



Hospital Universitario
12 de Octubre



MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE LAS DISTROFIAS MUSCULARES DE CINTURAS

A. Camacho, R. Simón, A. Cabello
Neuropediatría / Neuropatología

OBJETIVOS

- Distrofias de cinturas de debut pediátrico
- Claves diagnósticas
- Mecanismos fisiopatológicos
- Aplicaciones terapéuticas
- Distrofias de cinturas + otros fenotipos

DISTROFIA MUSCULAR DE CINTURAS

Limb Girdle Muscular Dystrophy (LGMD)

Concepto actual: Bushby-Beckman 1995

- Grupo heterogéneo
- Enfermedades musculares progresivas
- Origen genético (AD/AR)
- Afectación inicial o predominante de cinturas
- Respetan m. faciales y extraoculares
- Debut no congénito
- Progresión muy variable
- Biopsia muscular con hallazgos distróficos
- Exclusión otras causas síndrome de cinturas

Heterogeneidad genética



LGMD1 (autosómico dominante)

Subtipo	Proteína	Localización	Locus
1A	Miotilina	Sarcómero	5q31
1B	Lamina A/C	Nuclear	1q21
1C	Caveolina-3	Membrana	3p25
1D	HSP-40 homologo		7q36
1E	Desmina		2q35
1F	?	?	7q32
1G	?	?	4p21
1H	?	?	3p23

LGMD2: autosómico recesivo

Subtipo	Proteína	Localización	Locus
2A	Calpaina-3	Citosol	15q15.1
2B	Disferlina	Membrana	2p13
2C	γ-Sarcoglicano	Membrana	13q12
2D	α-Sarcoglicano	Membrana	17q21
2E	β-Sarcoglicano	Membrana	4q12
2F	δ-Sarcoglicano	Membrana	5q33
2G	Teletonina	Sarcómero	17q12
2H	TRIM32	Citosol	9q31
2I	FKRP	Golgi	19q13.3
2J	Titina	Sarcómero	2q24
2K	POMT1	Re. endoplásmico	9q34
2L	ANO5	Membrana	11p13
2M	Fukutina	Matriz extracelular	9q31
2N	POMT2	Re. endoplásmico	14q24
2O	POMGnT1	Re. endoplásmico	1p34
2Q	Plectina Distroglicano 1		8q24 3p21

