

Aproximación molecular a las distrofias musculares ligadas al cromosoma X

J. L. HERRANZ FERNANDEZ Y R. ARTEAGA MANJON-CABEZA*

La miopatía individualizada por Duchenne en 1860, conocida como Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) es la más grave y más frecuente de las distrofias musculares progresivas, caracterizándose por una degeneración lentamente progresiva de las fibras musculares esqueléticas, que se manifiesta clínicamente antes de los 5 años de edad con marcha cada vez más dificultosa, confinando al paciente en una silla de ruedas entre los 7 y 11 años, y generalizándose progresivamente a la mayor parte de grupos musculares, con lo que ocasiona la muerte entre los 20 y 30 años de edad, por insuficiencias respiratoria y cardíaca. Este curso evolutivo en un niño varón, con creatinfosfoquinasa (CPK) en suero más de 40 veces por encima de la tasa normal, un patrón miopático en el EMG, y hallazgos característicos en la biopsia muscular, restan cualquier tipo de dificultad diagnóstica a la DMD. La enfermedad se transmite de modo recesivo ligada al sexo, y afecta a 1 de cada 3.000-3.500 varones nacidos, sea cual sea la población estudiada, estimándose su prevalencia en la población de 32×10^{-6} (Tabla I). Los criterios clínicos no son unánimes para la forma de distrofia muscular menos severa, individualizada en 1955 como Distrofia Muscular de Becker (DMB), sugiriéndose ese diagnóstico cuando un niño de las características clínicas descritas camina sin ayuda todavía a los 15 años, no siendo totalmente invalidante más que en edad adulta, de modo que permite la procreación y cierta actividad social y profesional. Entre ambos tipos

TABLA I
PREVALENCIAS ESTIMADAS ($\times 10^{-6}$) DE LAS ENFERMEDADES MAS HABITUALES EN LA POBLACION GENERAL. (Emery, 1991)

DISTROFIAS MUSCULARES	
Duchenne	32
Duchenne-like	5
Becker	> 7
Facioescapulohumeral	20
Cinturas	< 40
DISTROFIA MIOTONICA	50
MIOTONIAS CONGENITAS	10
ATROFIAS MUSCULARES ESPINALES (II+III)	12
NEUROPATIAS SENSORIOMOTRICES	
HEREDITARIAS	100
ENF. FAMILIAR DE MOTONEURONA Y MIASTENIA	
	10
Total	286

de distrofia muscular se observan otros de severidad intermedia, difícilmente identificables en las categorías de DMD o de DMB, por lo que se ha formado un tercer grupo, reconocido como «outliers» o personas con FORMAS ATÍPICAS DE DISTROFIA MUSCULAR.

La alta incidencia, el elevado riesgo, la gravedad clínica y la falta de terapia eficaz hacen de la detección de portadoras y del consejo genético una parte esencial en el manejo de la DMD y de la DMB. Su transmisión, ligada al cromosoma X, determina que las mujeres relacionadas en primer grado —madres,

* Sección de Neuropediatría. Hospital Universitario Valdecilla. Facultad de Medicina. Santander.

* Conferencia pronunciada en el IV Memorial Profesor «Guillermo Arce».

hermanas y tías maternas del niño afecto— sean sujetos de alto riesgo para transmitirlos, y debe esperarse que el 50 % de sus hijos varones presenten la enfermedad. La identificación de portadoras y diagnóstico prenatal son, en la actualidad, las únicas formas de reducir la incidencia de la enfermedad, pero hasta hace 10 años la detección de portadoras sanas era sólo posible en el 80 % de casos, como máximo, y recurriendo a procedimientos complejos y sofisticados con mucha frecuencia (Tabla II), no siendo ninguno de ellos absolutamente fiable. Por otra parte, la tercera parte de los casos corresponden a mutaciones «de novo», lo que supone la tasa de mutación más elevada de entre las descritas en anomalías genéticas humanas. Las nuevas técnicas de

TABLA II
METODOS PARA LA DETECCION
DE PORTADORAS SANAS DE DISTROFIA
MUSCULAR PROGRESIVA (hasta 1980)

1. Examen clínico (5 %)
2. Creatinfosfokinasa CPK (65-75 %)
3. LDH y sus isoenzimas
4. Anomalías de las membranas de linfocitos y hematíes
5. Leucina muscular
6. Mioglobinemias
7. Aumento de equinocitos o de estomatocitos
8. Mayor fosforilación de la espectrina.
9. Aumento de la hemopexina sérica.
10. Electromiograma
11. Tiempo de relajación muscular tras estímulo
12. Electrocardiograma
13. Ecografía muscular
14. Tomografía axial computerizada muscular
15. Biopsia muscular

(Modificado de ARRANZ y col., 1988)

ingeniería genética aplicadas al ADN permiten la identificación sin necesidad de saber lo que el gen hace, con lo que la investigación ha roto un período de

estancamiento, al que han seguido diez años de progresos notables, de modo que en la actualidad ya se han identificado el producto genético concerniente al 10 % de las 4.000 enfermedades genéticas monofactoriales recogidas por McKusick en 1988, ejemplo de lo cual es la recopilación en enfermedades neuromusculares de la TABLA III.

