décadas a los estudios moleculares²⁴. En algunos casos es necesario efectuar biopsias musculares secuenciales en el tiempo hasta detectar los cambios ópticos y ultraestructurales característicos que permiten hacer diagnóstico y orientar el estudio genético. En ese sentido estudiamos una joven nacida hipotónica, con escaso control cefálico al nacer, compromiso facial con paladar ojival, que adquirió deambulación a los 4 años y 8 meses, hiperlaxitud ligamentaria, más evidente en la mano, y debilidad axial. La biopsia (bíceps) efectuada a los 14 meses de edad sólo mostró alteraciones inespecíficas; a los 2 años, en la biopsia de cuádriceps no se detectó atrofia selectiva ni predominio 1, y sólo un minicore a nivel ultraestructural, mientras que a los 15 años (cuádriceps) presentó atrofia selectiva de fibras tipo 1, 18% de fibras con núcleos internos, y múltiples minicores en el 10% de las fibras atroficas. Posteriormente desarrolló escoliosis e insuficiencia respiratoria. Se descartó *SEPN1*, y la paciente resultó heterocigota compuesta en el gen *RyR1*²⁵. Se debe ser cuidadoso en la interpretación de alteración aislada ultraestructural del sarcómero tipo minicore, dado que se puede observar en distintas situaciones no necesariamente relacionadas con la entidad que describimos²⁶.

En lo que respecta a la clínica, se conoce una forma clásica que permanece estable en la mayoría de los casos con debilidad de la musculatura axial, escoliosis e insuficiencia respiratoria, con tendencia a la hiperlaxitud de articulaciones. La

forma oftalmopléjica se asocia a debilidad generalizada y severa debilidad facial; la forma de comienzo precoz, con artrogriposis, y la lentamente progresiva, con debilidad y amiotrofia de las manos. El compromiso faringolaríngeo, pérdida del control cefálico así como defectos septales cardíacos y cardiomiopatía han sido también descritos²⁷⁻³⁰.

Genéticamente se describe un subtipo por mutación del RyR1 alélica a CCD, y otro por mutación de SEPNI alélica a la DMC tipo síndrome de espina rígida en el que el compromiso respiratorio y la escoliosis serían más prominentes. La selenoproteína N tendría un rol en la protección de las células contra el estrés oxidativo³¹.

A estas formas clásicas de miopatía congénita se han incorporado otras de más reciente descripción².

Distrofias musculares

Las distrofias musculares, clínicamente identificables por debilidad muscular de distintos grupos musculares de grado variable y CK elevada, se caracterizan por presentar en la biopsia muscular fibras de contornos redondeados con signos de degeneración, necrosis, macrofagia, regeneración y fibrosis endomisial y perimisial. La elección del músculo a biopsiar —en general el deltoides, el bíceps o el cuádriceps— es de fundamental importancia.

Se debe evitar biopsiar los músculos con atrofia avanzada, que pueden mostrar lipomatosis de reemplazo o bien muy escasas fibras musculares remanentes, dado que además de técnicas histológicas e histoquímicas en cortes de criostato de tejido congelado en isopentano en nitrógeno líquido (que constituyen rutina en biopsia muscular), se debe efectuar estudios complementarios con técnicas inmunohistoquímicas para identificar la proteína deficiente y Western Blot (WB) en el material de reserva en nitrógeno líquido o congelado a -80°C . En ese sentido, el neurólogo que solicita la biopsia debe elegir el músculo a biopsiar y no dejar la elección al cirujano. En casos de escaso compromiso o de compromiso muscular avanzado, la RM e incluso la ecografía pueden ser de utilidad en la elección del músculo a biopsiar. En algunas circunstancias (p. ej., miopatías distales) puede ser necesario biopsiar un músculo distal si la biopsia de deltoides, del bíceps o del cuádriceps no muestran compromiso evidente.

Desde el descubrimiento del gen de la distrofina en 1986 y de la proteína en 1987, se han identificado una cantidad importante de genes y proteínas, con la consecuente complejidad en la clasificación y el diagnóstico de la biopsia, que deben complementarse con el estudio genético molecular. A la clasificación se puede acceder en internet (<http://www.musclegenetable.org>) y se publica actualizada periódicamente en la revista *Neuromuscular Disorders*², incluyendo nombre; tipo de herencia: recesiva ligada al X (XR), AD o AR; símbolo del gen —p. ej., DMD (distrofia muscular de Duchenne)— y número de OMIM; proteína deficiente; referencias claves y otras patologías alélicas.

En esta revisión se efectúan sólo algunas consideraciones y reflexiones en relación al abordaje diagnóstico de la biopsia muscular; el algoritmo inmunohistoquímico y de WB necesario para llegar a un diagnóstico; las dificultades diagnósticas

que plantean algunos tipos de distrofias, especialmente en las que no se puede individualizar la proteína deficiente porque se expresa el alelo no mutado; la importancia de la correlación con el fenotipo clínico; y el rol de la microscopia electrónica en algunos casos (no se incluyen todas las miopatías; p. ej., miopatías distales, miopatías miofibrilares tipo miotilino patía, α - β -cristalinopatía, filaminopatía, ZASP, por defecto de BAG 3, etc.), todas AD en las que no se puede identificar por inmunohistoquímica la proteína deficiente, dado que merecen un capítulo aparte por su complejidad inmunohistoquímica y ultraestructural³²⁻³⁴, ni algunas distrofias tales como distrofia miotónica 1 y 2, que además de no poder identificarse por inmunohistoquímica aunque presentan algunas características histológicas e histoquímicas particulares, deben ser identificadas esencialmente por clínica y EMG.

Distrofia muscular congénita

La forma de herencia es AR, con la excepción de la enfermedad de Bethlem, que puede ser AD aunque se describe una forma AR.

La presentación clínica es desde el nacimiento con hipotonía congénita, elevación de CK y biopsia muscular de características distróficas con variaciones de diámetro de las fibras, signos de degeneración y regeneración y fibrosis endomisial y perimisial.

Desde el descubrimiento de la deficiencia de merosina o α -2-laminina de la cadena de merosina (LAMA2), proteína de la matriz extracelular, por Tomé et al³⁵ facilitando así la identificación inmunohistoquímica de esta proteína, se avanzó en la clasificación de las distrofias congénitas.

Consideramos que en vez de reproducir aquí la tabla de genes de las DMC, con el objeto de hacerlo más accesible, las clasificaremos básicamente en dos grandes grupos según que presenten o no compromiso del sistema nervioso central (SNC).

Las que no presentan compromiso del SNC y la RM de cerebro es normal son esencialmente merosina positivas, entre las que se encuentran:

- El síndrome de Ullrich (UCMD) y la enfermedad de Bethlem (BM) (Col 6, cr 21, 2) por defecto de colágeno VI, proteína de la membrana basal y matriz extracelular localizada en el perimisio y endomisio con evidente inmunotinción en la membrana basal sarcolemal de la fibra muscular. Existe la posibilidad de efectuar diagnóstico prenatal por la investigación inmunohistoquímica de las vellosidades coriales³⁶.
- El UCMD es clásicamente reconocido como DMC con severa debilidad muscular, contracturas proximales e hiperlaxitud distal de herencia recesiva y el BM de herencia dominante, compromiso leve, debilidad proximal, contracturas distales y CK normal o poco elevada. Actualmente se reconoce que forman parte de un espectro clínico con fenotipos intermedios y herencia variable. Una presentación congénita no excluye un diagnóstico de BM. Se ha establecido una relación fenotipo/genotipo. Existen formas recesivas de Ullrich, dominantes y recesivas de Bethlem, así como dominantes de novo. Existe un tipo intermedio de comienzo precoz pero

curso lentamente progresivo sin fenotipo característico de UCMD o de BM. El espectro comprende un grado variable de compromiso motor e insuficiencia respiratoria. Algunos pacientes nunca deambulan, y otros de evolución moderadamente progresiva presentan deformidades proximales o axiales al nacimiento, aunque algunos de estos últimos pueden tener buen pronóstico. Debe ser sospechado clínicamente, estudiado por inmunohistoquímica con distintos anticuerpos para COLVI, aunque este estudio no siempre es conclusivo en nuestra experiencia y puede mostrar atenuación de grado variable; ha de ser completado con cultivo de fibroblastos, identificados por genética molecular. En general los pacientes de comienzo precoz y evolución severa presentan marcada reducción en la secreción de COLVI en cultivo de fibroblastos o ausencia completa, así como inmunohistoquímica atenuada o deficiente^{37,38}.