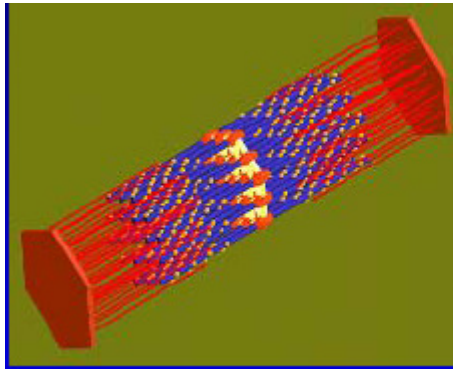
Patogenia

LGMD1A
LGMD2A

LGMD1B

LGMD2I
LGMD2K
LGMD2M
LGMD2N

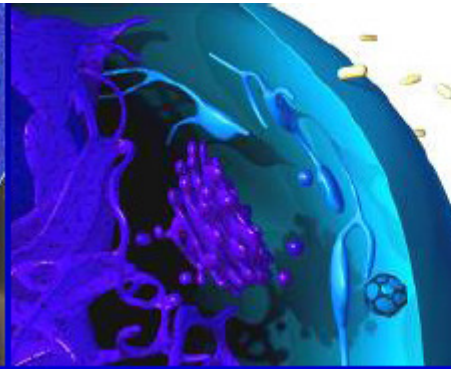
LGMD1C
LGMD2B
LGMD2C-F



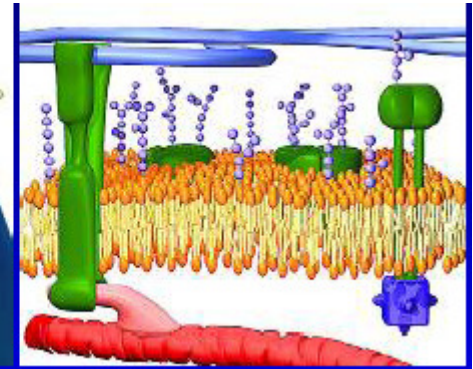
Sarcómero



Membrana nuclear

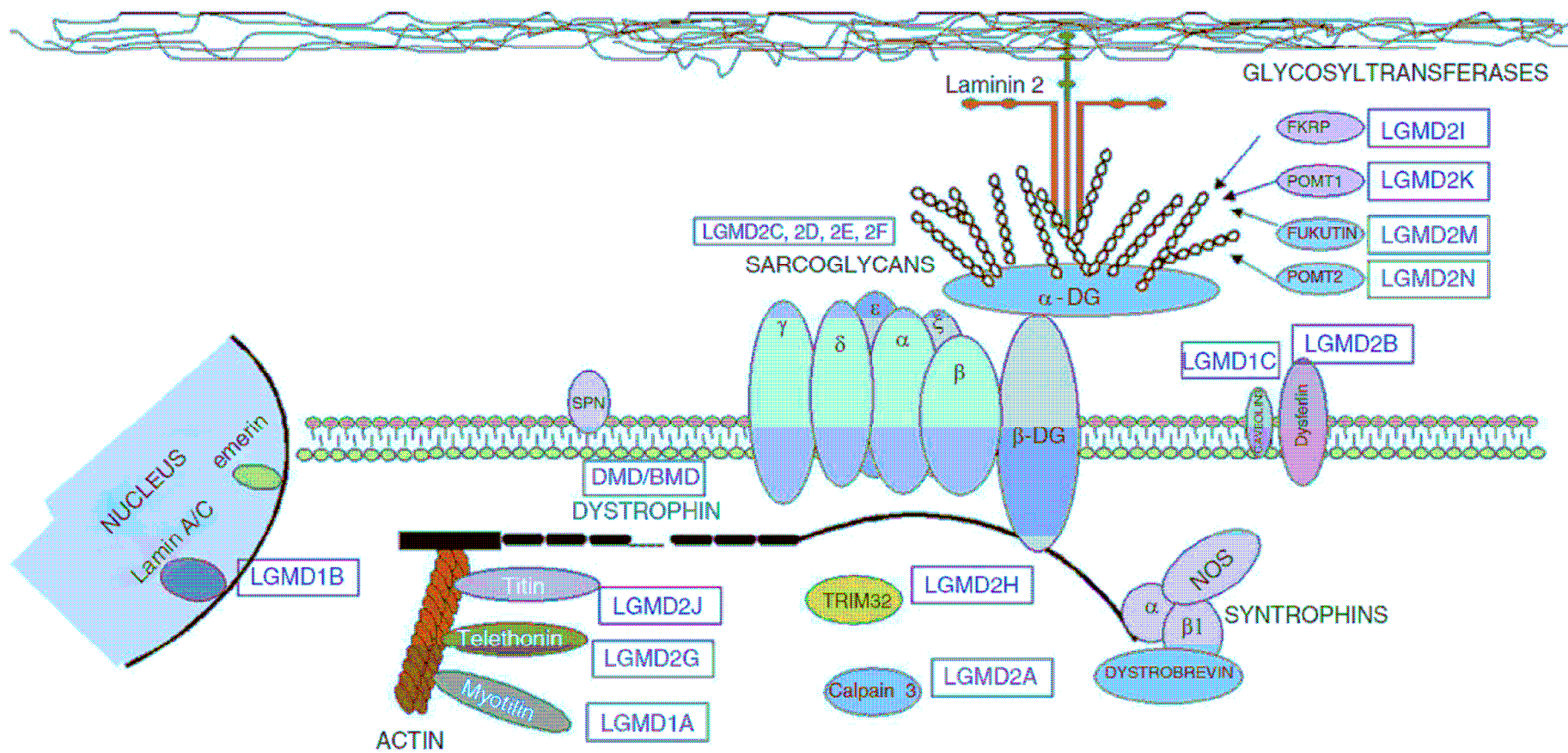


Golgi



Sarcolema

*Integridad citoesqueleto
Daño en membrana
Alteración reparación membrana
Alteración glicosilación*