El punto de partida en las distrofias musculares fue la observación de una rareza: varios casos de DMD en niñas, con una alteración del cromosoma X (1979). Al principio se consideró que esas alteraciones no tendrían importancia, pero en otros casos pudo comprobarse que la alteración del cromosoma X se situaba siempre en el mismo punto, el área central del brazo corto del cromosoma X, conocida como banda p21 (1980) (fig. 1). Al poco de reconocer estos casos, en 1981, fue posible producir marcadores del ADN—variaciones hereditarias en la secuencia de ADN reconocidas por la producción de fragmentos de distinto tamaño, denominados «fragmentos de restricción de longitud polimórfica» (FRLP)— pueden ser localizados en el cromosoma X con métodos físicos y ser verificados en familias con este trastorno, comprobando si los marcadores se han heredado paralelamente a la enfermedad. En 1982 se relacionaron estos marcadores con la DMD, y en 1983 se situó un nuevo marcador en el lado opuesto del gen. Ambos confirmaban al gen de la DMD en la banda q21, el mismo lugar en donde se encontraron las anomalías cromosómicas en las niñas afectadas. Además, el gen de la DMB tiene la misma localización.

El progresivo descubrimiento de polimorfismos cada vez más próximos al gen de DMD, e incluso intragénicos, ha permitido tener marcadores más seguros. La existencia de estos polimorfismos asociados al gen permite definir un haplotipo que puede ser utilizado