- El síndrome de espina rígida por deficiencia de selenoproteína 1 (SEPN1, cr 1p36). Mutaciones de este gen puede ser una causa de una miopatía congénita tipo multi-minicore. Se puede considerar que ambas son parte de un espectro clínico-patológico. No se dispone de un anticuerpo útil para inmunohistoquímica muscular y el diagnóstico se debe basar en estudios de microscopía electrónica y de genética molecular³⁹.
- La deficiencia congénita de lamina (L-CMD/LMNA, cr 1q21), proteína de la membrana basal y de la matriz extracelular, debe sospecharse clínicamente e identificarse por genética molecular (no incluido en tabla de genes del 2010)⁴⁰.
- La DMC por defecto de integrina (ITGA7, cr 12q13) se ha descrito en algunos casos japoneses, no hay anticuerpo comercial disponible y su investigación debería ser molecular.

Las que presentan alteración del SNC son esencialmente dos grupos:

1. Merosina deficiente (MDC1A/ LAMA2, cr 6q2) total o parcial utilizando anticuerpos específicos para 80 y 300 kD de la α -2 laminina que se detecta en la membrana basal de la fibra muscular y en la membrana basal de los vasos del cerebro, lo que explicaría las alteraciones de la sustancia blanca por defecto de barrera⁴¹. La sustancia blanca suele detectarse alterada por RM en general después de los 6 meses de edad.

Tuvimos oportunidad de seguir la evolución de pacientes a través de más de 30 años:

- Caso 1. Paciente de sexo masculino, con dos biopsias efectuadas a los 6 meses de edad (Hospital de Niños R. Gutiérrez) con diagnóstico de distrofia muscular congénita y a los 32 años en nuestro laboratorio, después del descubrimiento de la merosina, con diagnóstico de déficit total de merosina. Este paciente, a pesar de las alteraciones de la sustancia blanca, presenta inteligencia normal, nunca deambuló y se desplaza en silla de ruedas (nos obsequió una foto en Roma, al lado del Arco de Tito, donde recibió un premio por la dirección de una película para discapacitados).
- Caso 2. Paciente de sexo femenino que tenía una biopsia a los 3 meses de edad con diagnóstico nuestro en el Hospital

de Niños R. Gutiérrez de DMC y otra a los 33 años, también en nuestro laboratorio, cuando era abogada, con diagnóstico de déficit parcial (deficiencia de 300 kD y preservación de α -2 laminina [merosina] de 80 kD). Esta paciente presentaba una marcha de tipo miopática similar a una distrofia de cintura, alteraciones extensas de la sustancia blanca del cerebro sin compromiso alguno cognitivo ni intelectual.

2. Las distroglucanopatías que presentan anomalías del desarrollo del SNC, tipo defecto de migración, lencefalia, malformación de fosa posterior. Éstas pueden ser merosina positiva o presentar déficit parcial pero se asocian a anormal glucosilación del α -distroglucano, componente del complejo distrofina/glucoproteína involucrado en estabilizar la fibra muscular durante la contracción y relajación. El defecto de glucosilación de α -distroglucano se puede evidenciar por inmunohistoquímica y/o WB para esta proteína. El grado de reducción de la inmunotinción de α -distroglucano es variable, en el sentido que puede no detectarse o sea estar ausente, existir trazas, o bien una reducción muy leve o mínima. Esto se acompaña de grado variable de reducción de inmunotinción de laminina α -2 o merosina, dado que esta constituye un ligando para el α -distroglucano.

En estas patologías puede haber error en la glucosilación (DMC, Fukuyama) o en la mannosilación (WWS Y MEB).

Comprenden un grupo de distrofias tales como:

- **MDC1C/FKRP, cr 19q13, alélica al WWS y al MEB**
- **MDC1D/LARGE, cr 22q12**
- **Distrofia muscular congénita de Fukuyama (FCMD), fukutina, cr 9q31-q33, alélica al WWS**
- **Síndrome de Walker-Warburg (WWS/POMT1, cr 9q34 y POMT2, cr 14 24.3 alélica a MEB)**
- **Muscle-eye brain disease (MEB/POMGnT1, cr 1p3, alélica al WWS; FKRP, cr 19q13 alélica a MDC1C y a WWS)**

En un comienzo fueron descritas como entidades independientes, pero con los estudios moleculares se evidencia que existe marcada superposición en estos síndromes.

En lo que respecta a este grupo de patologías con anomalía del desarrollo, deben ser identificadas clínicamente, estudiadas por biopsia con inmunohistoquímica para merosina y α -distroglucano así como WB para este último, y corroboradas por genética molecular.

En ese sentido estudiamos en el Hospital Garrahan desde los comienzos del descubrimiento de la merosina, 3 hermanos de 4 afectados de DMC merosina positiva, con hipotonía congénita, debilidad muscular generalizada, ligero compromiso facial, pseudohipertrofia de pantorrillas, contracturas esqueléticas y arreflexia. Presentaban además retardo mental, microcefalia y otras anomalías del SNC evidenciadas en la RM, tales como hipoplasia pontocerebelosa, anomalías bilaterales operculares, displasia cortical focal, alteraciones de la sustancia blanca periventricular y quistes de cerebelo. El estudio oftalmológico y cardiológico fue normal. En ese momento se excluyó por análisis de haplotipo usando marcadores de microsatélite, la enfermedad de Fukuyama y MEB⁴².

EL ADN de estos pacientes fue compartido con investigadores de Japón e Inglaterra, y una parte, así como el cultivo de linfocitos, permaneció desde fines de la década de los noventa en el laboratorio de la Asociación contra la distrofia muscular francesa/Genethon en el archivo de Inserm, Pitie Salpêtrière. En 2009 fue retomado este estudio por el equipo de Pascale Guicheney e incorporado a una serie de α -dystroglycanopatías con mutaciones nuevas en POMT2⁴³, lo que demuestra la importancia esencial de los estudios de ADN para identificar los distintos subtipos.

Distrofias musculares y distrofias de cintura

Las distrofias musculares abarcan un espectro muy amplio y heterogéneo de patología muscular con debilidad de cintura a predominio proximal (hay excepciones) y CK elevada. La edad de comienzo es variable, desde la niñez a la edad adulta, y el curso en general es lentamente progresivo.

Las formas autosómicas dominantes se clasifican como tipo 1 con sus subtipos, y las recesivas, tipo 2.

Biopsia muscular, histología e histoquímica

La biopsia muscular presenta variaciones de diámetro de las fibras en el seno del mismo fascículo, fibras de contornos redondeados con atrofia e hipertrofia de ambos tipos histoquímicos de fibras; degeneración, necrosis, macrofagia, regeneración, fibrosis endomisial y perimisial. Las fibras en anillo son características de la distrofia miotónica tipo 1. Algunas distrofias de cintura pueden presentar infiltrado inflamatorio, en general linfocitos, perimisial o perivascular.

Este puede ser muy prominente y observarse en etapas precoces de la evolución clínica, cuando aún el fenotipo clínico no es bien identificable. Se puede observar inflamación esencialmente en FSH, déficit de disferlina, déficit de lamina⁴⁴ y en la distrofia congénita por déficit de merosina o α -2 laminina.

Las fibras lobuladas o *moth eaten* son características del déficit de calpaína. Las vacuolas lineadas, o *rimmed vacuoles*, son características de la miositis de inclusión (IBM), las miopatías miofibrilares, distales y oculofaríngea, que no incluiremos en esta revisión. Excepcionalmente se pueden observar en FSH y Emery-Dreifuss.