Epidemiología

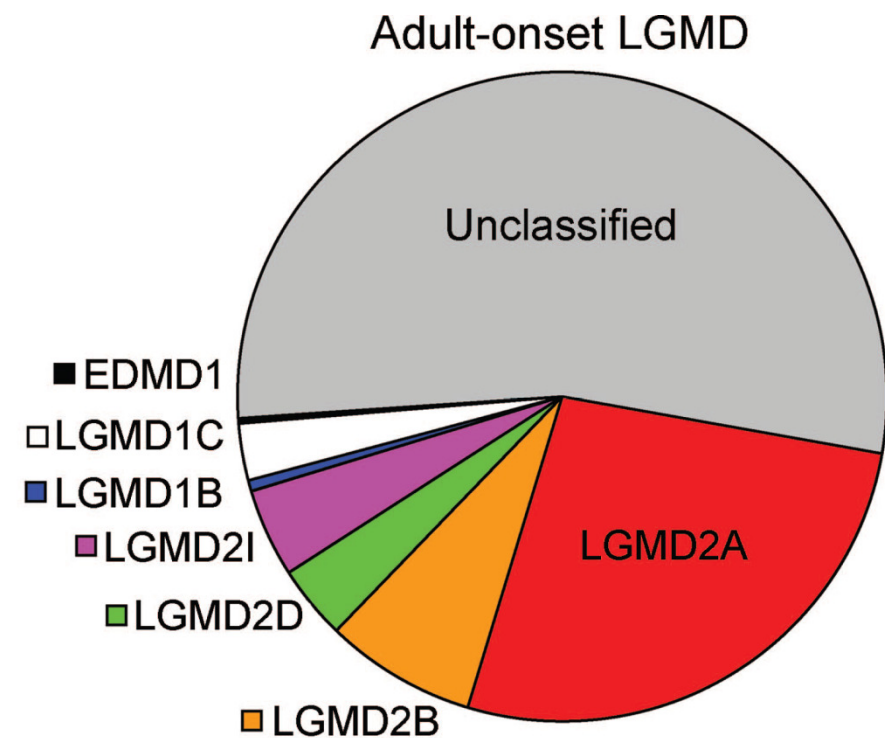
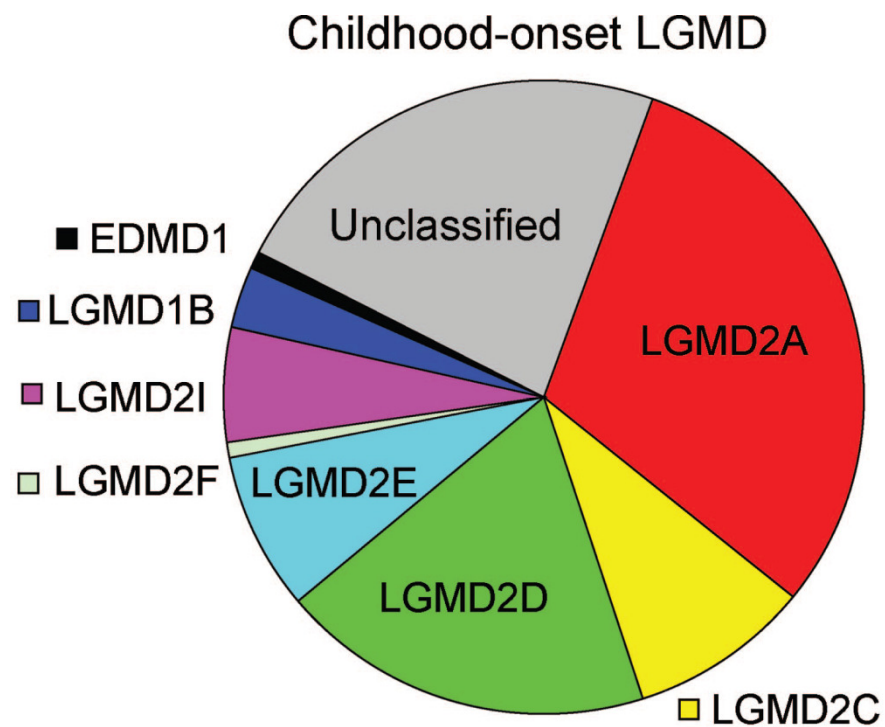
Enfermedad muscular RARA

- 1/50.000
- Formas AD: 10%
- Formas **AR: 90%**
- 6-8% niños fenotipo Duchenne: D. cinturas
- Prevalencia varía en diferentes países y etnias (mutaciones fundacionales)
- **Más prevalentes: 2A, 2B, 2C-F, 2I**

Diagnóstico diferencial

- Otras distrofias musculares
 - **Distrofinopatías**
 - Emery-Dreifuss
 - FSHD
 - Miopatía miotónica proximal
 - Formas leves de déficit de merosina
 - Déficit de colágeno VI con fenotipo LGMD
- Otras enfermedades neuromusculares
 - Miopatías tóxicas / metabólicas/endocrinas
 - Miopatías congénitas
 - Miopatías inflamatorias
 - Atrofia muscular espinal
 - Enfermedades de la unión neuromuscular

