

Genética de la distrofia muscular de Duchenne/Becker

Jesús Molano

*Unidad de Genética Molecular
Hospital Universitario La Paz
Madrid*

Distrofias musculares hereditarias

Definición:

Grupo de enfermedades caracterizadas por debilidad muscular progresiva y cambios degenerativos en el tejido muscular .
Su herencia es de tipo mendeliano

Distrofias musculares mas frecuentes:

Distrofia muscular de Duchenne/Becker

Distrofias miotónicas 1y 2

Distrofia muscular de cinturas escapulohumeral y pélvica

Distrofia muscular de Emery-Dreifuss

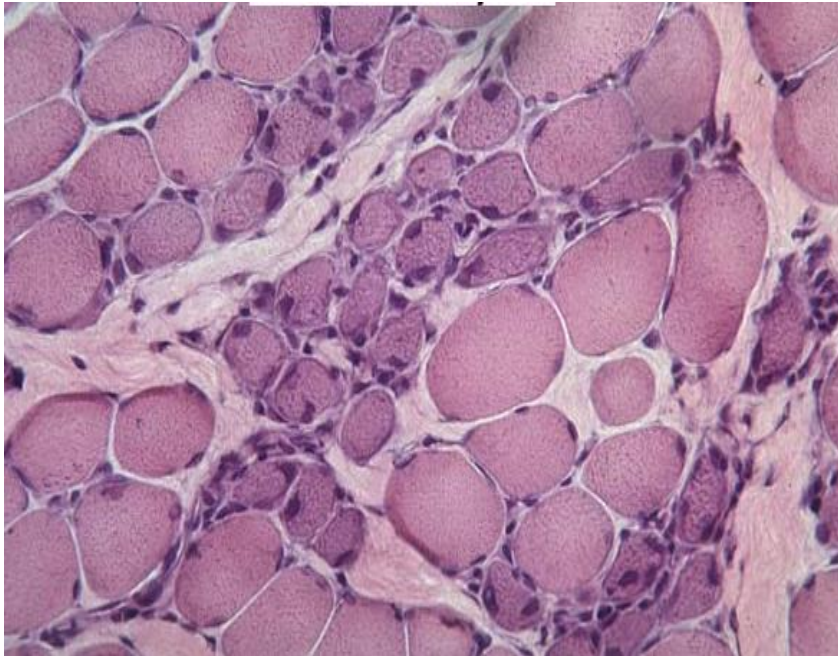
Distrofia muscular facioescapulohumeral

Distrofia muscular oculofaríngea

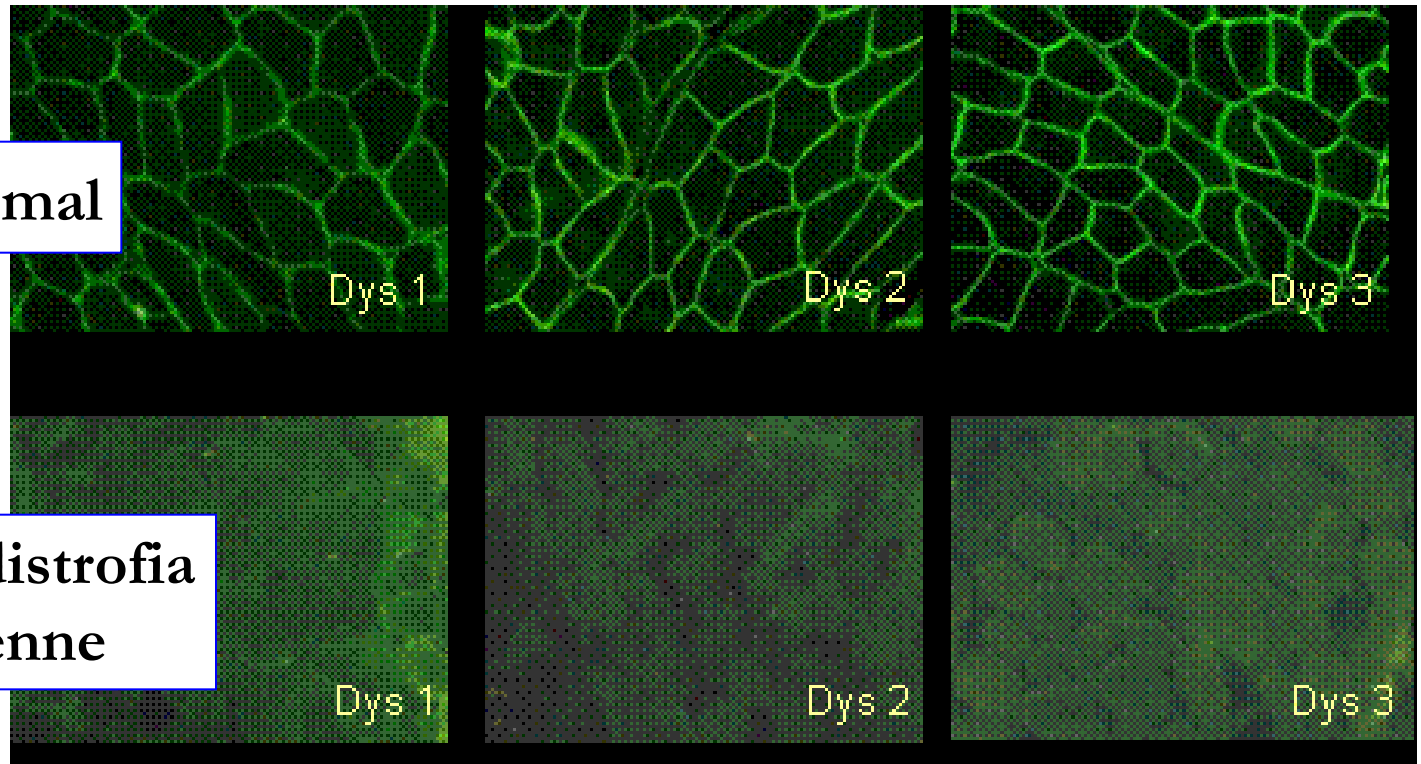
Distrofias musculares congénitas, etc.

Anatomía patológica en las distrofias musculares

Degeneración muscular progresiva con desaparición de tejido muscular y aumento del tejido conjuntivo. Pueden llevar alteraciones cardíacas asociadas



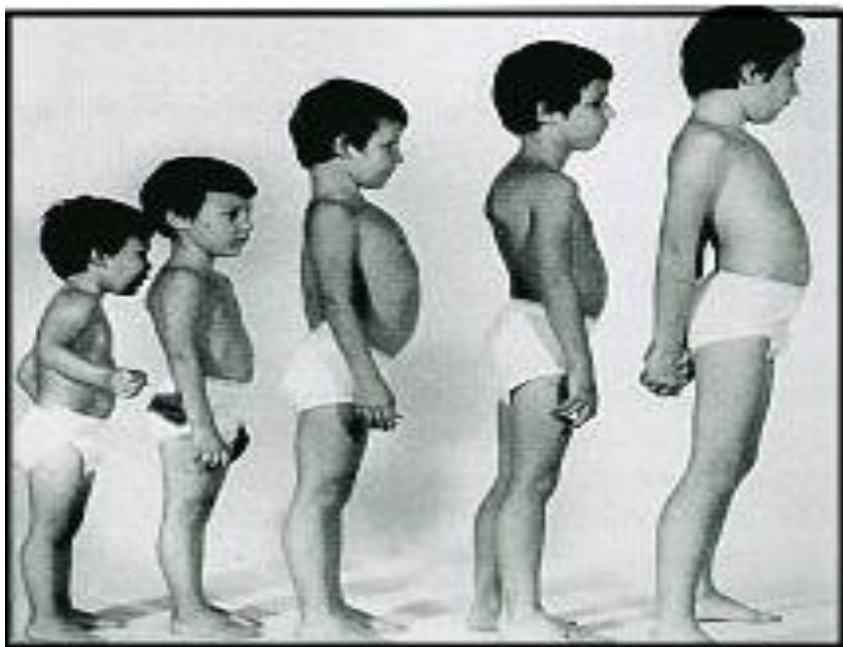
Músculo normal



**Músculo de distrofia
de Duchenne**

Distrofia muscular de Duchenne

- Enfermedad grave
- Degeneración muscular y fibrosis
- Miocardiopatía dilatada
- Leve déficit intelectual
- Esperanza de vida: 20 años



1-4 años:

- Inicio de los síntomas
- Dificultad para andar y levantarse.
- Maniobra de Gowers

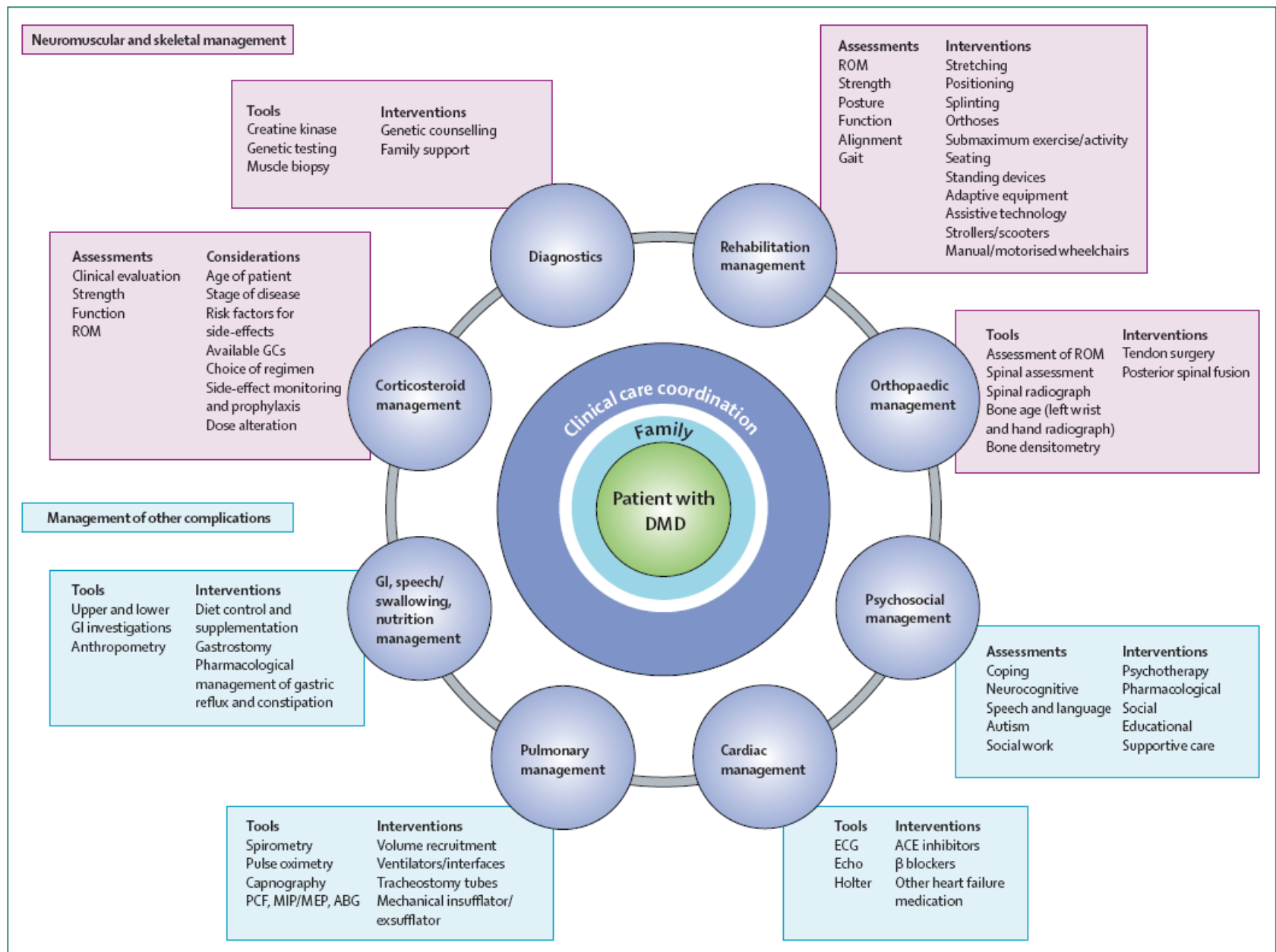
5-10 años:

- Hiperlordosis.
- Pseudohipertrofia de pantorrillas.
- Debilidad en brazos y cuello.