Inmunohistoquímica y Western Blot (WB)

La inmunohistoquímica es de particular utilidad en las biopsias musculares en las distrofias recesivas, mientras que en las dominantes en general no se detecta déficit de proteína porque se suele expresar el alelo no mutado. El déficit de caveolina es una excepción en ese sentido.

El algoritmo inmunohistoquímico de rutina a aplicar implica la utilización de anticuerpos para proteínas sarcolemas, con control normal preferentemente en el mismo portaobjeto: distrofina por lo menos contra tres sectores de la proteína (*rod domain*, C-terminal y N-terminal) aunque se

puede utilizar un número mayor de anticuerpos, especialmente para detectar casos de enfermedad de Becker cuando con los anteriores no se pone en evidencia, anticuerpos para α -2 laminina (merosina) para el sector de 80 y de 300kD (a pesar que el déficit de merosina corresponde a DMC, puede haber casos de déficit parcial con expresión en el adulto joven y debe excluirse cuando se analiza las distrofias de cintura); anticuerpos para sarcoglicanos alfa, beta, gama y delta; para α -dystroglycan y disferlina así como para caveolina, especialmente cuando el paciente presenta intolerancia al ejercicio dominante.

A esto se agrega inmunomarcación para la proteína nuclear emerina y de membrana basal y matriz extracelular colágeno VI, cuando el caso lo sugiere.

Esto se complementa con WB para distrofina, no en Duchenne, en que ésta es deficiente, sino en casos de sospecha de Becker, para determinar el peso molecular de la distrofina, y WB de calpaína y disferlina para otras distrofias de cintura.

La inmunotinción con anticuerpo para α -dystroglycan se utiliza para detectar los defectos de la O-glucosilación del α -dystroglycan en distrofias congénitas y de cintura tal como FKRP. La disferlina puede estar atenuada por un déficit secundario y debe ser rechequeada por WB en esos casos. La deficiencia de teletonina, descrita en un comienzo en unos pocos casos, ha sido recientemente detectada en pacientes de origen europeo con un fenotipo particular, por lo que debería ser incorporada al algoritmo inmunohistoquímico diagnóstico⁴⁵.

Rol del neurólogo en orientar y sugerir investigación de inmunohistoquímica, WB, estudios bioquímicos a partir de músculo congelado y/o estudios genéticos

El estado actual del conocimiento de las distrofias musculares, las descripciones detalladas de los fenotipos y la selectividad de compromiso de algunos músculos, la incorporación de la RM de los miembros al estudio de las enfermedades musculares hereditarias⁴⁶, implica que el paciente portador de una miopatía sea evaluado en forma conjunta por el neurólogo y patólogo, incluso en los casos que se pueden resolver fácilmente por inmunohistoquímica y WB, y especialmente el neurólogo debe orientar el estudio genético molecular. La creciente tecnología en la secuenciación del ADN es muy promisorio en el sentido de reducir la complejidad y costos de los mismos⁴⁷.

La intolerancia al ejercicio con CK elevada puede ser una manifestación de: distrofinopatía, sarcoglicanopatía, FKRP (LGMD1), calpainopatías y caveolinopatía, por lo que debe ser investigada incluso en ausencia de signos característicos de distrofia muscular en la biopsia, en pacientes con intolerancia al ejercicio en los que se descartó por inmunohistoquímica por lo menos déficit de fosforilasa, de fosfofructocinasa y de mioadenilato deaminasa (aunque existen otros déficit con intolerancia al ejercicio y calambres que deben ser estudiados por bioquímica del músculo congelado y/o estudio genético; p. ej., déficit de CPTII). En ese sentido, el neurólogo debe seguir un algoritmo diagnóstico en las miopatías metabólicas⁴⁸.

Existen patologías identificables por biopsia, inmunohistoquímica y WB (recesivos), casos identificables por fenotipo clínico-RM de miembros, etc., y secundariamente por biopsia; e incluso identificados (en nuestros casos) por microscopía electrónica (p. ej., FHL1).

Grupo 1. Distrofias musculares (Tabla de genes 2010)

(Describiremos algunos aspectos clínicos, no de entidades bien conocidas como DMD y Becker, etc., sino de algunas distrofias que deben ser consideradas en el diagnóstico diferencial en base a la clínica y RM de los miembros.)

Distrofia muscular de Duchenne (DMD) y Becker (DMB), herencia XR, cromosoma Xp21.2, gen/símbolo DMD, proteína deficiente: distrofina

En DMD, en que existe disrupción del marco de lectura de la proteína, hay deficiencia completa de distrofina o excepcionalmente ésta puede estar extremadamente atenuada en la inmunomarcación. Puede observarse pequeños grupos de fibras con inmunotinción positiva, "revertidas". No se justifica efectuar WB, dado que incluso cuando existen trazas de proteína ésta no llega a ser detectada aunque se concentre la muestra. La inmunomarcación para distrofina permite detectar también casos de portadoras sintomáticas por la presencia de inmunotinción de grupos de fibras en mosaico, e incluso portadoras asintomáticas, especialmente cuando se estudian a temprana edad, dado que se pueden detectar aisladas fibras deficientes.

Los sarcoglucanos suelen descender conjuntamente con la distrofina, y si bien según la patología está más alterado uno u otro, puede resultar complejo, en algunos casos, deslindar por inmunohistoquímica una distrofinopatía de una sarcoglucanopatía.

En BMD, en que existe preservación del marco de lectura, se observa atenuación de inmunotinción sarcolemal con los anticuerpos dirigidos contra distintos sectores de la proteína. Es importante corroborar con WB para determinar el peso molecular, que suele ser ligeramente distinto del de la distrofina normal, de 400 kD.

Emery-Dreifuss (EDMD), herencia XR, cromosoma Xq28, gen/símbolo EMD, proteína deficiente: emerina

La distrofia de Emery-Dreifuss (ED) es clásicamente conocida como causada por mutaciones en alguno de los dos genes que codifican las proteínas de la membrana nuclear interna, emerina y lamina A/C. Aproximadamente un 60% de pacientes con fenotipo de ED no presentan mutaciones en estos genes⁴⁹.

La inmunohistoquímica para la proteína nuclear emerina en general no entra en el algoritmo de rutina de las DM y se investiga cuando existe un diagnóstico presuntivo clínico.

En nuestra experiencia la biopsia con histoquímica puede no ser orientadora e incluso presentar atrofia agrupada con predominio histoquímico como en el compromiso de neurona

motora inferior, probablemente secundario a extensa denervación "miógena", o sea cuando secundariamente a la necrosis de fibras, la porción de la fibra que queda separada de la terminal nerviosa se reinerva. Esto es relativamente excepcional, o bien muy discreto, en otras distrofias.

El diagnóstico clínico/neurológico de EDMD ligado al X es relativamente sencillo interrogando al paciente y reconociendo el fenotipo clínico característico; existen antecedentes de pie equino varo, elongación del tendón de Aquiles, contracturas en flexión de ambos codos, reducción de la masa muscular simétrica y proximal, rigidez de columna, CK aumentada, compromiso cardíaco, marcapaso en la segunda o tercera décadas.

De todas formas debe ser sospechado aunque el fenotipo clínico sea menos evidente como para sugerir la inmunomarcación con emerina, que permite efectuar el diagnóstico en forma conclusiva. Las mujeres portadoras pueden presentar síntomas cardíacos, y un mosaico de expresión de emerina especialmente en células cutáneas y de mucosa bucal^{50,51}.