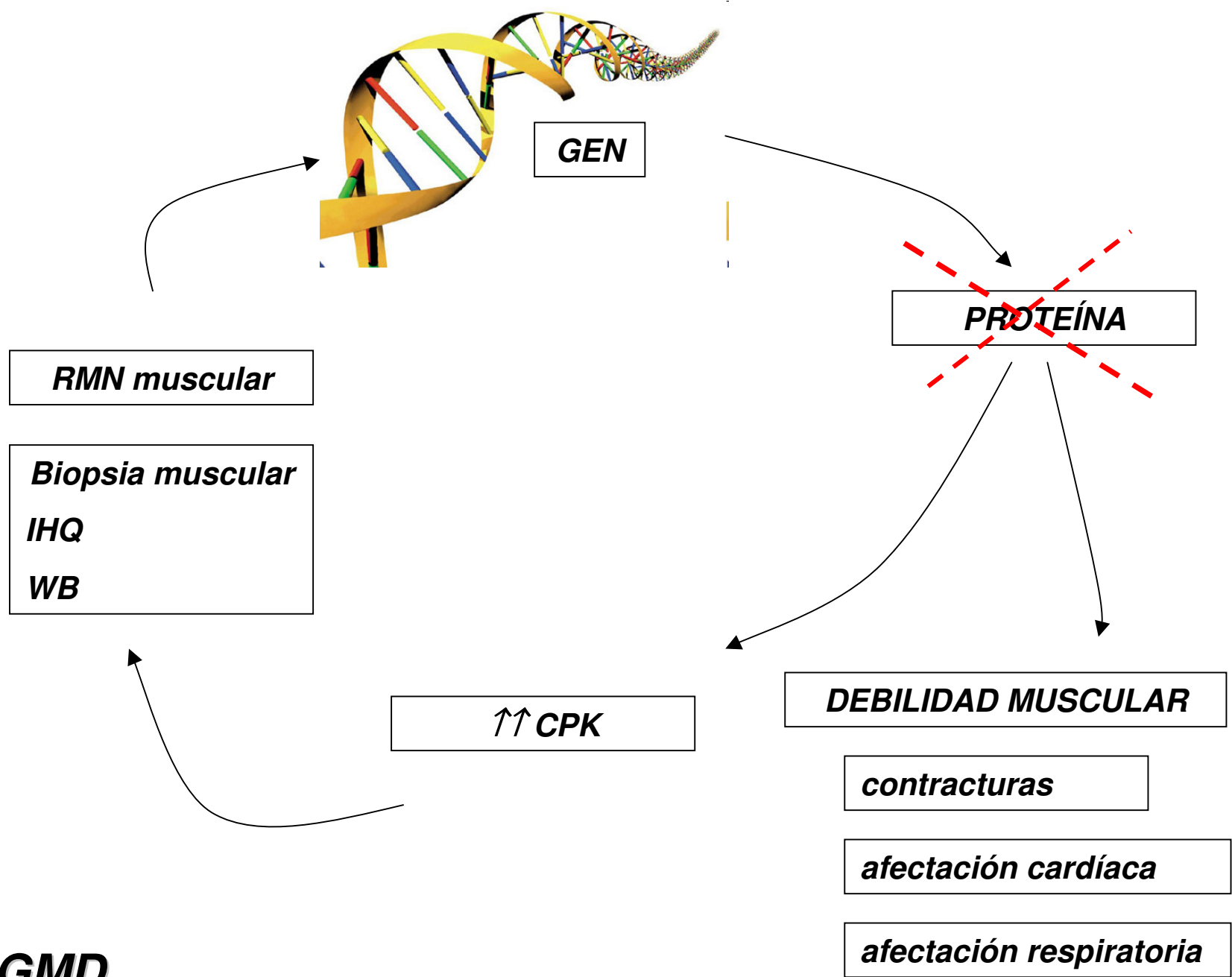
Frequency of LGMD gene mutations in Italian patients with distinct clinical phenotypes (*Fanin et al, Neurology 2009*)



Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: in-depth analysis of a muscle clinic population (Norwood et al, Brain 2009)

LGMD2A-calpaína	26.5%
LGMD2I-FKRP	19.1%
Sarcoglicanos	11.7%
LGMD1C	1.3%
.	
.	
.	
No clasificado	27.9%