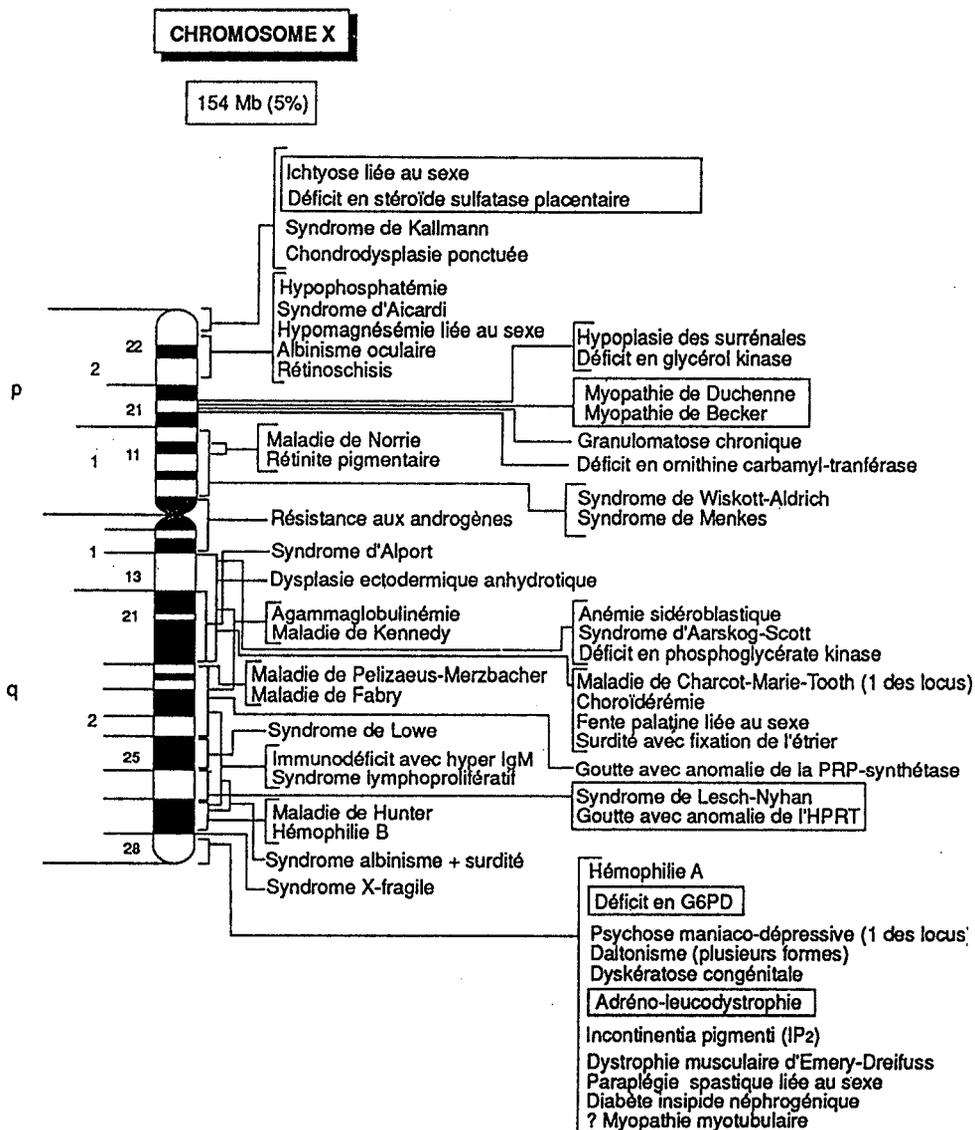


FIG. 1. Localización de locus morbos del genoma humano en el cromosoma X (Kaplan y Delpuch, 1989).

TABLA III
LOCALIZACION DEL GEN EN ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES

ENFERMEDAD	TIPO DE HERENCIA	LOCALIZACION DEL GEN
DISTROFIAS MUSCULARES		
Duchenne/Becker (DMD/DMB)	XR	Xp21
Emery-Dreifuss	XR	Xq28
Facioescapulohumeral	AD	4q35-qter
Cinturas	AR	15
SINDROMES MIOTONICOS		
Distrofia miotónica (Steinert)	AD	19q13.2-q13.3
MIASTENIA HEREDITARIA		
Receptores de acetilcolina		
Subunidad α		2q24-q32
Subunidad β		17p11-p12
Subunidad δ		2q33-qter
MIOPATIAS CONGENITAS		
Miotubular (centrotubular)	XR	Xq28
Central core disease	AD	19q12-q13.2
MIOPATIAS METABOLICAS		
Glucogenosis		
Tipo II (déficit maltasa ácida; Pompe)	AR	17q
Tipo V (déficit fosforilasa; McArdle)	AR	11q
Tipo VII (déficit fosfofructokinasa; Tarui)	AR	1q
Parálisis periódica hiperpotasémica	AD	17q
Hipertermia maligna	AD	19q13.1-q13.3
SINDROMES NEUROGENICOS		
Atrofia muscular espinal (Werdnig-Hoffman)	AR	5q11.2-q13.3
Kugelberg-Welander		
Atrofia muscular espinal (Kennedy)	XR	Xq21.3-q22
NEUROPATIAS SENSORIOMOTRICES HEREDITARIAS		
(Charcot-Marie-Tooth; atrofia muscular peroneal)		
Neuropatía hipertrófica ligada al locus Duffy	AD	1q21.2-q23
N. hipertrófica no ligada al locus Duffy	AD	17p11.2-q23
Neuropatía sensoriomotriz hereditaria	XD	Xq23
NEUROPATIA AMILOIDEA FAMILIAR	AD	18q11-q12.1
ATAXIA DE FRIEDREICH	AR	9cen-q21

XR: recesiva ligada al sexo; XD: dominante ligada al sexo; AR: autosómica recesiva; AD: autosómica dominante.
(Recopilado por V. DUBOWITZ, Neuromuscular Disorders 1991, 1, 75-76)

para detección de portadoras y diagnóstico prenatal. Pero su utilidad está limitada por la frecuencia de nuevas mutaciones, la posibilidad de recombinaciones genéticas, o la imposibilidad de estudiar algunos miembros claves de la familia.

El análisis directo, aún parcial, del ADN correspondiente a la zona genéticamente implicada, ha permitido un mayor conocimiento del gen de la DMD que, compuesto por 2 megabases (2 millones de pares de bases), constituye el gen mayor de los conocidos, equivalente a 1.000 veces el gen de la globina, y la mitad del genoma total de *Escherichia coli*. El tiempo de transcripción de un gen de tales características debe ser de 10 a 30 horas, y contiene alrededor de 60 exones. Con esta estructura gigantesca se explica que el gen de la DMD sea una diana fácil para sufrir mutaciones.