Emery-Dreifuss, herencia XR (o mutaciones de novo en nuestra experiencia en 4 casos), cromosoma Xp 26.3, gen/símbolo FHL1, proteína four and a half LIM domain

Esta miopatía relativamente rara es de reciente identificación genética. Denominada miopatía por cuerpos reductores cuando se identificó a nivel morfológico y ultraestructural hace 39 años⁵², se caracteriza por la presencia de agregados intracitoplasmáticos que reducen el Nitro Blue Tetrazolium y se tiñen intensamente con la menadiona-NBT, presumiblemente por su alto contenido en sulfhidrilos (técnica que no se efectúa de rutina). Utilizando microdissección con microláser de los agregados presentes en el material de biopsia y posterior espectrometría de masa y análisis proteómico, se identificó que el gen FHL1 codificado en Xq26.3 era el responsable de esta entidad^{53,54}. Las proteínas FHL1 estarían involucradas en la organización o andamiaje del citoesqueleto así como en la regulación de factores de transcripción y se expresan en músculo cardíaco y esquelético. La presentación clínica abarca un amplio espectro de comienzo precoz y evolución fatal, de comienzo en la niñez o en la edad adulta con compromiso escapulooperoneal (de más difícil identificación).

Desde el punto de vista clínico los pacientes pueden presentar rigidez espinal, escoliosis, contracturas de codos, muñecas y Aquiles, compromiso respiratorio y cardíaco. En el Congreso de la World Muscle Society de 2005⁵⁵ presentamos dos niñas de 8 y 7 años de comienzo aproximadamente a los 4 años y CK elevada, que desarrollaron escoliosis, escápula alada, retracciones de codos y muñecas y disminución de la capacidad respiratoria restrictiva. Las biopsias musculares presentaron algunas vacuolas lineadas (*rimmed*), alteración en la inmunotinción con Gomori y alteraciones ultraestructurales con inclusiones o agregados densos en la proximidad de los núcleos, material granulofilamentoso y cuerpos citoplasmáticos.

El fenotipo y las alteraciones ultraestructurales fueron reconocidos por Carsten Bonnemann unos años después, cuando me manifestó que tenía el gen candidato y la muta-

ción fue demostrada en estas dos pacientes y en 2 casos que habíamos identificado a posteriori por las características fenotípicas y ultraestructurales similares y publicamos con Schessl, Bonnemann et al⁵⁶. Si bien nuestros casos fueron mutaciones de novo, la entidad figura en la tabla de genes del 2010² como Emery-Dreifuss muscular dystrophy, X-linked, tipo 2, herencia recesiva ligada al X por la similitud clínica con el Emery-Dreifuss.

Se ha descrito en pacientes de sexo femenino y masculino de segunda, tercera y cuarta décadas y se considera que deben existir casos de fenotipo más leve no identificados (en general los hijos varones están más severamente afectados que sus madres).

Emery-Dreifuss, herencia AD, cromosoma 1q21.2, gen/símbolo LMNA, proteína lamina A/C

De acuerdo al tipo de mutación el compromiso es predominantemente muscular y en etapas avanzadas cardíaca, o bien existen familias con compromiso predominantemente cardíaco con bloqueo de conducción a lo que se pueden ver asociados signos de debilidad y atrofia muscular, retracción de codos y en ocasiones neuropatía periférica.

El diagnóstico de la forma inicialmente muscular de ED puede demorarse varios años, especialmente en casos de comienzo precoz y cuando se trata de mutaciones de novo, hasta que el fenotipo clínico típico se hace manifiesto dado que la biopsia no es orientadora y no se efectúa inmunomarcación para lamina porque se expresa el alelo no mutado. La biopsia muscular efectuada precozmente en el curso de la evolución puede no ser francamente distrófica y presentar, en nuestra experiencia en dos casos, infiltrado inflamatorio perimisial y perivascular que orientan en un primer momento hacia una miopatía inflamatoria. Además de CK elevada, EMG miopático y trastornos en la marcha como en el resto de las distrofias y que puede ya observarse a los 5 años de edad, presentan en forma progresiva retracción del tendón de Aquiles, debilidad de los músculos del cuello con caída hacia atrás de la cabeza, contractura espinal cervical, hiperlordosis de codos y rodillas y taquicardia ventricular. Alrededor de los 10 años pueden requerir implantación de marcapaso y cirugía de escoliosis. Es recién entonces, una vez que el fenotipo es característico e inconfundible, cuando se solicita el estudio genético. A nivel ultraestructural se suelen observar alteraciones nucleares características⁵⁷, pero es un estudio que en general hacemos a posteriori del diagnóstico, dado que la microscopia electrónica no es diagnóstica en las distrofias musculares, a diferencia de las miopatías congénitas estructurales. La RM contribuiría a identificar distintos patrones de compromiso en la forma AD y la ligada al X⁵⁸.

Emery-Dreifuss, herencia AR, cromosoma 1q21.2, gen/símbolo LMNA, proteína lamina A/C

Emery-Dreifuss con defecto de nesprina-1, herencia AD, cromosoma 6q25, gen/símbolo SYNE 1, proteína spectrin repeat containing, nuclear envelope 1 (nesprina-1)

Emery-Dreifuss con defecto de nesprina-2, herencia AD, cromosoma 4q23, gen /símbolo SYNE 2, proteína spectrin repeat containing, nuclear envelope 2 (nesprina-2)

Todas de reciente identificación, las nesprinas se unirían a la emerina y a la lamina A/C y formarían una red en el músculo conectando el esqueleto del núcleo a la membrana nuclear interna, externa, sarcómero y la actina del citoesqueleto y serían críticas para la integridad de la envoltura nuclear. Las disrupciones en la interacción de la unión de nesprina/emarina/lamina tendrían un rol en la patogenia del ED⁵⁹.

Aún no existen anticuerpos comerciales disponibles y sólo se pueden obtener por colaboraciones, por lo tanto no son rutina en el algoritmo inmunohistoquímico ni hay amplia experiencia en ese sentido.

Existiría una asociación directa del dominio C-terminal de las nesprinas con la proteína de la membrana nuclear interna Sun 1 que media su localización en la envoltura nuclear. Sun 1 se requiere para la localización de nesprina-2 en la envoltura nuclear y constituiría un puente que conectaría el interior del núcleo con la actina del citoesqueleto⁶⁰. La proteína Sun 1 estaría de alguna forma involucrada en la estabilización de la membrana nuclear y sería otro posible candidato en la patogenia de ED.

Distrofia muscular facio-escapulo-humeral (FSH) herencia AD, cromosoma 4q35, gen?, proteína?

FSH es el prototipo de distrofia muscular en que se debe partir del fenotipo clínico para orientar un diagnóstico y confirmación genética. La biopsia muscular no aporta nada en ese sentido, no sólo porque no existe aún proteína conocida y por lo tanto no tiene sentido someterla al algoritmo inmunohistoquímico/WB, sino porque incluso ésta puede ser inflamatoria o no francamente distrófica.

Distrofias de cintura dominante (AD)

La transmisión es vertical de padre o madre afectada a su hijo afectado, aunque existen mutaciones de novo en que los padres no estarían afectados, por lo tanto no existe historia familiar que nos indique las características del tipo de herencia.

1A, AD, cromosoma 5q31, gen/símbolo MYOT (TTID), proteína: miotilina

La biopsia muscular presenta vacuolas lineadas (*rimmed*) y no lineadas y se puede demostrar acúmulo de proteínas tales como desmina y miotilina, entre otras. La ultraestructura es esencial en el diagnóstico del espectro de miopatías miofibrilares.

Suelen presentar voz nasal y compromiso cardíaco. Si bien no son infrecuentes en la edad adulta, tenemos una sola familia identificada con confirmación genética molecular³². La presentación clínica tipo distrofia de cintura es más infrecuente que como miopatía distal. Se puede considerar dentro del espectro de las miopatías miofibrilares⁶¹ con particulari-

dad histológica y ultraestructural que consideramos debe ser tratadas junto con las miopatías distales en un capítulo aparte. Necesitan de confirmación genética. Aunque existe un anticuerpo específico, no se puede, al igual que otras AD, detectar déficit por inmunohistoquímica.