LGMD

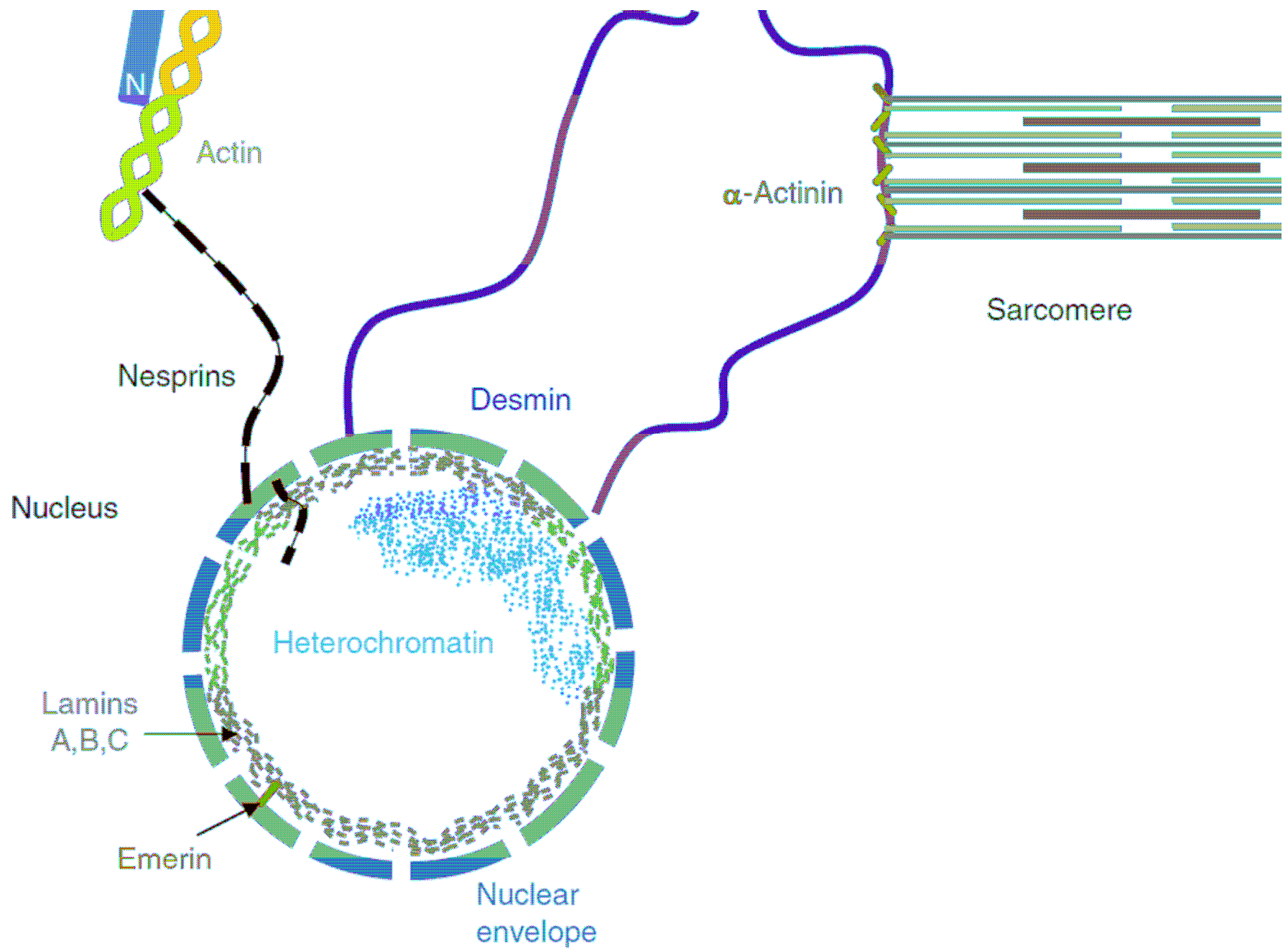


¿Es necesario un diagnóstico certero?

- Consejo genético/diagnóstico prenatal
- Información precisa al paciente:
 - educación, trabajo...
 - pronóstico de discapacidad/pronóstico vital
- Prevención de complicaciones:
 - marcapasos
 - asistencia ventilatoria
- Inclusión en ensayos clínicos
- Futura terapia genética molecular

LGMD 1B: laminopatía

- Gen: **LMNA** 1q11-21
- Proteína: **lamina A/C**
 - Filamento intermedio
 - Interior de la membrana nuclear
 - Transcripción, organización, conexión núcleo-citoplasma
- Mutaciones missense: WB: detecta proteína
- Mutaciones non-sense: Haploinsuficiencia. Se sintetiza 50% prot
- Resultados:
 - Cambio en forma de los núcleos
 - Estrés mecánico
 - Modificación de la expresión génica



LGMD 1B: laminopatía

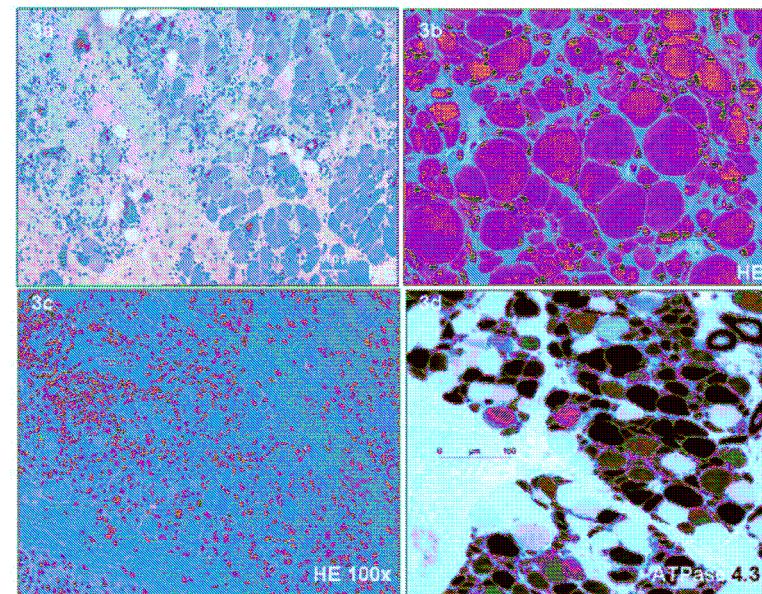
- Inicio variable
- Fenotipo **contractural**:
 - codos
 - tobillos
 - columna
- Debilidad húmero-peroneal
- **Arritmias malignas**/cardiopatía
- **CPK**: normal o ↑
- **Bx/Inmunoanálisis**: normal
- **RMN** puede ayudar
- **Análisis mutacional directo LMNA**