Con los estudios sobre la cadena de ADN, y la progresiva utilización de marcadores intragénicos, se han podido detectar deleciones hasta en 75 % de casos de DMD, volviendo a poner en

duda la alta tasa de nuevas mutaciones, al demostrarse un elevado número de las mismas en madres de niños afectados. La detección de deleciones tiene gran importancia diagnóstica, pues supondría una prueba definitiva para portadoras sanas y consejo prenatal. Pero la existencia de un falso negativo en una portadora obligada (Roses, 1988) y de un falso positivo en el hermano de un niño afecto (Koh y col., 1987) mantiene el análisis de deleciones sólo como método prometedor.

Los estudios de clonación del locus DMD han descubierto una anomalía bioquímica en la DMD, consecuencia de la alteración genética. La DISTROFINA sería la proteína implicada, de 3.685 aminoácidos, cuya secuencia ha sido deducida por completo de la secuencia del ADN-c (ADN complementario). Su masa, de 427 kilodaltons, es mucho menor de la que se podría esperar en función del tamaño del gen; en efecto, la secuencia codante propiamente dicha no es más que de 11 kilodaltons, es decir, el 0.5 % de la longitud total del gen (Tabla IV). La delimitación precisa

TABLA IV
ANATOMIA COMPARATIVA DE ALGUNOS GENES HUMANOS

GEN (Tamaño de la cadena polipeptídica)	TAMAÑO DEL GEN (kb)	LONGITUD CODANTE (kb)	LONGITUD DEL RNAm (kb)	NUMERO DE EXONES	E DE INTRONES (kb)	E DE EXONES LONGITUD GEN
INTERFERON β 1 (20 kDa)	0.9	0.561	0.9	1	0	100 %
B GLOBINA (16.4 kDa)	1.6	0.441	0.623	3	0.986	39 %
COLAGENO α 1 (165 kDa)	38	4.3	6.2	50	32	11 %
APO-B (512 kDa)	43	13.6	14.1	29	31	31 %
FACTOR VIII (330 kDa)	186	7	9	26	177	5 %
DISTROFINA (427 kDa)	2.000	11	14	60	?	0.7 %

kb = kilobase; kDa = kilodalton (Tomado de KAPLAN y DELPECH, 1989).

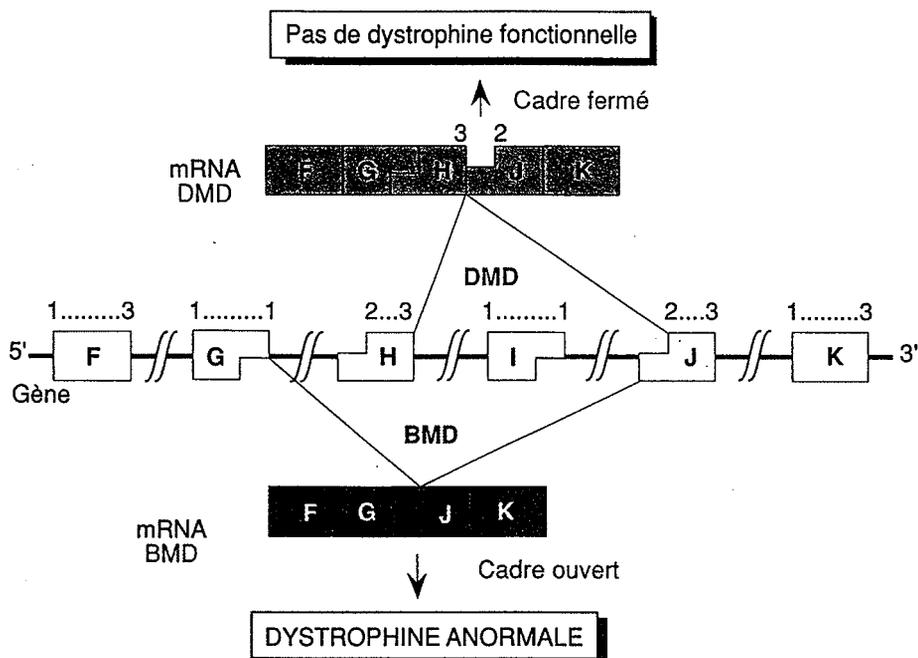


FIG. 2. *DELECCIONES INTERNAS DEL GEN DMD Y CUADRO DE LECTURA: Los exones se designan con las letras F a K. El primer y último nucleótido de cada exón se marca con una cifra que indica el rango que ocupa en su triplete. El esquema muestra la situación de la DMD, en donde las deleciones modifican el cuadro de lectura, y la de la miopatía de Becker (DMB), en que las deleciones no lo modifican (KAPLAN y DELPECH, 1989).*