1B, AD, cromosoma 11q11-q21, gen/símbolo LMNA, proteína: lamina A/C alélica de EDMD

1C, AD, cromosoma 3p25-gen /símbolo CAV3, proteína: caveolina-3

Si bien el anticuerpo para caveolina-3 permite identificar esta patología, dado que la biopsia muscular no es francamente distrófica sino que presenta en general alteraciones mínimas (en nuestra experiencia en 3 casos de una misma familia), debe considerarse en casos de inicio precoz, en la primera década, con leve a moderada debilidad muscular proximal, calambres tras el ejercicio, hipertrofia de pantorrillas e hiperCKemia 20 a 25 veces incrementada.

Asimismo en casos en que el neurólogo, sospechando la entidad, obtenga contracciones musculares inducidas por percusión eléctricamente silentes (*rippling*). En ese sentido individualizamos una familia de la que habíamos estudiado distintos miembros por biopsia sin saber que estaban relacionados hasta que entrevistamos a la hermana de uno de los pacientes y nos manifestó que era una de 4 hermanos afectados (sobre un total de 8), con síntomas similares, y que su padre y hermanos (4/5) estaban igualmente afectados. En ese entonces no se usaba de rutina en la intolerancia al ejercicio este anticuerpo y traje un vial de Francia con el único propósito de investigar por inmunohistoquímica esta proteína en músculo congelado a -80 °C de dos de los pacientes estudiados por biopsia, y posteriormente se efectuó el estudio genético⁶². Si bien actualmente utilizamos de rutina el anticuerpo para caveolina, especialmente en casos dominantes, la individualización de esta familia es otro ejemplo en el sentido que el fenotipo clínico orienta al defecto de proteína y a la investigación inmunohistoquímica y genética, y es un sólido argumento en el sentido que el neurólogo debe entrevistar a la familia y recabar todos los antecedentes, que por sí solos permiten arribar a un diagnóstico con alta probabilidad de ser confirmado por inmunohistoquímica y genética molecular.

1D, E, F y G

No se conoce aún proteína ni gen, sólo cromosoma involucrado. La biopsia en sí no es diagnóstica del tipo específico de distrofia de cintura.

Distrofias de cintura recesiva (AR)

2A, AR, cromosoma 15q15.1, gen/símbolo CAPN3, proteína: calpaína-3

La calpaína-3 presenta actividad proteolítica dado que corresponde a una familia de proteasas dependientes de calcio que estaría implicada en el proceso contráctil y estaría fuerte-

mente unida a titina. Al ser una proteasa puede degradarse, por lo que se debe ser cuidadoso en la interpretación de una atenuación de algún sector de uno de los exones investigados (1 y 8) por WB. Al igual que la disferlina, puede presentar un déficit secundario⁶³, por lo que es esencial el análisis previo inmunohistoquímico de todas las otras proteínas y el WB de calpaína y disferlina con varios controles (o bien de varios casos). Si bien no es nuestra experiencia, dado que sin duda solicitamos estudio molecular después de comprobar la deficiencia por WB, está descrito que puede haber preservación de la calpaína por WB y de todas formas comprobarse la alteración genética, dado que el WB sólo detecta la presencia de la proteína y no la actividad enzimática⁵¹. La biopsia puede mostrar fibras musculares de aspecto lobulado. Edad de comienzo: media 8-15 años, rango 3-40 años, el curso es lentamente progresivo en el 50% de los casos la debilidad es progresiva con pérdida de deambulación alrededor de los 20 años, la CK es moderadamente elevada o puede ser 10 veces mayor que lo normal. Existirían 3 diferentes fenotipos clínicos: una forma pelvifemoral, que sería la más frecuente; la forma escapulohumeral, y una forma leve caracterizada por hiperCKemia. En general no presentan compromiso cardíaco ni de músculos bulbares⁴⁷. Presentan compromiso precoz de cintura escapular y debilidad humeral; a nivel de las extremidades inferiores, los abductores de la cadera estarían relativamente preservados, mientras que el compartimiento posterior del muslo está muy afectado. Esto se evidencia en los estudios de TC y RM⁵⁸. Presentan dificultad en subir escaleras, levantarse del piso o correr. La debilidad muscular y atrofia con distribución escápulo-humeral/pélvica es característica de calpainopatía (*scapula alata* símil FSH). A nivel de la pelvis, la debilidad es mayor del glúteo mayor y aductores de la cadera. Al comienzo estarían preservados los músculos distales y posteriormente existiría compromiso tibial. Hay debilidad de músculos abdominales, excepcionalmente hipertrofia de las pantorrillas, en general atrofia. Puede existir heterogeneidad clínica en el seno de una misma familia, por ejemplo en lo que respecta a hipertrofia de las pantorrillas, dificultad para elevar los brazos, despegamiento del omóplato. Constituiría el 30-60% de las Distrofias de cintura AR y aproximadamente el 40% de las distrofias de cintura en general. Puede tener presentación atípica en una cuarta parte de los casos: severa tipo DMD,seudometabólica con intolerancia al ejercicio y mialgias o bien con contracturas de tendón de Aquiles, codos y cuello pueden ser reminiscentes de EMD.

2B, AR, cromosoma 2p13, gen/símbolo DYSF, proteína: disferlina, alélica de miopatía distal de Miyoshi

La disferlina, una proteína de membrana de 237 kD, está anclada a la membrana sarcolemal por la porción C-terminal y tendría función en la reparación de membranas.

La biopsia muscular en las disferlinopatías no presenta características histológicas distintivas, por lo que requiere, al igual que las otras distrofias de cintura, de la inmunohistoquímica y WB. En algunos casos puede incluso mostrar cambios inflamatorios, al igual que las laminopatías y FSH. La disferlina puede presentar un déficit secundario por inmunohistoquímica y WB, en déficit de calpaína, caveolina e incluso

en sarcogluconopatías y distrofinopatías⁶⁴, por lo que es esencial investigar antes por inmunohistoquímica todas las proteínas del sarcolema en las que se puede detectar déficit por este método y efectuar siempre WB de calpaína y disferlina.

El comienzo es en la adolescencia o en la segunda/tercera décadas, con dificultad en subir escaleras y en correr, CK muy elevada, no desarrollan compromiso cardíaco ni respiratorio. El compromiso muscular puede ser de tipo de cintura, proximal o bien predominantemente distal (Miyoshi) con compromiso del tibial anterior o mixta. Las diferencias esenciales entre distrofia de cintura 2B y miopatía distal de Miyoshi consisten en que la distrofia de cintura 2B presenta debilidad proximal de comienzo, predominio de miembros inferiores con relativa preservación de músculos distales, y la miopatía distal de Miyoshi presenta debilidad distal de miembros inferiores con dificultad de caminar en talones.

La distrofia de cintura 2B presenta al comienzo sólo debilidad proximal de los miembros inferiores, con compromiso precoz del compartimiento posterior de los muslos y las piernas (aductores, gastrocnemio, soleo). La cintura escapular y los miembros superiores se comprometen más tardíamente, en especial los músculos supra e infraespinoso y bíceps, las manos desarrollan una postura extrarrotada. A los 10 años de evolución presentan severa alteración de la marcha por debilidad de músculos de la pelvis y miembros inferiores, amplia base de sustentación, pie plano, debilidad en la extensión de la rodilla, pasos cortos, y aproximadamente una tercera parte está en silla de ruedas. La pérdida de la habilidad de caminar en punta de pie se presenta antes que en talones. La CK puede ser muy elevada.

2C, AR, cromosoma 13q12, gen/símbolo SGCG, proteína:
 γ -sarcoglucono

2D, AR, cromosoma 17q12,q21.33, gen/símbolo SGCA, proteína:
 α -sarcoglucono

2E, AR, cromosoma 4q12, gen/símbolo SGCB, proteína:
 β -sarcoglucono

2F, AR, cromosoma 5q33, gen/símbolo SGCD, proteína:
 γ -sarcoglucono

Las sarcogluconopatías son clínicamente indistinguibles de las distrofinopatías, y pueden asociarse a cardiomiopatía.