10-15 años:

- Necesidad de aparatos ortopédicos y silla de ruedas.
- Escoliosis.
- Cardiopatía y problemas respiratorios.
- Fallecimiento antes de los 20 años.

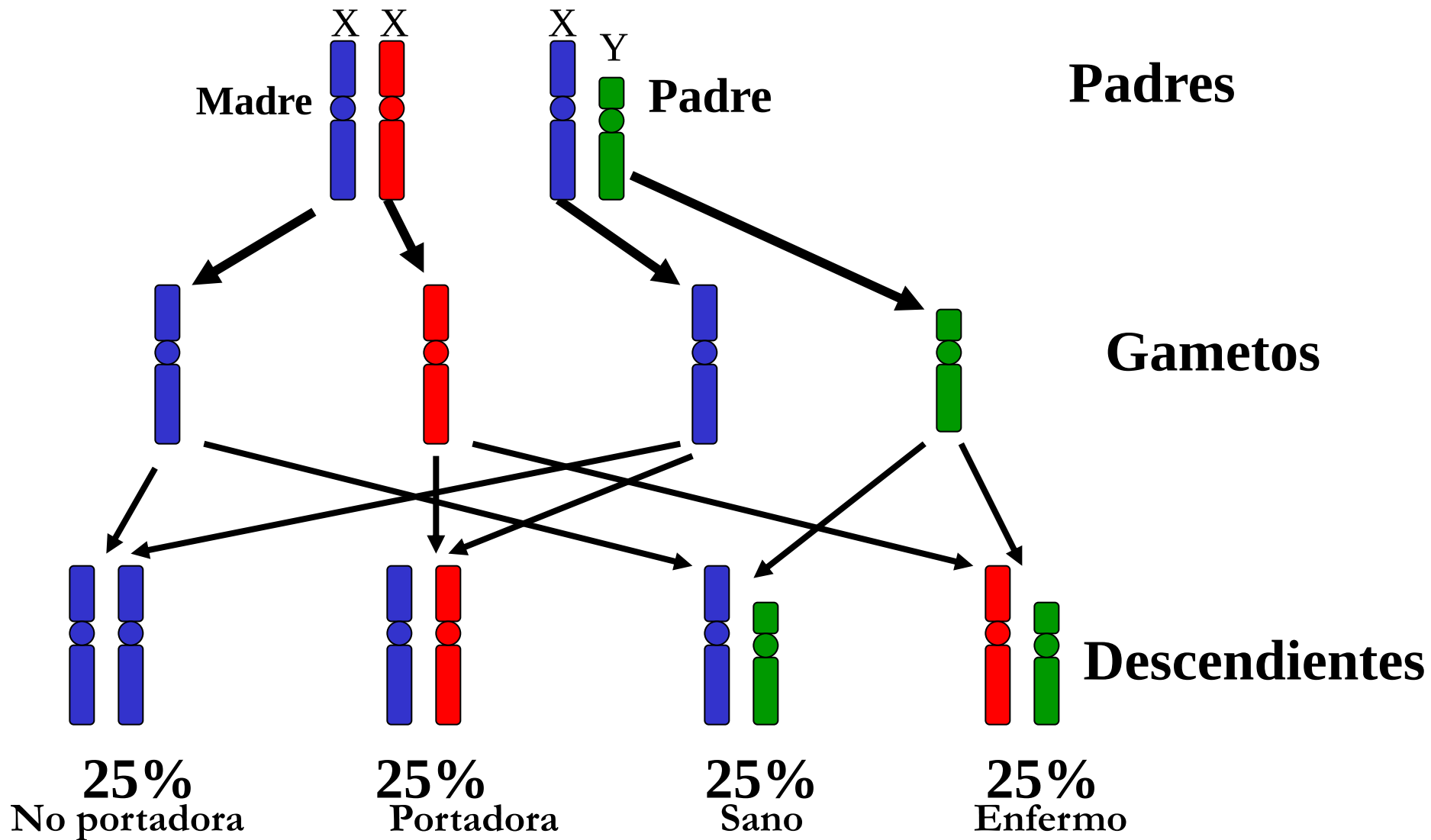




Distrofia muscular de Duchenne/Becker: Herencia mendeliana ligada al cromosoma X recesiva

- La enfermedad la padecen exclusivamente los varones
- Solamente las mujeres pueden transmitir la enfermedad
- La probabilidad de una mujer portadora de tener un hijo afectado es de 1 en 4

Herencia mendeliana ligada al cromosoma X recesiva



Herencia en la distrofia muscular de Duchenne/Becker

- 1/3 de los casos son debidos a mutaciones de novo en la línea germinal materna
- Aproximadamente el 60-65 % de los casos se deben a deleciones de gran tamaño en el gen de la distrofina
- Algunos pacientes sufren una forma leve de la enfermedad llamada distrofia muscular de Becker

DMD →

Cromosoma X



Características de la distrofina y de su gen

Gen de la distrofina

>2000 Kb

14 Kb mRNA

79 exones

Proteína distrofina

427 Kdalton

3685 aminoácidos

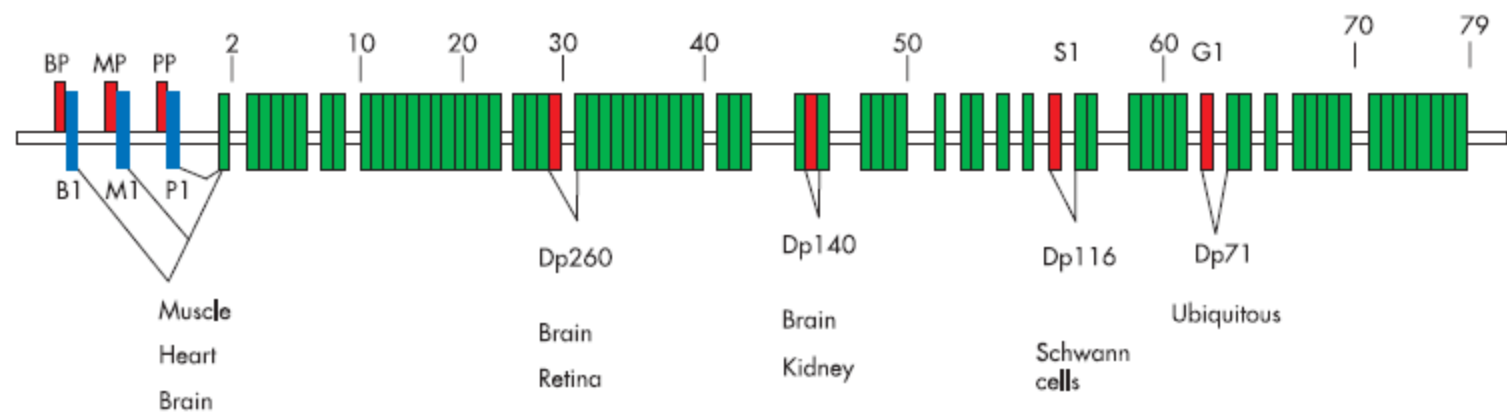
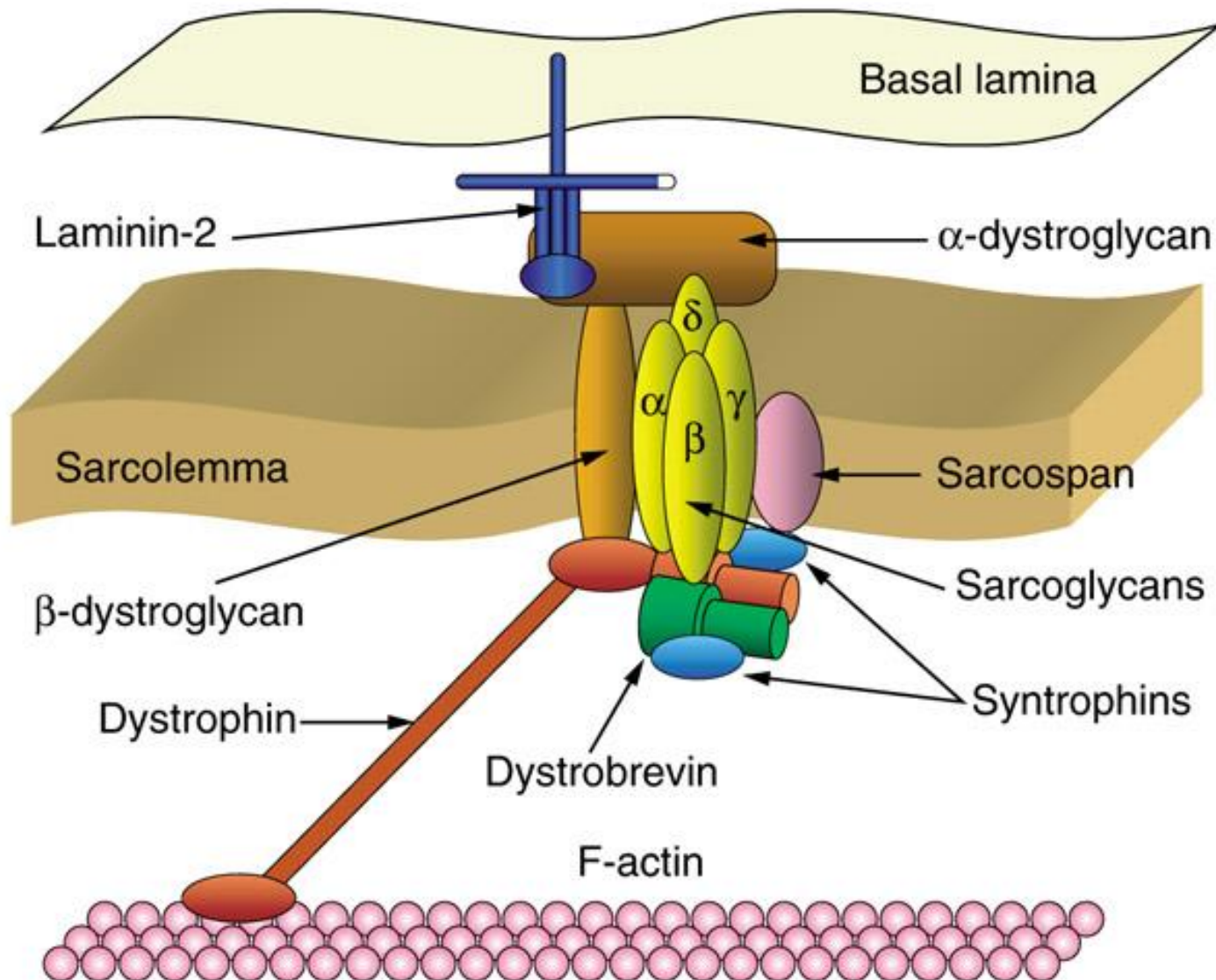


Figure 1 Physical map of the dystrophin gene. Green boxes indicate exons, blue boxes indicate exons specific for each promoter (B1, first brain exon; M1, first muscle exon; P1, first Purkinje exon), and red boxes indicate promoters (BP, brain promoter; G1, general type promoter; MP, muscle promoter; PP, Purkinje promoter; S1, Schwann cell promoter). Not drawn to scale.