De Novo *LMNA* Mutations Cause a New Form of Congenital Muscular Dystrophy

Susana Quijano-Roy, MD, PhD,¹⁻³ Blaise Mbieleu, MD,¹ Carsten G. Bönnemann, MD, PhD,⁴

Ann Neurol 2008;64:177–186



TRATAMIENTO

- Fisioterapia
- Cirugía ortopédica
- Cardiología
- Neumología

LGMD 1B: laminopatía

Emery-Dreyfuss

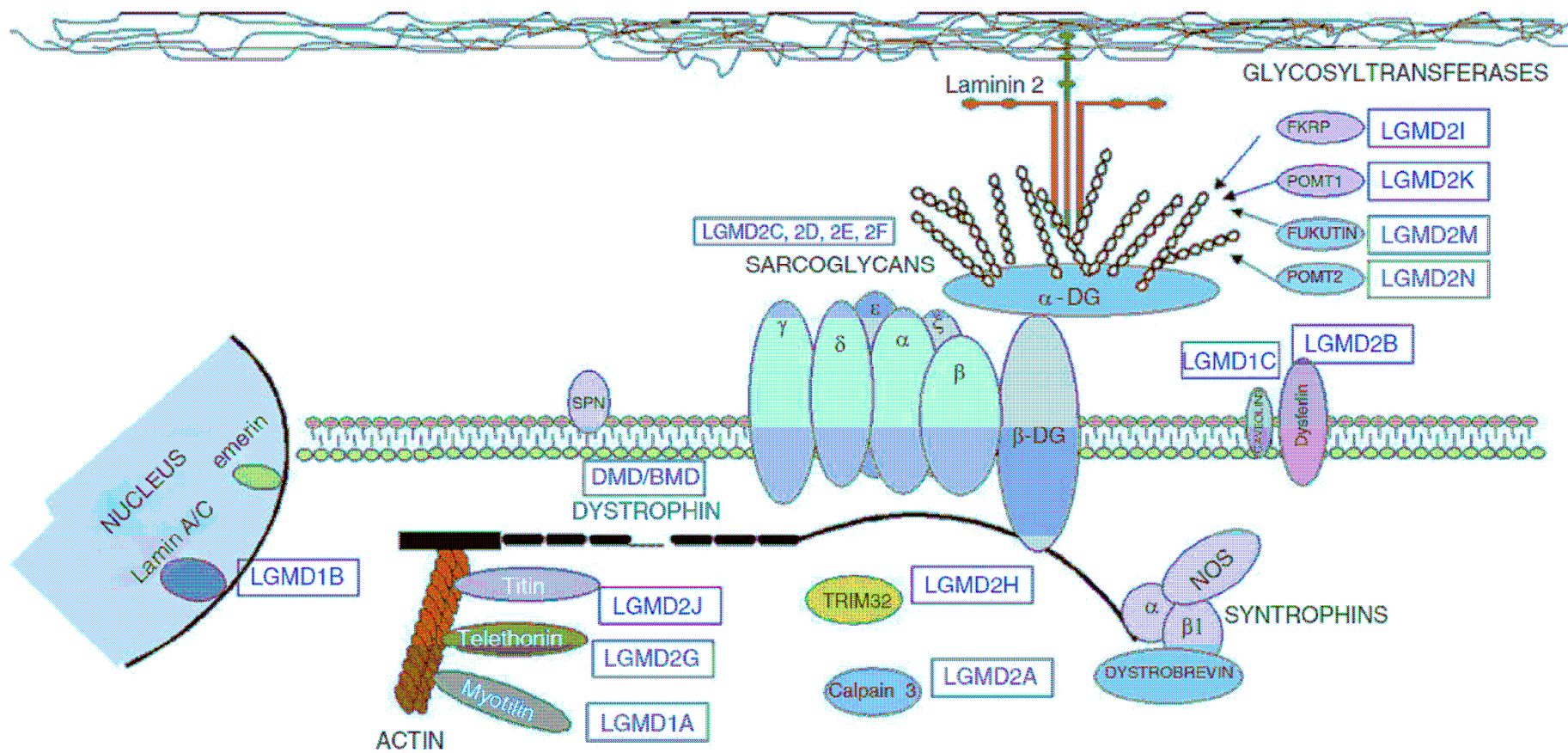
Contracturas

Rigidez axial

CARDIOPATÍA

LGMD 2B: disferlinopatía

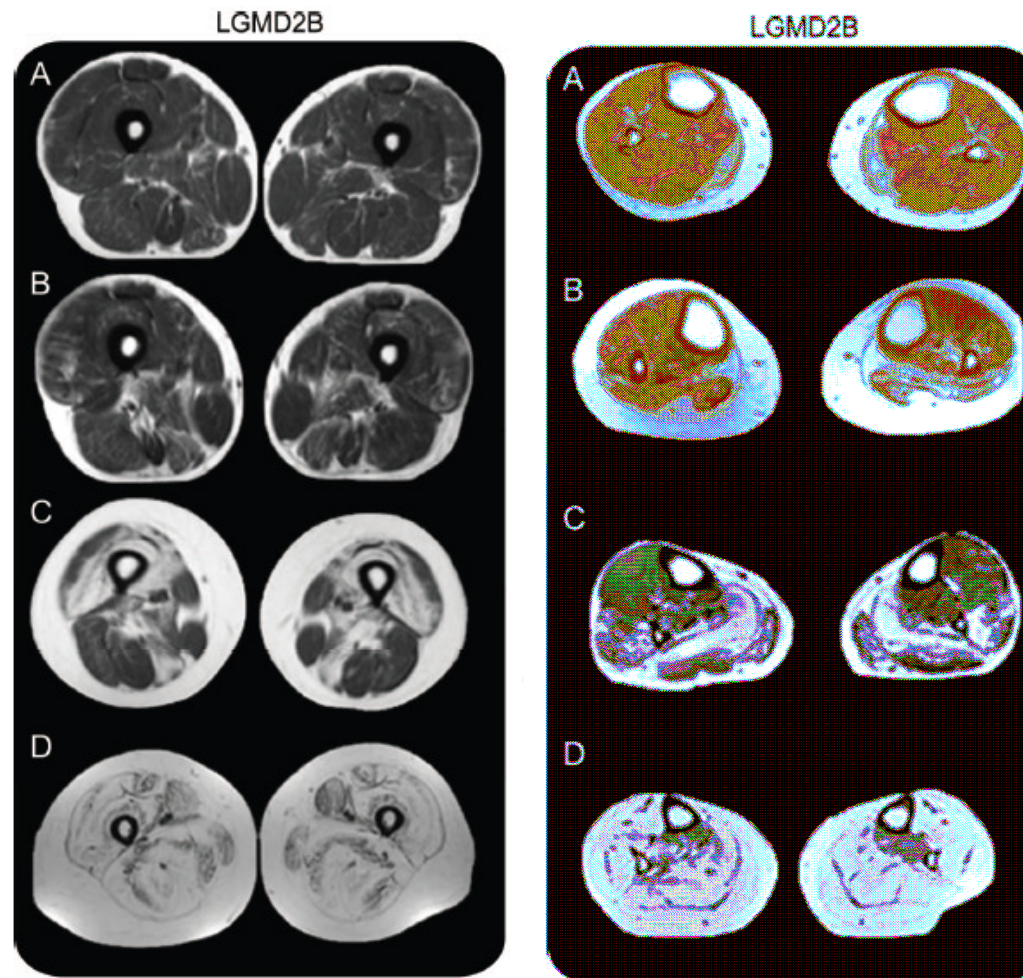
- Gen: **DYSF** 2p13
- Proteína: **disferlina**
 - Proteína transmembrana y de vesículas de citosol
 - Tráfico de vesículas
 - Reparación del sarcolema



LGMD 2B: disferlinopatía

- Inicio: 2ª década
- Fenotipos: LGMD-fenotipo mixto-miopatía distal
 - Debilidad proximal pelvifemoral
 - Afectación precoz TS (imposible marcha puntillas)
 - Pie caído
- Atrofia
- **NO** cardiopatía
- **NO** afectación respiratoria
- **CPK** ↑↑↑ (x10-100)
- **RMN**: muslo posterior y gemelo interno
- **Histología**: distrofia, infiltrados inflamatorios
- **IHQ y WB**: ausencia disferlina (calpaína/caveolina)
- Detección en monocitos
- **Genética DYSF**

Redefining dysferlinopathy phenotypes based on clinical findings and muscle imaging studies

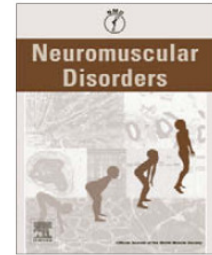




Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Neuromuscular Disorders

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



Case report

A new phenotype of dysferlinopathy with congenital onset

C. Paradas^{a,1}, L. González-Quereda^{b,c,1}, N. De Luna^{d,e}, E. Gallardo^{d,e}, I. García-Consuegra^f,
H. Gómez^g, A. Cabello^f, I. Illa^{d,e}, P. Gallano^{b,c,*}

TRATAMIENTO

- Fisioterapia
- Cirugía ortopédica
- Cardiología
- Neumología
- ¿Corticoides?
 - No respuesta
- ¿Rituximab?