La función del complejo de sarcogluconos es contribuir a la estabilidad de la membrana plasmática al estabilizar la asociación del β -distroglucano de transmembrana con la matriz extracelular y con la distrofina subsarcolema.

La desorganización de este complejo lleva a pérdida secundaria de cualquiera de los componentes y subsecuente inestabilidad de membrana con eflujo de componentes del citoplasma e influjo de calcio y pérdida de nNOS en la membrana e isquemia.

En las sarcogluconopatías se suele observar disminución de inmunotinción de grado variable de las distintas proteínas y no siempre la proteína más deficiente es representativa del defecto genético. Incluso en uno de nuestros casos la inmu-

notinción para α -sarcoglucono estaba preservada (repetida dos veces con controles) mientras que estaba muy atenuada para δ -sarcoglucono y el defecto molecular resultó una α -sarcogluconopatía en un heterocigoto compuesto⁶⁵. La distrofina suele descender, y en algunas circunstancias puede ser complejo diferenciar entre una distrofinopatía y una sarcogluconopatía.

El comienzo clínico suele ser precoz, con caídas frecuentes y dificultad para caminar, presentan pseudohipertrofia de gemelos, Gowers y CK elevada de aproximadamente 4.500 U/l, y en algunos casos los pacientes quedan confinados a silla de rueda a los 9 o 10 años; no presentan debilidad facial ni compromiso intelectual, pero pueden desarrollar cardiopatía⁶⁶.

2G, AR, cromosoma 17q11-12, gen/símbolo TCAP, proteína:
titin-cap (teletonina)

La teletonina es una proteína de 19 kD del músculo esquelético y cardíaco localizada en el disco Z que provee sitios de unión para la titina y otras proteínas asociadas al disco Z durante el ensamblaje del sarcómero. Reportada originalmente en 3 familias de Brasil⁶⁷, ha sido más recientemente identificada en una paciente de origen europeo que comenzó su sintomatología a los 15 años con debilidad proximal de las extremidades inferiores y progresó lentamente comprometiendo la cintura escapular. Presentó calambres musculares dolorosos desde el inicio, debilidad del tibial anterior e hipertrofia de las pantorrillas, atrofia del compartimiento anterior y posterior de los muslos y distal anterior de las piernas y CK elevada. La biopsia presentó características miopáticas con numerosas fibras hipotróficas tipo I, lobuladas con NADH, núcleos centrales y predominio 1 pero no fibras con vacuolas lineadas (*rimmed*), como se había descrito en otros pacientes. A nivel ultraestructural se observaron algunas áreas de desorganización miofibrilar. El déficit de teletonina se detectó por inmunofluorescencia y WB, previa investigación de proteínas correspondientes a distrofias de cintura AR. Al estudio genético resultó que la paciente era heterocigota compuesta. Los autores destacan las similitudes y diferencias con otras distrofias de cintura: el compromiso de cintura pelviana e hipertrofia de pantorrillas similar a FKRP (2I), pero la falta de compromiso respiratorio y cardíaco la diferencia de dicha distrofia, así como la severa atrofia del cuádriceps y del tibial anterior que se observan en el déficit de teletonina. A su vez el compromiso prominente del cuádriceps y de los tibiales anteriores, así como la discreta escápula alada, diferencia el déficit de teletonina del déficit de calpaína. La falta de compromiso de músculos posteriores de pantorrillas la diferencia de la miopatía distal de Miyoshi por déficit de disferlina⁴⁵. En base a estas observaciones, la investigación de teletonina debería entrar en el algoritmo de investigación de proteínas en las distrofias de cintura.

2H, AR, cromosoma 9q31-q34, gen/símbolo TRIM 32, proteína:
tripartite motif-containing 32 (ubiquitin-ligase)

Esta distrofia estaría restringida a una población de Hutterite de Canadá⁶⁸.

2I, AR, cromosoma 19q13.3, gen/símbolo FKRP, proteína: proteína relacionada con fukutina

FKRP es una glucosiltransferasa que interviene en la glucosilación de α -dístroglucano.

Esta distrofia de cintura es alélica de una forma severa congénita. Los defectos de glucosilación de α -dístroglucano se presentan en un grupo de distrofias congénitas y la investigación se orienta desde el punto de vista inmunohistoquímico o de WB utilizando el anticuerpo para α -dístroglucano, pero en algunos casos el déficit no es tan evidente. Desde el punto de vista clínico tiene similitudes con la distrofia muscular de Becker y debe ser sospechado en casos en que no se puede definir por inmunohistoquímica o WB, y efectuar el estudio genético molecular el que no sería complejo en caso de FKRP. Su incidencia sería relativamente elevada entre la población caucásica, si bien en nuestro medio no se ha demostrado aún una incidencia apreciable. Dado que el estudio inmunohistoquímico puede mostrar sólo atenuación en algunos casos y que se codifica en un único exón, debería efectuarse estudio genético en los casos Becker-like en los que no se puede demostrar por genética molecular.

2J, AR, cromosoma 2q31, gen/símbolo TTN, proteína: titina

La titina es una proteína sarcomérica que conecta la banda Z con la línea M, y estaría relacionada con el desarrollo del músculo estriado, su estructura y cascadas de transducción. Esta forma de distrofia que determina una miopatía distal con compromiso del compartimiento anterior de la pierna se ha descrito en la población finlandesa⁶⁹. Existen además formas dominantes de déficit de titina que determinan cardiomiopatía severa y otro tipo de miopatías distales. No es de rutina investigar esta proteína en las distrofias de cintura.

2K, AR, cromosoma 9q34, gen/símbolo POMT1, proteína: O-manosil-transferasa 1, alélica al WWS

2L, AR, cromosoma 11p14.13, gen/símbolo ANOS (TMEM16E), proteína: anoctamina 5

2M, AR, cromosoma 9q31, gen/símbolo FKTN, proteína: fukutina, alélica a FCMD y WWS

2N, AR, cromosoma 14q24, gen/símbolo POMT2, proteína: O-manosil transferasa 2, alélica a WWS y a MEB

2O, AR, cromosoma 1p34, gen/símbolo POMGNT1, proteína: protein O-linked mannose beta 1,2-N-acetilglucosaminiltransferasa 1

Estas formas son alélicas de distrofias musculares congénitas por defecto de glucosilación de α -dístroglucano. Existe marcada superposición clínica entre los distintos tipos, y la investigación inmunohistoquímica, al no existir anticuerpos específicos, se limita a la utilización del anticuerpo para α -dístroglucano. Debe efectuarse en todos los casos el estudio genético para confirmar el subtipo.

2L, AR, cromosoma 11p14.3, gen/símbolo ANOS, proteína anoctamina 5

Esta proteína sería un canal de cloro posiblemente activado por Ca.

Podría determinar una miopatía proximal asimétrica o bien distal tipo Miyoshi⁷⁰ y no existiría aún un anticuerpo útil para el diagnóstico.

No incluimos en esta revisión el grupo 4 (miopatías distales) y el grupo 5 (otras miopatías, miofibrilares, etc.), entre las que hay numerosas formas alélicas a las anteriores.

De la ultraestructura al diagnóstico/investigación genética

Excepcionalmente en algunas patologías complejas que comprometen al músculo, los hallazgos ultraestructurales de la biopsia muscular permiten orientar el diagnóstico, recabar la información necesaria y orientar el estudio genético. Sólo mencionaremos a título de ejemplo (dado que es objeto de otra publicación) un caso en que contábamos con los siguientes datos: edad a la biopsia muscular: 19 años, hipotonía, atrofia muscular proximal y distal, escoliosis, ataxia, distrofia de cintura.

La biopsia mostró vacuolas *rimmed* (lineadas) y el estudio ultraestructural, además de cambios autofágicos, la presencia de alteraciones nucleares excepcionales con presencia de doble membrana electrondensa rodeándolos, como se describió en el síndrome de Marinesco-Sjogren⁷¹.