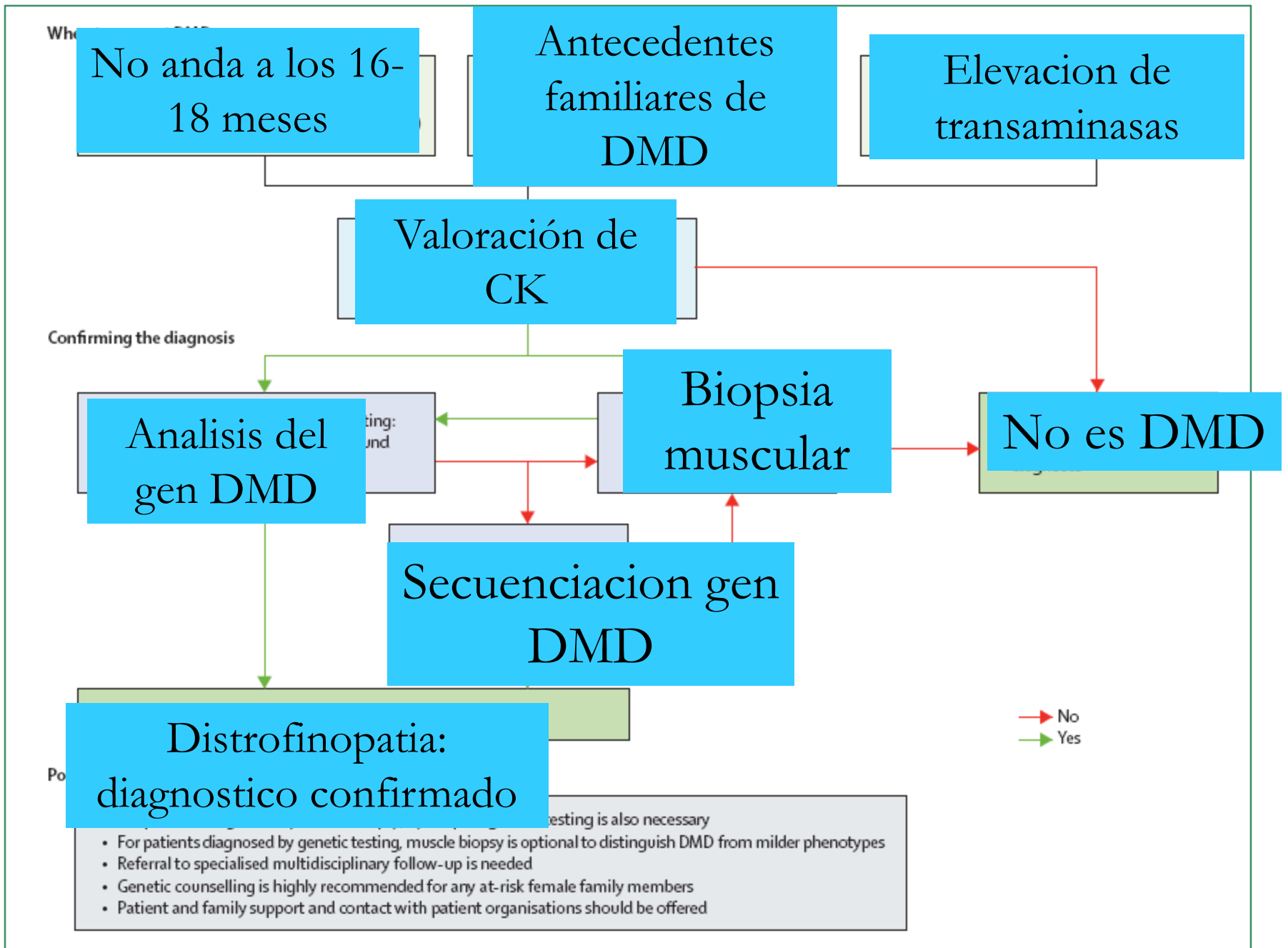
Cohen y Muntoni. Heart 2004;90:835–841



Chakkalakal et al. *FASEB J.* 19, 880–891 (2005)

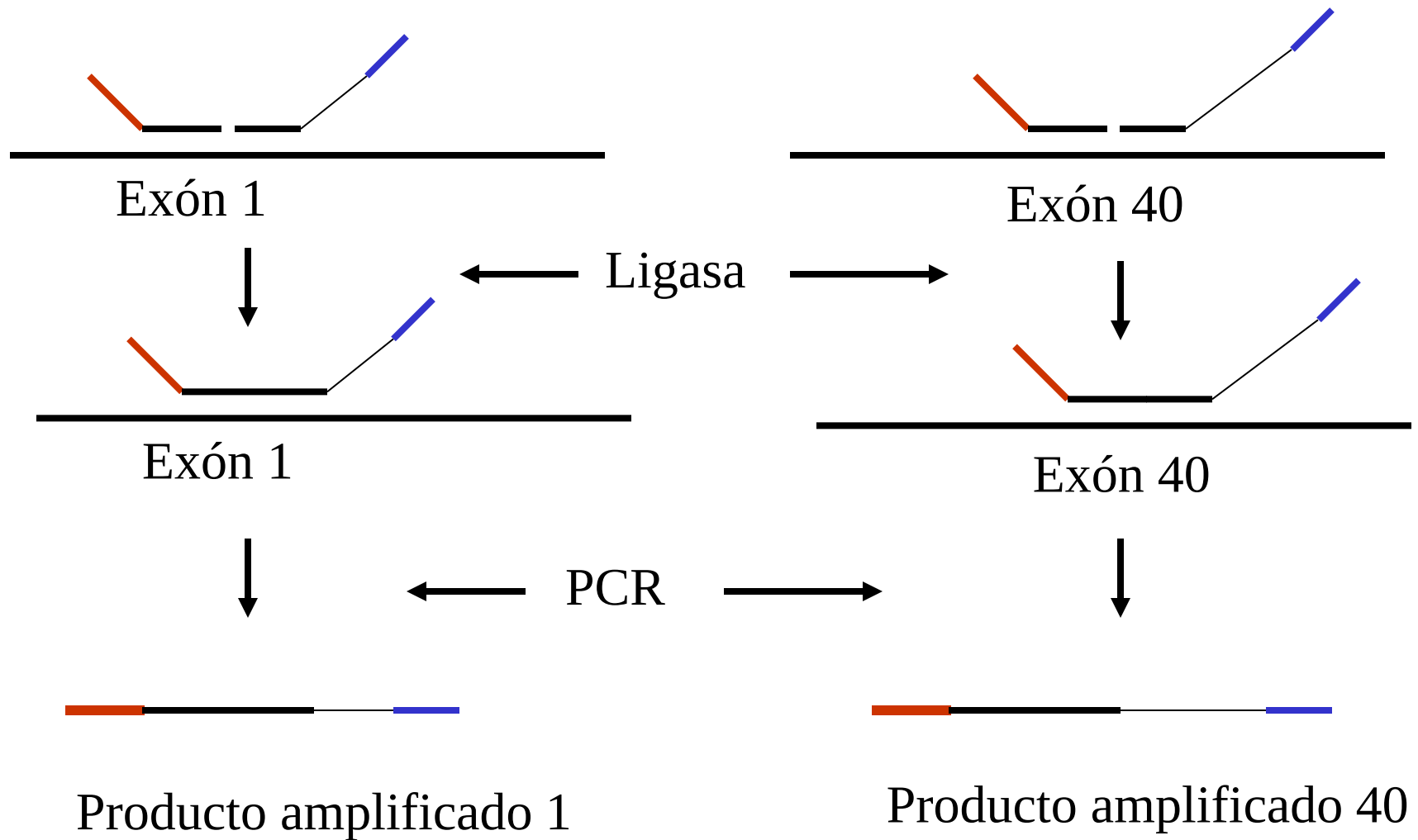


El diagnóstico genético de la distrofia muscular de Duchenne



— Primer Y
— Primer X

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)



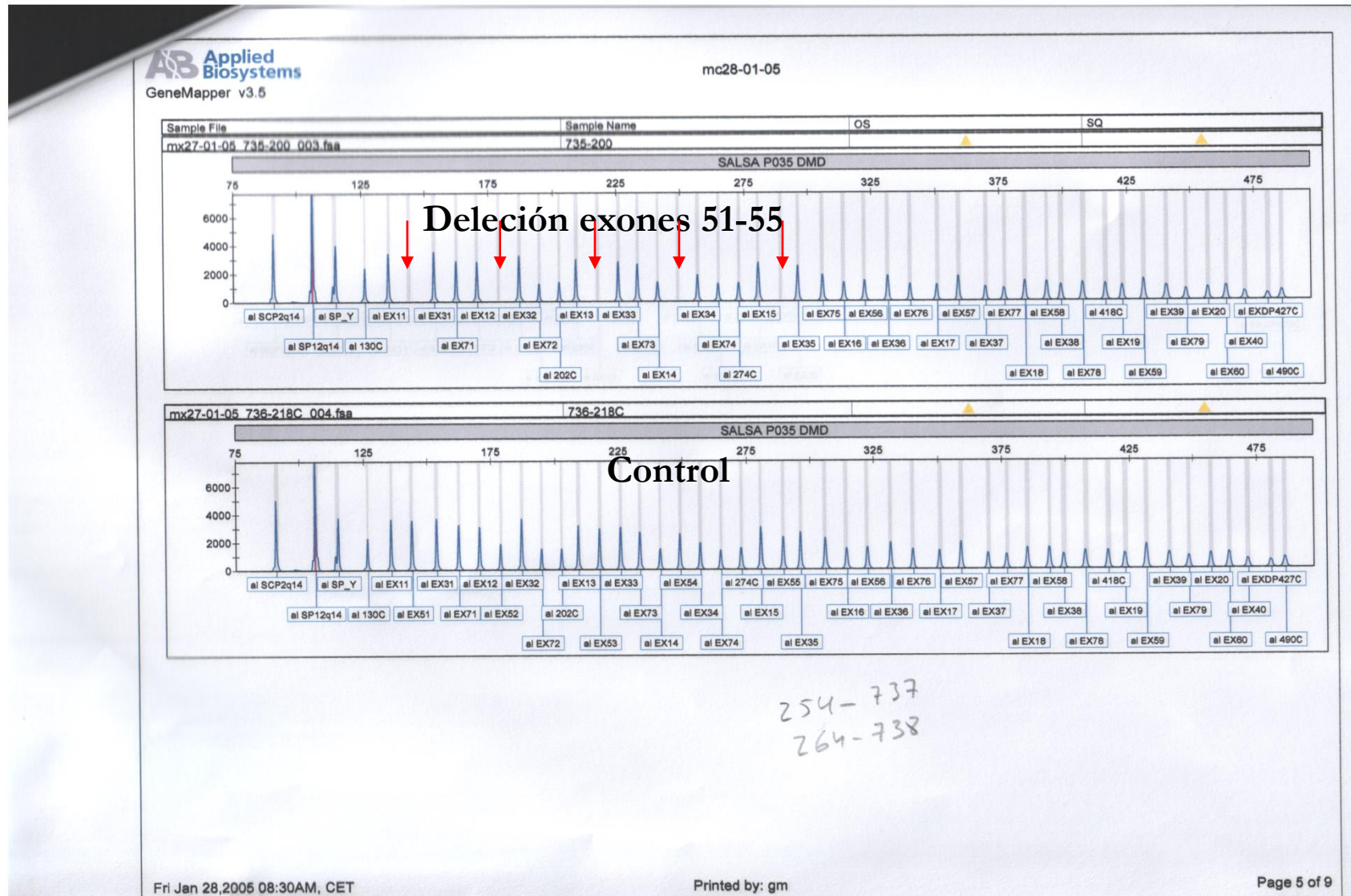
**Pacientes de distrofia muscular de Duchenne
analizados en la Unidad de Genética Molecular.
Hospital Universitario La Paz (1992-2012):**