de las fronteras entre exones/intrones ha permitido constatar que en las deleciones responsables de la DMB, la escisión de cierto número de exones se realiza sin abolición del cuadro de lectura, resultando un mensajero alterado que se traduce en una distrofina anormal. En las deleciones que dan lugar a la DMD, el rebote de los exones restantes produce un retraso en el cuadro de lectura que impide la síntesis de la distrofina, es decir que en la DMD no hay distrofina y en la DMB hay distrofina alterada (fig. 3). Así se explicarían las diferencias en la evolutividad de las dos miopatías, que podrían ser utilizadas desde el punto de vista práctico: la diferenciación entre DMD y DMB será posible por el análisis de la distrofina en fragmentos de la biopsia muscular, que

estará ausente en la DMD y presente, pero disminuida o anormal, en la DMB.

Parece prematura afirmar que la ausencia de distrofina sea la única causa de la DMD, pero puede ser un excelente marcador bioquímico de esta enfermedad. Su presencia en mayor o menor grado en mujeres portadoras, consecuencia de la variable ionización del gen, la hace de dudosa eficacia diagnóstica. La situación actual en el diagnóstico prenatal y de portadoras no ha llegado a una de sus metas: la detección o exclusión segura del gen anormal. Las nuevas técnicas, sumadas a las clásicas, permiten aumentar el espectro diagnóstico, de modo que sea también esperanzadora la posibilidad de tratamiento de las distrofias musculares en un futuro próximo.

BIBLIOGRAFIA

1. ARRANZ GOMEZ, J.; VIDAL SAMPEDRO, J.; HERRANZ FERNANDEZ, J. L.; ARTEAGA MANJON-CABEZA, R.: *Valor de la ecografía muscular en la detección de portadoras de distrofia muscular progresiva*. An Esp Pediatr. 1988, 28, 35-37.
2. BAIGET, M.; DEL RIO, E.; GALLANO, P.: *Empleo del c-ADN de la distrofina para el diagnóstico directo de portadores de distrofia muscular de Duchenne*. Neurología 1989, 4, 268-275.
3. BAKKER, E.; GOOR, N.; WROGEMANN, L. M. y COL.: *Prenatal diagnosis and carrier detection of Duchenne muscular dystrophy with closely linked RFLPs*. Lancet 1985, 1, 655-658.
4. DUBOWITZ, V.: *Neuromuscular disorders, gene location*. Neuromuscular Disorders 1991, 1, 75-76.
5. EMERY, A. E.: *Population frequencies of inherited neuromuscular diseases. A world survey*. Neuromuscular Disorders 1991, 1, 19-29.
6. GUTMANN, DH.; FISCHBECK, K.: *Molecular biology of Duchenne and Becker's muscular dystrophy: clinical applications*. Ann Neurol 1989, 26, 189-194.
7. HARPER, P. S.; THOMAS, N. S. T.: *A molecular approach to genetic counseling in the X-linked muscular dystrophies*. Am J. Med. Genet 1986, 25, 687-702.
8. HERRANZ, J. L.; MAZO, E.; ARTEAGA, R.; HERMOSA, V.; ZUBIZARRETA, A.: *Estudio de las proteínas de la membrana eritrocitaria en la distrofia muscular progresiva*. An Esp. Pediatr. 1981, 15, 433-442.
9. HOFFMANN, E. P.; FISCHBECK, K. H.; BROWN, R. H.; JOHNSON, M. y COL.: *Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy*. N. Engl. J. Med. 1988, 318, 1363-1368.
10. KAPLAN, J. C.; DELPECH, M.: *Biologie moléculaire et médecine*. Flammarion, París, 1989, pp. 35-36 y 307-320.
11. MARTINEZ MATOS, J. A.: *Consejo genético en la distrofia muscular de Duchenne*. Neurología 1989, 4, 265-167.
12. NUNES MARTINEZ, V.; GALLANO PETIT, P.; DEL RIO CONDE, E.; CASALS SENENT, T.; BAIGET BASTUS, M.: *Detección de portadoras y diagnóstico de la distrofia muscular de Duchenne mediante análisis del ADN*. Ans. Esp. Pediatr. 1988, 28, 93-99.
13. ROSES, A. D.: *Mutants in Duchenne muscular dystrophy, implications for prevention*. Arch. Neurol. 1988, 45, 84-85.
14. WORTON, R. G., GURGHES, A. H.: *Molecular genetics of Duchenne and Becker muscular dystrophy*. Int. Rev. Neurobiol. 1988, 29, 1-76.