En base a esta sospecha requerimos a la familia y al neurólogo a cargo nos confirmaran la existencia de los siguientes antecedentes característicos de esta entidad: comienzo en la niñez, disartria, nistagmo, dismetría, cataratas a temprana edad, operadas; leve retardo mental; curso lentamente progresivo; hipogonadismo; CPK elevada; EMG miopático; VCN: normal; RM: atrofia cerebelosa, más pronunciada en vermis. En base a esto se efectuó un estudio genético confirmatorio en un centro especializado.

Esta situación no debería plantearse si los pacientes se estudian exhaustivamente y no queda todo en manos del patólogo especializado, dado que éste debería tener una experiencia excepcional o bien unos contactos científicos excepcionales (como se dio en este caso) para llegar a un diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. North K. What's new in congenital myopathies? Neuromuscul Disord. 2008;18:433-42.
2. Gene Table of monogenic neuromuscular disorders. Neuromuscul Disord. 2010;20:72-94.
3. Wallgren-Pettersson V, Laing NG. Report of the 70th ENMC International Workshop: Nemaline myopathy. Neuromuscul Disord. 2001;11:589-95.
4. Tajshargui H, Ohlsson M, Lindberg C, Oldfords A. Congenital myopathy with nemaline rods and cap structures caused by a mutation in the beta-tropomyosin gene (TPM2). Arch Neurol. 2007;64:1334-8.

5. Clarke NF, Waddell LB, Cooper ST, Perry M, Smith RL, Kornberg AJ, et al. Recessive mutations in RYR1 are a common cause of congenital fiber type disproportion. *Hum Mutat.* 2010;31:E1544-50.
6. Brooke MH. Congenital fiber type disproportion. *Excerpta Medica.* 1973;295:147-59.
7. Taratuto AL. Congenital myopathies and related disorders. *Current Opin Neurol.* 2002;15:553-61.
8. Spiro AJ, Shy GM, Gonatas NK. Myotubular myopathy: persistence of fetal muscle in an adolescent boy. *Arch Neurol.* 1966;14:1-14.
9. Sher JH, Rimalovski AB, Athanassiades TJ, Aronson SM. Familial centronuclear myopathy: a clinical and pathological study. *Neurology.* 1967;17:727-42.
10. Sutton IJ, Winer JB, Norman AN, Liechti-Gallati S. Limb-girdle and facial weakness in female carriers of X-linked myotubular myopathy mutations. *Neurology.* 2001;57:900-2.
11. Laporte J, Biancalana B, Tanner SM, et al. MTM1 mutations in X-linked myotubular myopathy. *Hum Mut.* 2000;15:393-409.
12. Taratuto AL, Saccoliti M, Lubieniecki F, Panigazzi AL, Romero NB. Congenital myopathies progressive morphological changes associated to course. *J Neuropath Exp Neurol.* 2004;63:533.
13. Lubieniecki F, Biancalana V, Romero N, Monges S, Saccoliti M, Taratuto AL. Progressive muscle biopsies morphological changes in MTM1 related centronuclear myopathy. *Neuromuscul Disord.* 2009;19:637.
14. Bitoun M, Bevilacqua JA, Prudhon B, Maugenre S, Taratuto AL, Monges S, et al. Dynamin 2 mutations cause sporadic centronuclear myopathy with neonatal onset. *Ann Neurol.* 2007;62:666-70.
15. Sussman RD, Quijano-Roy S, Yang N, Webster R, Clarke NF, Dowling J, et al. Expanding the clinical, pathological and MRI phenotype of DNM2-related centronuclear myopathy. *Neuromuscul Disord.* 2010;20:229-37.
16. Schessl J, Medne L, Hu Y, et al. MRI in DNM2-related centronuclear myopathy: evidence for highly selective muscle involvement. *Neuromuscul Disord.* 2007;17:28-32.
17. Pirra L, Dubrovsky A, Bitoun M, Guicheney P, Romero N, Saccoliti M, et al. Ragged red fibres finding in muscle biopsy of dynamin 2-related centronuclear myopathy. *Neuromuscul Disord.* 2007;18:881.
18. Romero NB. Centronuclear myopathies: a widening concept. *Neuromuscul Disord.* 2010;20:223-8.
19. Bevilacqua JA, Bitoun M, Biancalana V, et al. Necklace fibers, a new histological marker of late-onset-related centronuclear myopathy. *Acta Neuropathol.* 2009;117:283-91.
20. Shy GM, Magee KR. A new congenital non-progressive myopathy. *Brain.* 1956;79:610-21.
21. Jungbluth H, Davis MR, Muller C, et al. Magnetic resonance imaging of muscle in congenital myopathies associated with RyR1 mutations. *Neuromuscul Disord.* 2004;14:785-90.
22. Romero NB, Herasse M, Monnier N, Leroy JP, Fischer D, Ferreira A, et al. Clinical and histopathological aspects of central core disease associated and non associated with RyR1 locus. *Acta Myologica.* 2005;24:70-3.
23. Engel AG, Gomez MR, Groover RV. Multicore disease. A recently recognized congenital myopathy associated with multifocal degeneration of muscle fibers. *Mayo Clin Proc.* 1971;46:666-91.
24. Taratuto AL, Sfaello ZM, Rezzonico C, Moraes RC. Multicore Disease. Report of a case with lack of fibre type differentiation. *Neuropediatric.* 1978;9:285-97.
25. Taratuto AL, Saccoliti M, Lubieniecki F, Monnier N, Romero NB, Richard P, et al. Progressive muscle biopsies morphological changes in long-term follow-up of Multiminicore disease related to RyR1 gene. *Neuromuscul Disord.* 2009;19:558.
26. Sharma MC, Jain D, Sarkar C, Goebel HH. Congenital myopathies—a comprehensive update of recent advancements. *Acta Neurol Scand.* 2009;119:281-92.
27. Ferreira A, Estournet B, Chateau D, et al. Multi-minicore disease: searching for boundaries: phenotype analysis of 38 cases. *Ann Neurol.* 2000;48:745-57.
28. Finsterer J, Stolberger C. Cardiac involvement in primary myopathies. *Cardiology.* 2000;94:1-11.
29. Jungbluth H, Sewry C, Manzur AY, et al. Minicore myopathy in children: a clinical and histopathological study of 19 cases. *Neuromuscul Disord.* 2000;10:264-73.
30. Ferreira A, Fardeau M. 80th ENMC International Workshop on Multi-Minicore disease. *Neuromuscul Disord.* 2002;12:60-8.
31. Arbogast S, Muntoni F, Ferreira A. Selenoprotein N, mutated in SEPN related-myopathy, protects human cells against oxidative stress. *Neuromuscul Disord.* 2007;17:900.
32. Hauser MA, Conde CB, Kowalijow V, Zeppa G, Taratuto AL, Torian UM, et al. Myotilin mutation found in a second pedigree with LGMD1A. *Am J Hum Genet.* 2002;71:1428-32.
33. Claeys KG, Fardeau M, Schroder R, Suominen T, Toksdorf K, Behin A, et al. Electron microscopy in myofibrillar myopathies reveals clues to the mutated gene. *Neuromuscul Disord.* 2008;18:656-66.
34. Claeys KG, Van der Ven PF, Behin A, Stojkovic T, Eymard B, Dubourg O, et al. Differential involvement of sarcomeric proteins in myofibrillar myopathies: a morphological and immunohistochemical study. *Acta Neuropathol.* 2009;117:293-307.
35. Tomé FM, Evangelista T, Leclerc A, Sunada Y, Manole E, Estournet B, et al. Congenital muscular dystrophy with merosin deficiency CR. *Acad Sci III.* 1994;317:351-7.
36. Brockington M, Brown SC, Lampe A, Yuva Y, Jimenez-Mallebrea C, Sewry CA, et al. Prenatal diagnosis of Ullrich congenital muscular dystrophy using haplotype analysis and collagen VI immunohistochemistry. *Prenat Diagn.* 2004;24:440-4.
37. Allamand V, Merlini L, Bushby K, on behalf of the Consortium for Collagen VI related myopathies. 166th ENMC International Workshop on Collagen type VI-related Myopathies, 22-24 May 2009, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2010;20:346-54.
38. Briñas L, Richard P, Quijano-Roy S, Ferreira A, Maugenre S, Topaloglu T, et al. Dominant and recessive mutations causing early onset COL6-related muscle disorders with variable severity: correlation with transcript stability and clinical phenotype. *Annals of Neurology.* 2010, in press.
39. Allamand V, Richard P, Lescure A, Ledeuil C, Desjardin D, Petit N, et al. A single homozygous point mutation in a 3' untranslated region motif of selenoprotein N mRNA causes SEPN1-related myopathy. *EMBO Rep.* 2006;7:450-4.
40. Quijano-Roy S, Mbieleu B, Bonnemant CG, Jeannet PY, Colomer J, Clarke NF, et al. De novo LMNA mutations cause a new form of congenital muscular dystrophy. *Ann Neurol.* 2008;64:177-86.
41. Taratuto AL, Lubieniecki F, Díaz D, Schultz M, Ruggieri V, Saccoliti M, et al. Merosin deficient congenital muscular dystrophy associated with abnormal cerebral cortical gyration. *Neuromuscul Disord.* 1999;9:86-94.
42. Ruggieri V, Lubieniecki F, Meli F, Diaz D, Ferragut E, Saito K, et al. Merosin-positive congenital muscular dystrophy with mental retardation, microcephaly and central nervous system abnormalities unlinked to the Fukuyama muscular dystrophy and muscular- eye-brain loci: report of three siblings. *Neuromuscul Disord.* 2001;11:570-8.
43. Yanagisawa A, Bouchet C, Quijano-Roy S, Vuillaumier-Barrot S, Clarke N, Odent S, et al. POMT2 intragenic deletions and