n=150

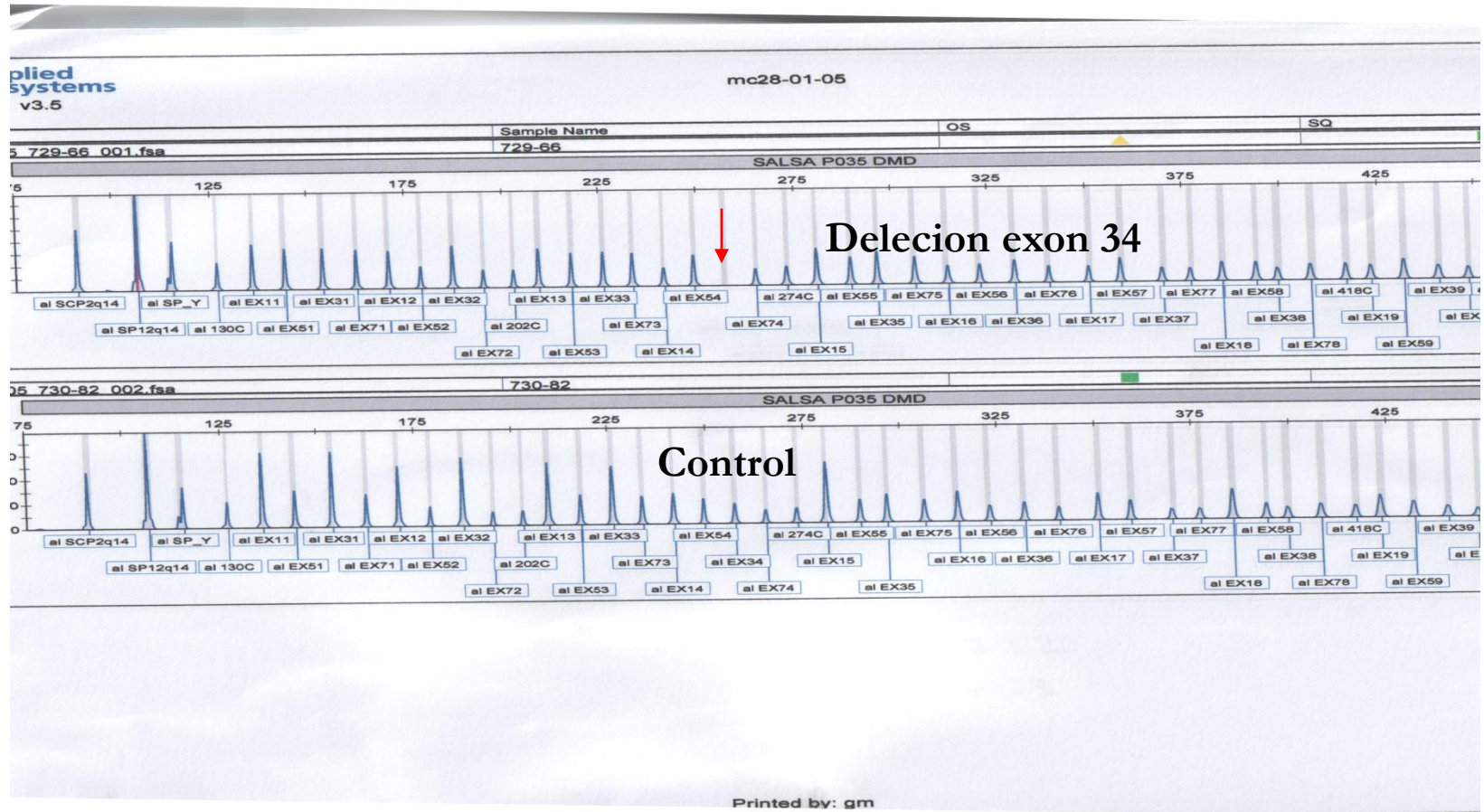
Pacientes con del/dup: 93 (62%)

Pacientes sin del/dup: 57 (38%)

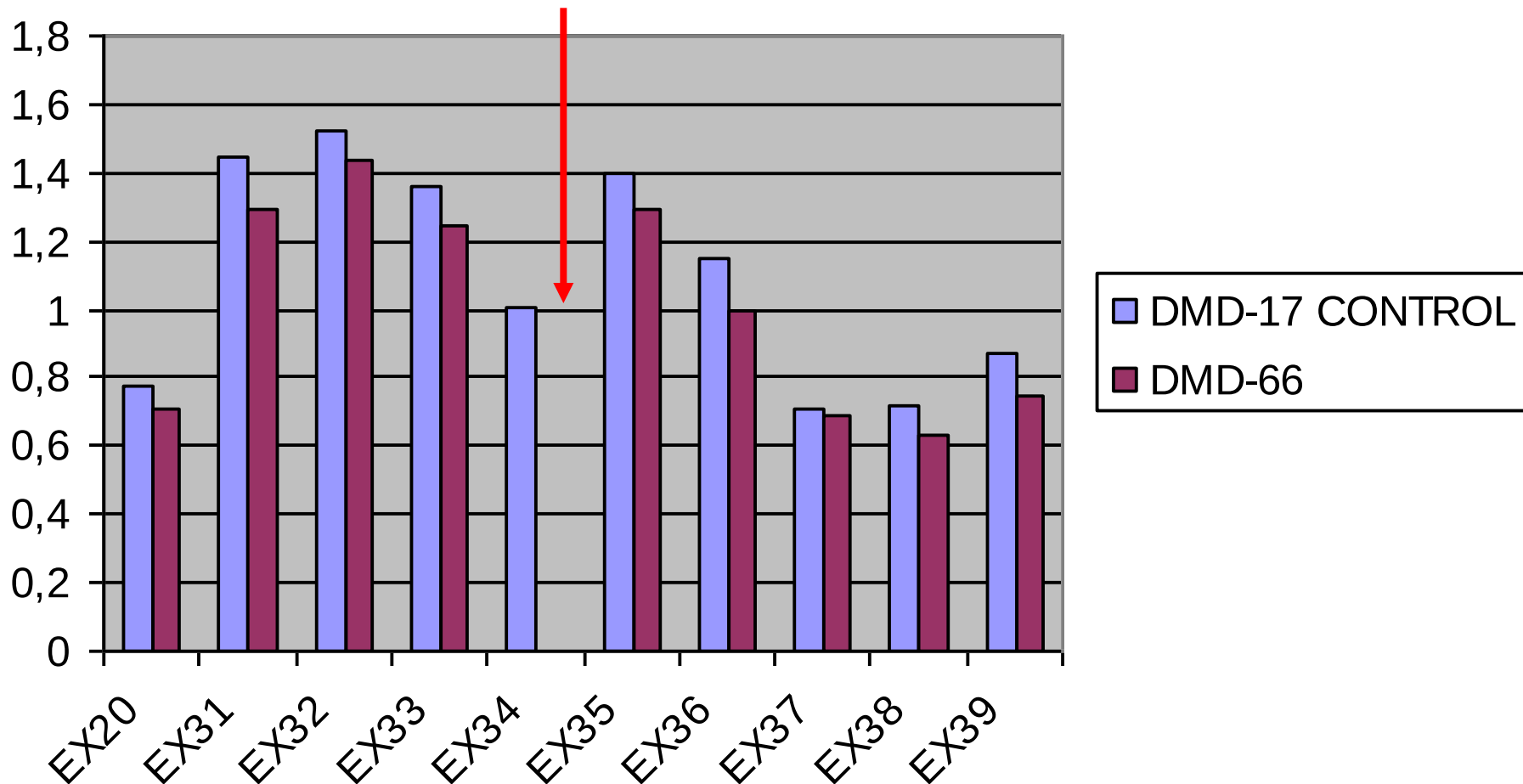
Analisis del gen DMD mediante la técnica de MLPA



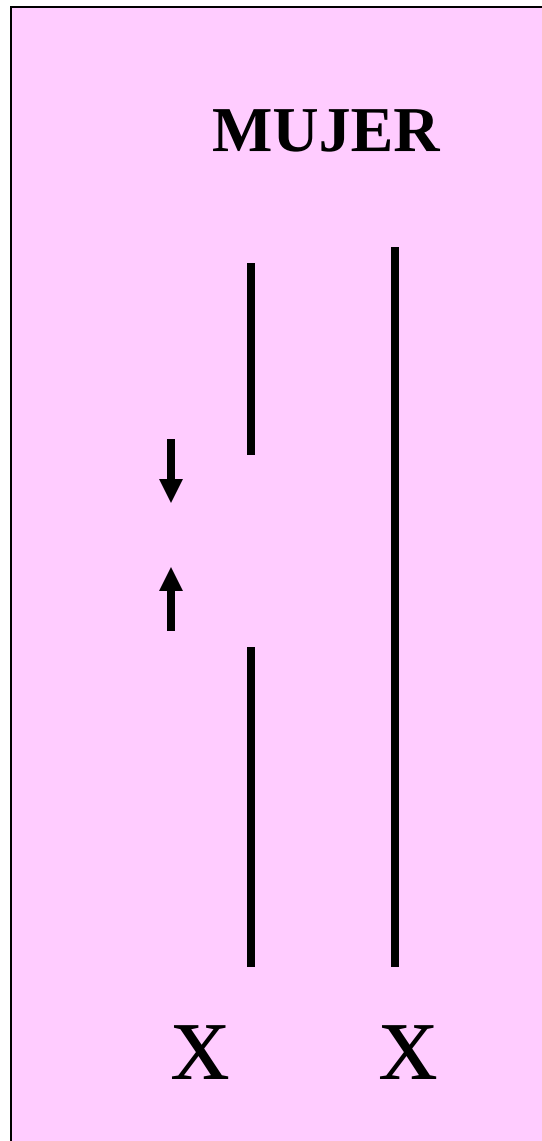
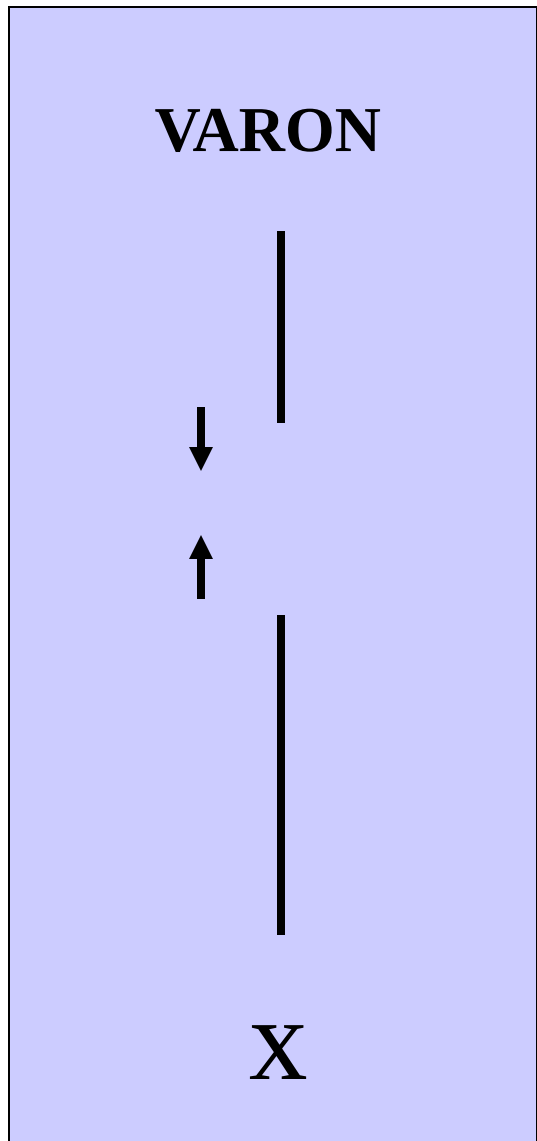
Analisis del gen DMD mediante la técnica de MLPA



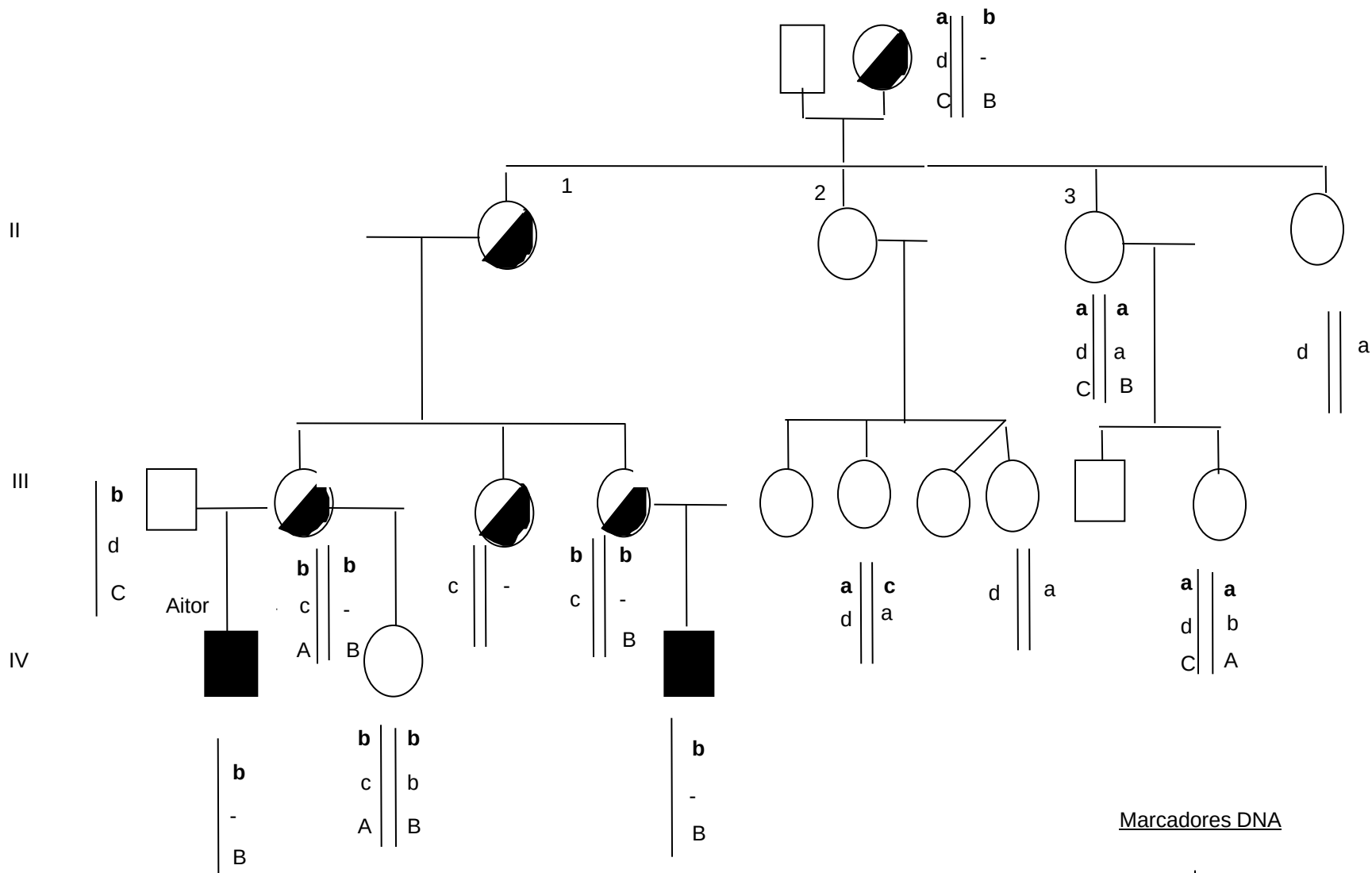
Analisis del gen DMD mediante la técnica de MLPA



**Con la técnica de MLPA
se detectan casi todas las deleciones y
duplicaciones de gran tamaño en el gen
DMD (60-70% de los pacientes de
distrofia muscular de Duchenne/Becker)**