- splicing abnormalities causing congenital muscular dystrophy with mental retardation. *European Journal of Medical Genetics* 2009;52:201-6.
44. Lubieniecki F, Monges S, Dubrovsky A, Stewart Harris A, Ruggieri V, Barroso F, et al. Inflammatory or 'congenital myopathy' type findings in muscle biopsies of patients with LMNA mutations. *Neuromuscul Disord*. 2007;17:797.
 45. Olivé M, Shatunov A, Gonzalez L, Carmona O, Moreno D, Gonzalez Quereda L, et al. Transcription-terminating mutation in telethonin causing autosomal recessive muscular dystrophy type 2G in a European patient. *Neuromuscul Disord*. 2008;18:929-33.
 46. Wattjes MP, Kley RA, Fischer D. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *Eur Radiol*. 2010.
 47. Rocha C, Hoffman EP. Limb-girdle and congenital muscular dystrophies. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2010;10:267-76.
 48. Berardo A, DiMauro S, Hirano M. A diagnostic algorithm for metabolic myopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2010;10:118-26.
 49. Bonne G, Yaou RB, Beroud C, Boriani G, Brown S, de Visser M, et al. 108th ENMC International Workshop, 3rd Workshop of the MYO-CLUSTER project: EUROMEN, 7th International Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy (EDMD) Workshop, 13-15 September 2002, Naarden, The Netherlands. Early onset collagen VI myopathies: genetic and clinical correlations. *Neuromuscul Disord*. 2003;13:508-15.
 50. Morris GE. The role of the nuclear envelope in Emery Dreifuss muscular dystrophy. *Trends Mol Med*. 2001;7:572-7.
 51. Sewry CA. Muscular dystrophies: an update on pathology and diagnosis. *Acta Neuropathol*. 2010;120:343-58.
 52. Brooke MH, Neville HE. Reducing body myopathy. *Neurology*. 1972;22:829-40.
 53. Schessl J, Zou Y, McGrath MJ, Cowling BS, Maiti B, Chin SS, et al. Proteomic identification of FHL1 as the protein mutated in human reducing body myopathy. *J Clin Invest*. 2008;118:904-12.
 54. Gueneau L, Bertrand AT, Jais JP, Salih MA, Stojkovic T, Wehnert M, et al. Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet*. 2009;85:338-53.
 55. Taratuto AL, Saccoliti M, Espada G, Olmos A, Kessler K, Dubrovsky A, et al. Early onset myopathy with cytoplasmic and/or Mallory-like bodies inclusions. *Neuromuscul Disord*. 2005;15:693.
 56. Schessl J, Taratuto AL, Sewry C, Battini R, Chin SS, Maiti B, et al. Clinical, histological and genetic characterization of reducing body myopathy caused by mutations in FHL1. *Brain*. 2009;132:452-64.
 57. Sewry CA, Brown SC, Mercuri E, Bonne G, Feng L, Camici G, et al. Skeletal muscle pathology in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy with lamin A/C mutations. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2001;27:281-90.
 58. Mercuri E, Counsell S, Allsop J, et al. Selective muscle involvement on magnetic resonance imaging in autosomal-dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuropediatrics*. 2002;33:10-4.
 59. Zhang Q, Bethmann C, Worth NF, Davies JD, Wasner C, Feuer A, et al. Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery-Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelopement integrity. *Hum Mol Genet*. 2007;16:2816-33.
 60. Padmakumar VC, Libotte T, Lu W, Zaim H, Abraham S, Noegel AA, et al. The inner nuclear membrane Protein Sun 1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope. *J Cell Sci*. 2005;118:3419-30.
 61. Selcen D, Engel AG. Mutations in myotilin cause myofibrillar myopathy. 2004;62:1363-71.
 62. Barroso F, Nogués M, Krahn M, Leiguarda R, Levy N, Taratuto A. Exercise intolerance and rippling syndrome in caveolinopathy. *Neuromuscul Disord*. 2007;17:812.
 63. Anderson LV, Harrison RM, Pogue R, Vafiadaki E, Pollitt C, Davison K, et al. Secondary reduction in calpain-3 expression in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B and Miyoshi myopathy (primary dysferlinopathies). *Neuromuscul Disord*. 2000;10:553-9.
 64. Vainzof M, Anderson LV, Mc Nally EM, Davis DB, Faulkner G, Valle G, et al. Dysferlin protein analysis in limb-girdle muscular dystrophies. 2001;17:71-80.
 65. Avila De Salman S, Taratuto AL, Dekomien G, Carrero Valenzuela R. Alpha vs. gamma sarcoglycanopathy: DNA tests solve a case from Argentina. *Acta Myologica*. 2007;26:115-8.
 66. Taratuto AL, Dubrovsky A, Mesa AL, Rivero MC, Gorospe JR, Duggan D, et al. α sarcoglycan deficiency, two novel mutations. *J Neuropath Exp Neurol*. 1997;56:5.
 67. Moreira ES, Vainzof M, Marie SK, et al. The seventh form of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy is mapped to 17q11-12. *Am J Hum Genet*. 1997;61:151-9.
 68. Weiler T, Greenberg CR, Zelinski T, Nylen E, Coghlan G, Crumley MJ, et al. A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in Manitoba Hutterites maps to chromosome region 9q31-q33: evidence for another limb-girdle muscular dystrophy locus. *Am J Hum Genet*. 1998;63:140-7.
 69. Hackmann P, Vihola A, Haravuori H, Marchand S, Sarparante J, De Seze J, et al. Tibial muscular dystrophy is a titinopathy caused by mutations in TTN, the gene encoding the giant skeletal-muscle protein titin. *Am J Hum Genet*. 2002;71:492-500.
 70. Bolduc V, Marlow G, Boycott KM, Saleki K, Inoue H, Kroon J, et al. Recessive mutations in the putative calcium-activated chloride channel Anoctamin 5 cause proximal LGMD2L and distal MMD3 muscular dystrophies. *Am J Hum Genet*. 2010;86:213-21.
 71. Sewry CA, Voit T, Dubowitz V. Myopathy with unique ultrastructural feature in Marinesco-Sjogren syndrome. *Ann Neurol*. 1988;24:576-80.