Amplificación por PCR de regiones delecionadas en varones y en mujeres

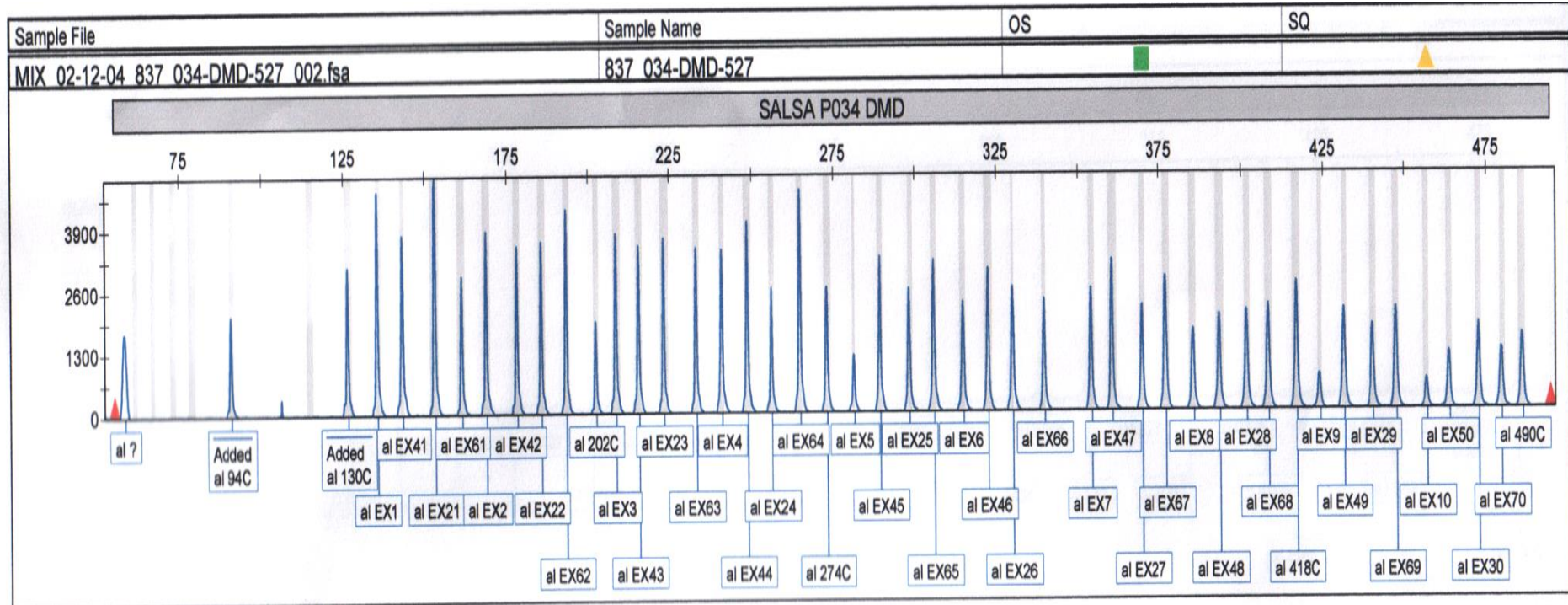


Marcadores DNA

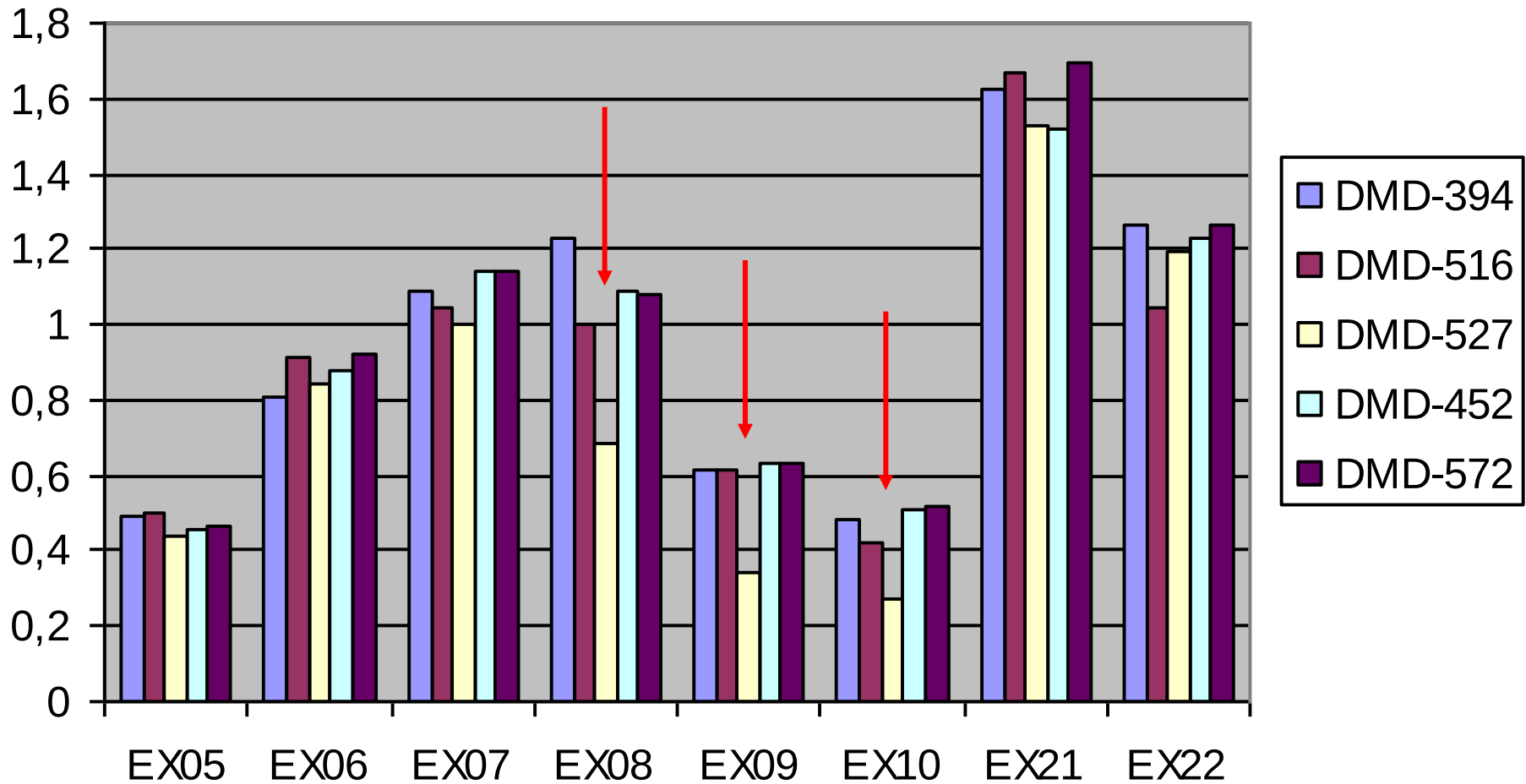
3'-CA = a,b,c
 Str-50 = a,b,c,d
 DYS-I = A,B,C

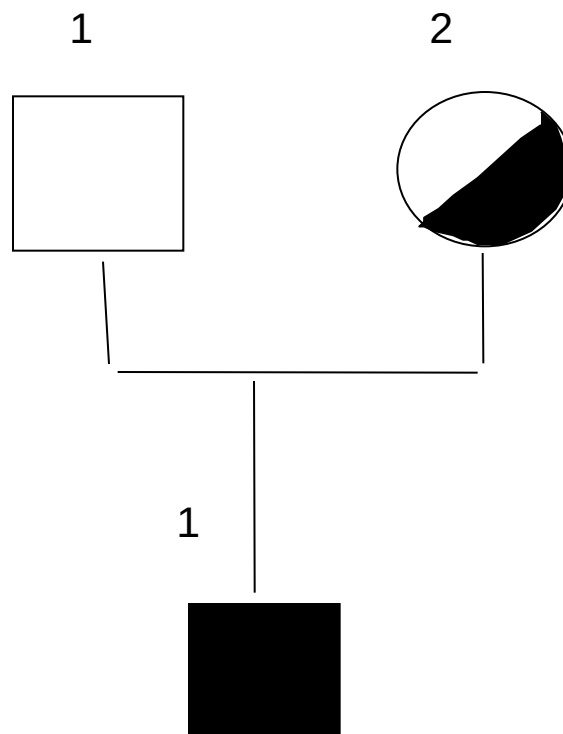
DMD-092

Análisis de MLPA de una mujer



Deleción de exones 8-9-10 en portadora de Duchenne

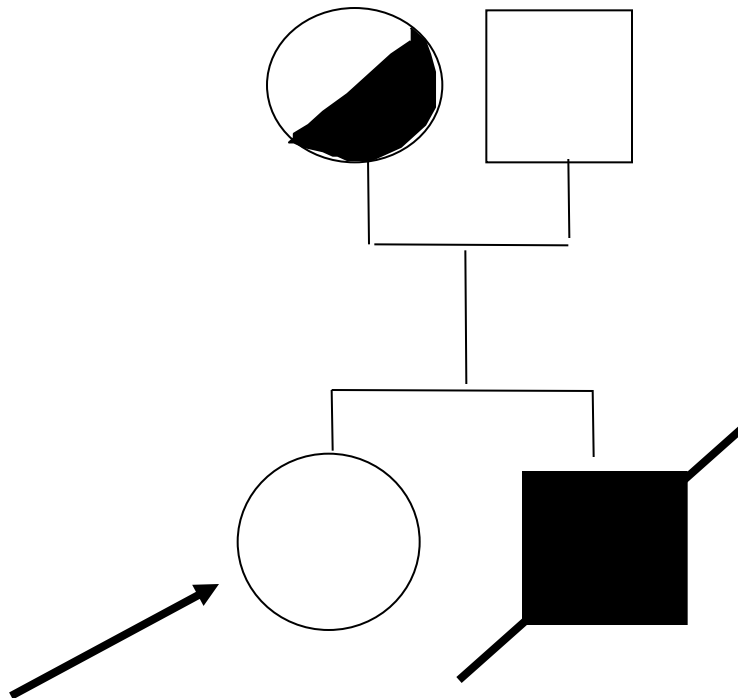




Mujeres con antecedentes de distrofia de Duchenne y mutación conocida analizadas mediante MLPA

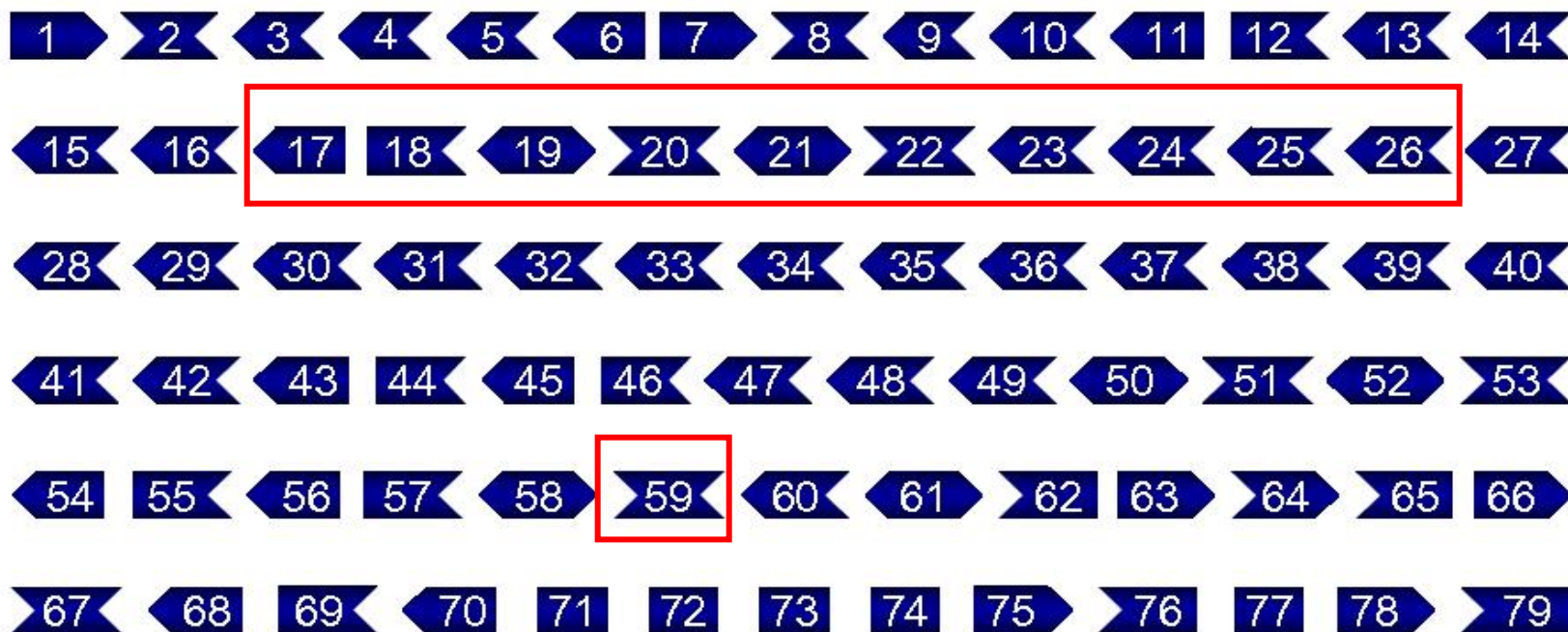
Total mujeres	120
---------------	-----

Portadoras	66
------------	----



Mujeres con antecedentes de DMD y sin muestra y sin datos del paciente que resultaron portadoras:

9



Los exones del gen DMD

www.dmd.nl

Formas clínicas de distrofinopatía según la delección que presenta el paciente

En fase alterada

En fase correcta

Distrofia de Duchenne

96

4

Distrofia de Becker

16

84

La forma clínica se corresponde con el tipo de delección(frameshit/non-frameshift)

Patient ID	Deleted exons as detected by MLPA analysis	Clinical form as predicted by the frameshift hypothesis	Actual disease
HDL	45-50	DUCHENNE	DUCHENNE
RPG	45-54	DUCHENNE	DUCHENNE
JFA	8-27	DUCHENNE	DUCHENNE
RCC	11-17	DUCHENNE	DUCHENNE
AMS	45	DUCHENNE	DUCHENNE
ACS	18-41	DUCHENNE	DUCHENNE
JSL	45	DUCHENNE	DUCHENNE
VAG	8-30	DUCHENNE	DUCHENNE
JDM	51-55	DUCHENNE	DUCHENNE
JHG	43-45	DUCHENNE	DUCHENNE.
JMG	56	DUCHENNE	DUCHENNE
JRP	46-47	DUCHENNE	DUCHENNE
JBC	Pm-44	DUCHENNE	DUCHENNE
MGF	45-54	DUCHENNE	DUCHENNE
EOG	45-55	BECKER	BECKER
MRF	45-53	BECKER	BECKER
CAV	45-53	BECKER	BECKER
DGJ	45-52	DUCHENNE	DUCHENNE
FDG	53-55	DUCHENNE	DUCHENNE
PAV	45-51	BECKER	BECKER
APD	8-11	DUCHENNE	DUCHENNE
JGG	45-47	BECKER	BECKER
MG	14-29	BECKER	BECKER
MAC	12-20	DUCHENNE	DUCHENNE
JCP	34	INGEMM	BECKER

Secuenciación del gen DMD (79 exones mas Promotor)

1. Si no se encuentra delección o duplicación en paciente con sospecha clínica, historia familiar o biopsia muscular positiva
2. Secuenciación del mRNA en aquellos casos que cumplen los criterios del punto 1 y no se ha encontrado la mutación después de secuenciar todos los exones.
3. Cuando el MLPA detecta una delección de un exón que resulta ser una falsa delección
4. Búsqueda en familiares de la mutación previamente encontrada en el paciente

<i>Tipo de mutación</i>	<i>Nº de pacientes</i>	<i>Fracción (%)</i>
Deleciones	82	54,6
Duplicaciones	11	7,3
Mutaciones puntuales	6	4
No detectada	51	34
TOTAL	150	100

<i>Mutación (DNA)</i>	<i>Efecto sobre proteína</i>
c.6292C>T	p.Arg2098Stop
c.2712_2713insC	p.Met905HisFsX18
c.8608C>T	R2870X
c.1735_1736delGA	p.Glu579Argfs*12
c.2666_2667insA	p.Arg889Gln_fs30X
c.961-1G>A	

Tipos de diagnóstico genético

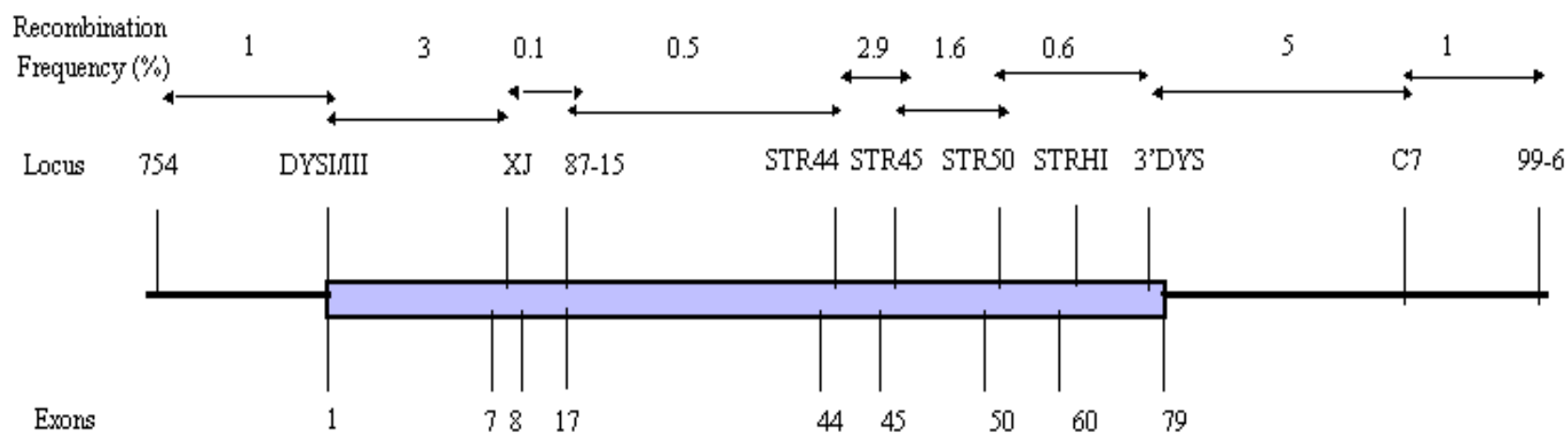
Directo:

Se busca la mutación causante

Indirecto:

Se analizan marcadores de DNA
ligados al gen mutado

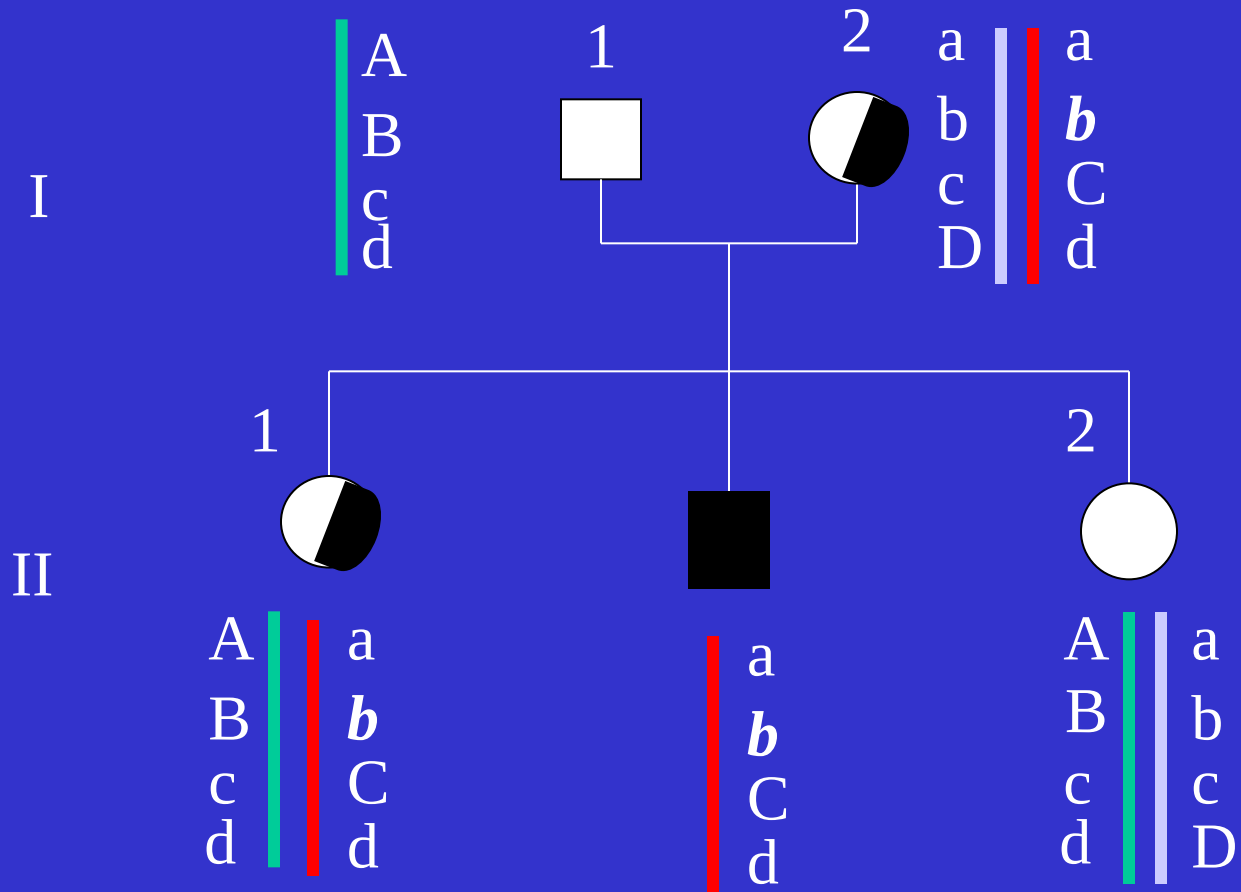
Figure 4 Recombination frequencies across the dystrophin gene



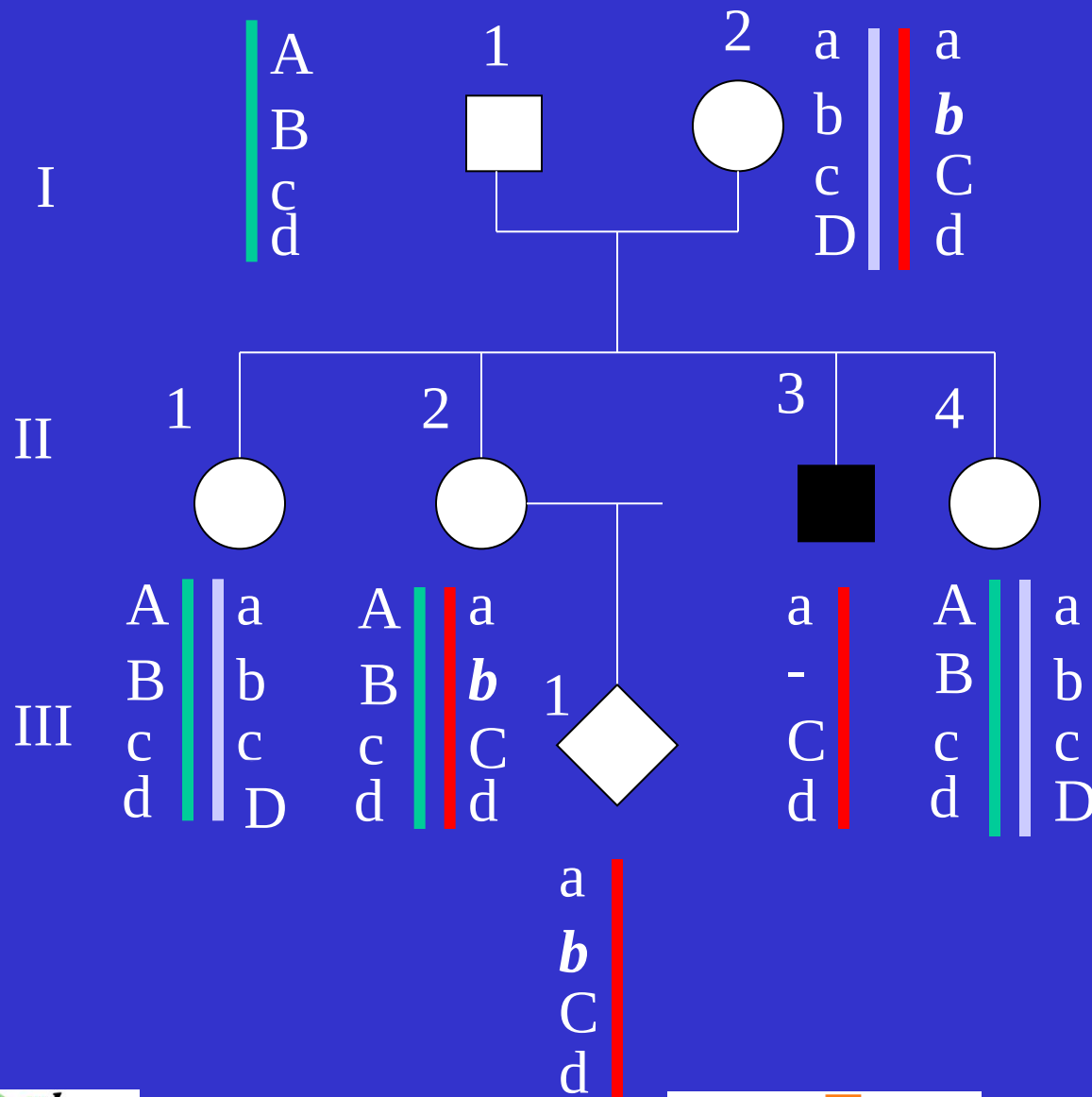
Marcadores de DNA utilizados en el diagnóstico de la distrofia de Duchenne

5' DYS II	1,2 Kb 5' exón 1 Dp427b	8	220	0,77
STR-4-5	8,4 Kb 5' exón 5	8	133	0,64
STR44	13,8 Kb 3' exón 44	12	196	0,86
P20-CA	40 Kb 5' exón 45		246	>0,80
STR45	1,2 Kb 3' exón 45	13	172	0,89
STR48	9 Kb 5' exón 49	4	128	0,7
STR49	Intrón 49	19	249	0,93
STR50	Intrón 50	6	241	0,72
STR 63-I ó DMD1-2c	Intrón 55-57	5	251	0,51
3' DYS (ó 3'CA)	Exón 79	5	133	0,34
AFM184xg5	>20 Kb 3' exón 79	11		0,87
AFM112xf2	>20 Kb 3' exón 79	5	120	0,61
3'-19n8			148	0,58
DYS3+17			254	0,76

Diagnóstico de portadoras de distrofia de Duchenne



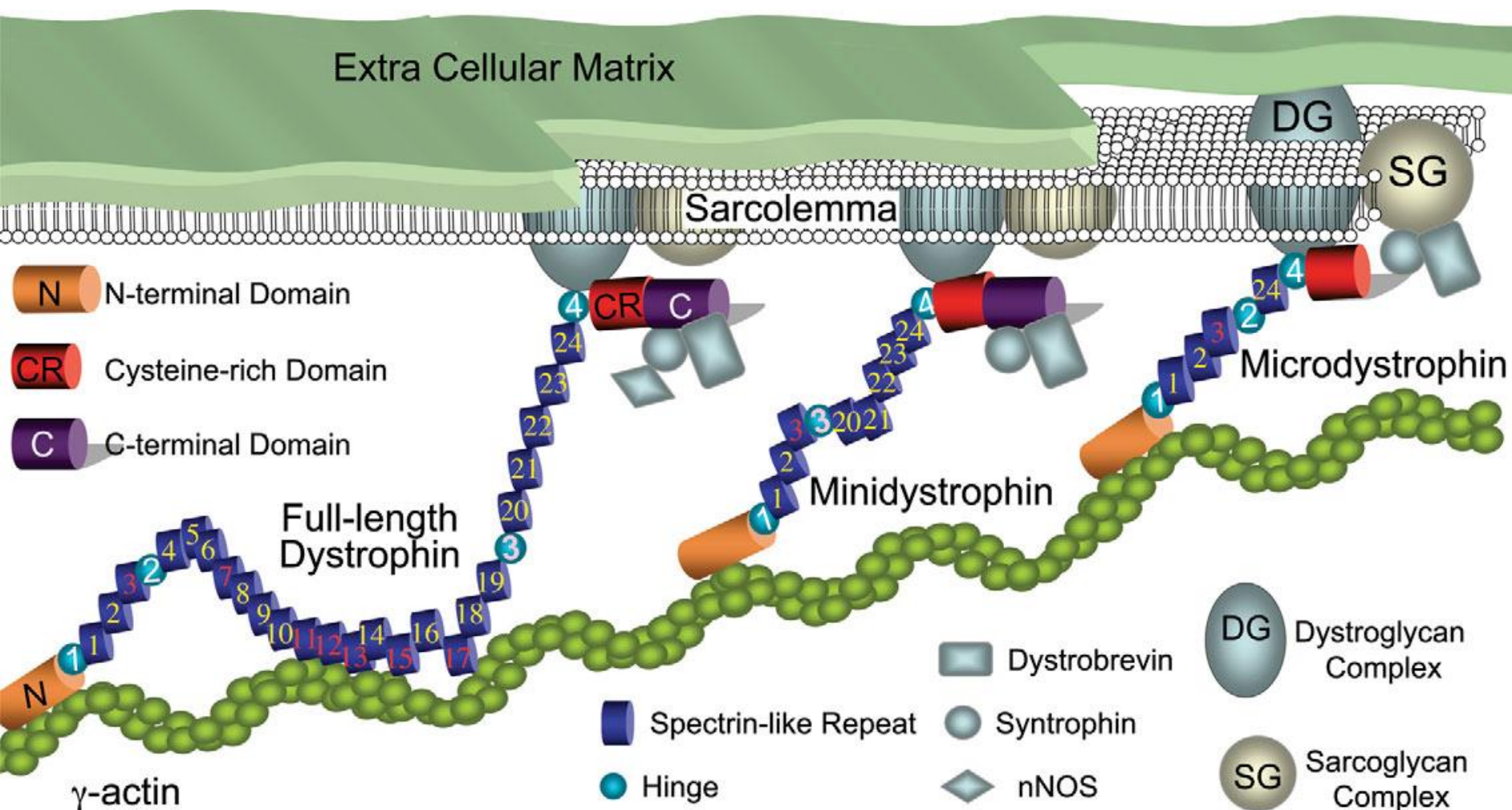
Diagnóstico prenatal de distrofia de Duchenne

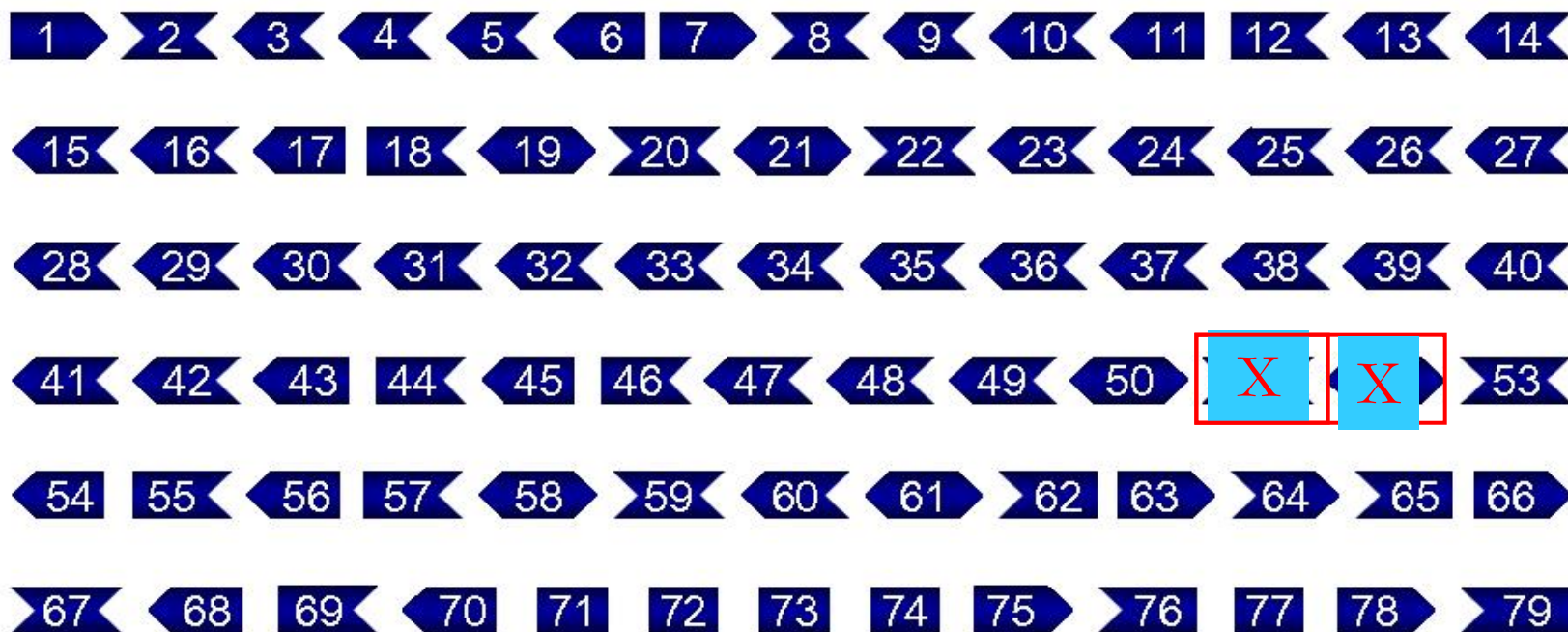


Tratamiento de la distrofia de Duchenne

Prednisona

Terapia génica

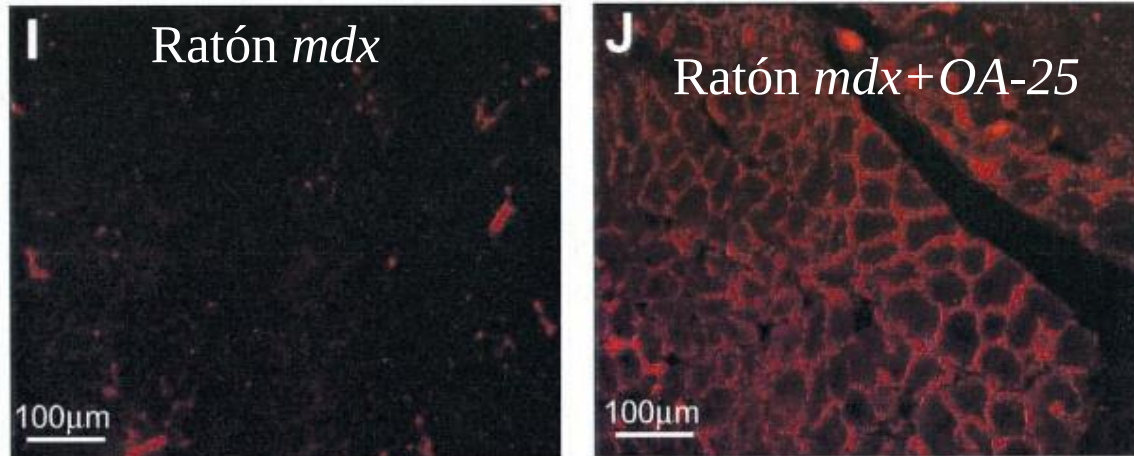




Los exones del gen DMD

www.dmd.nl

Resultado de la remoción del exón 23 del gen DMD del raton mdx



Tincion con anticuerpos anti-beta-sarcoglicano de músculo de ratón *mdx* después de la inyección intramuscular de OA-25

Mann et al. Proc.Nat.Acad. Sci. 2001



Contents lists available at ScienceDirect

Neuromuscular Disorders

journal homepage: www.elsevier.com/locate/nmd



Workshop report

Best Practice Guidelines on molecular diagnostics in Duchenne/Becker muscular dystrophies

Stephen Abbs^{a,*}, Sylvie Tuffery-Giraud^b, Egbert Bakker^c, Alessandra Ferlini^d,
Thomas Sejersen^e, Clemens R. Mueller^f

^a DNA Laboratory, GTS Pathology, Guy's Hospital, London SE1 8RT, UK

^b Université Montpellier I, UFR Médecine and INSERM U827, Montpellier F-34000, France

^c Department of Human and Clinical Genetics, LUMC, 2333 AL Leiden, The Netherlands

^d Sezione di Genetica Medica, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica Università di Ferrara, Italy

^e Karolinska Institute, Neuropediatric Unit, Stockholm 171 76, Sweden

^f Universität Würzburg, Institut für Humangenetik, Biozentrum, 97074 Würzburg, Germany

Artículo especial

**Recomendaciones de buenas prácticas para el diagnóstico genético de las distrofias
musculares de Duchenne y de Becker**

Jonàs Juan-Mateu^a, Pia Gallano^{a*}, Maria José Trujillo-Tiebas^b y Grupo
AEGH/CIBERER^b