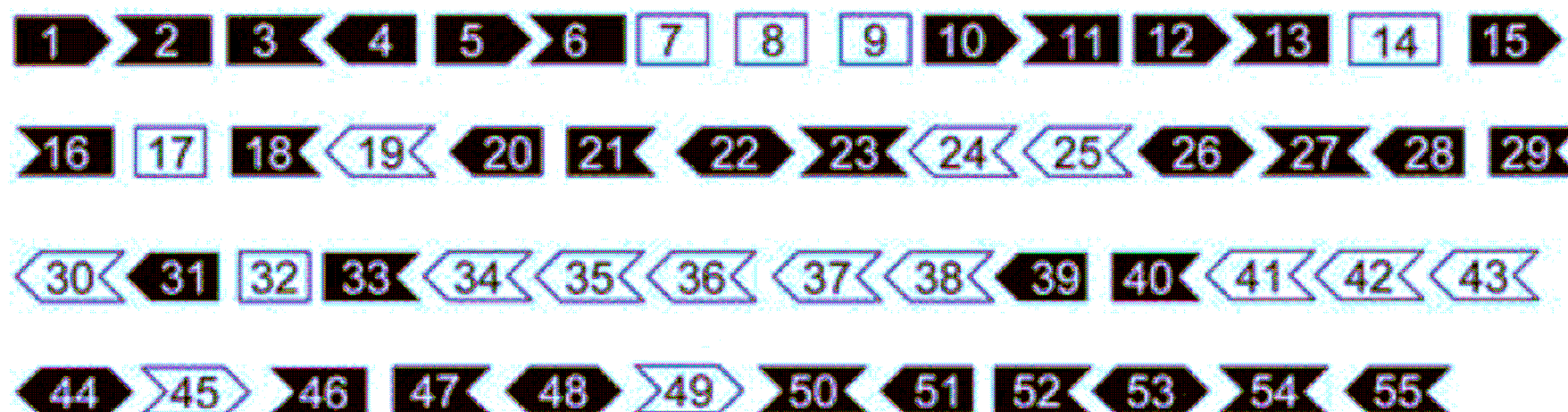
Effects of rituximab in two patients with dysferlin-deficient muscular dystrophy.

Lelario A et., BMC Musculoskelet Disord. 2010; 11: 157

ARTICLE

Therapeutic exon skipping for dysferlinopathies?

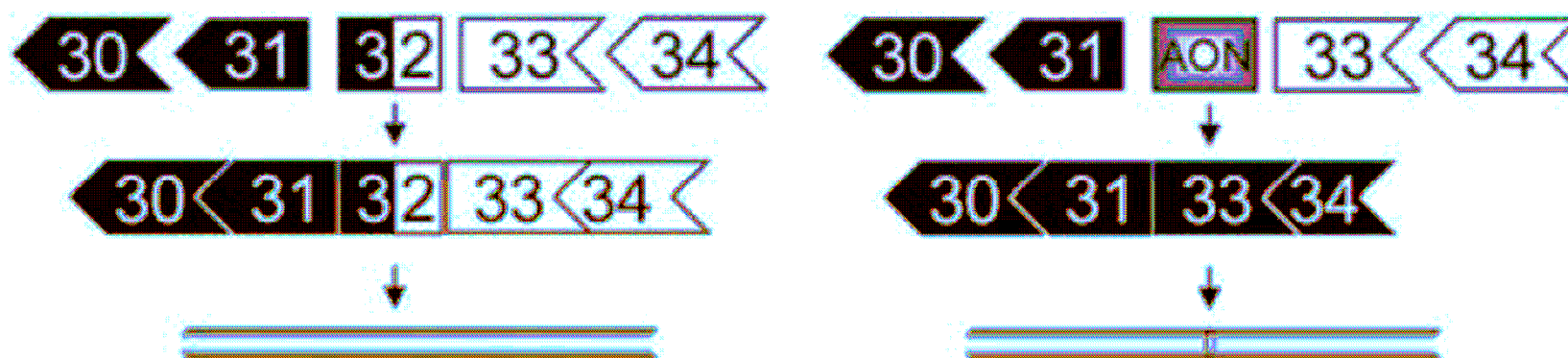
Annemieke Aartsma-Rus^{*,1}, Kavita HK Singh¹, Ivo FAC Fokkema¹, Ieke B Ginjaar¹, Gert-Jan van Ommen¹, Johan T den Dunnen¹ and Silvere M van der Maarel¹



ARTICLE

Therapeutic exon skipping for dysferlinopathies?

Annemieke Aartsma-Rus^{*,1}, Kavita HK Singh¹, Ivo FAC Fokkema¹, Ieke B Ginjaar¹, Gert-Jan van Ommen¹, Johan T den Dunnen¹ and Silvere M van der Maarel¹



LGMD 2B: disferlinopatía

**Debilidad y atrofia
distal**

CPK ↑↑↑

LGMD 2A-D: sarcoglycanopatía

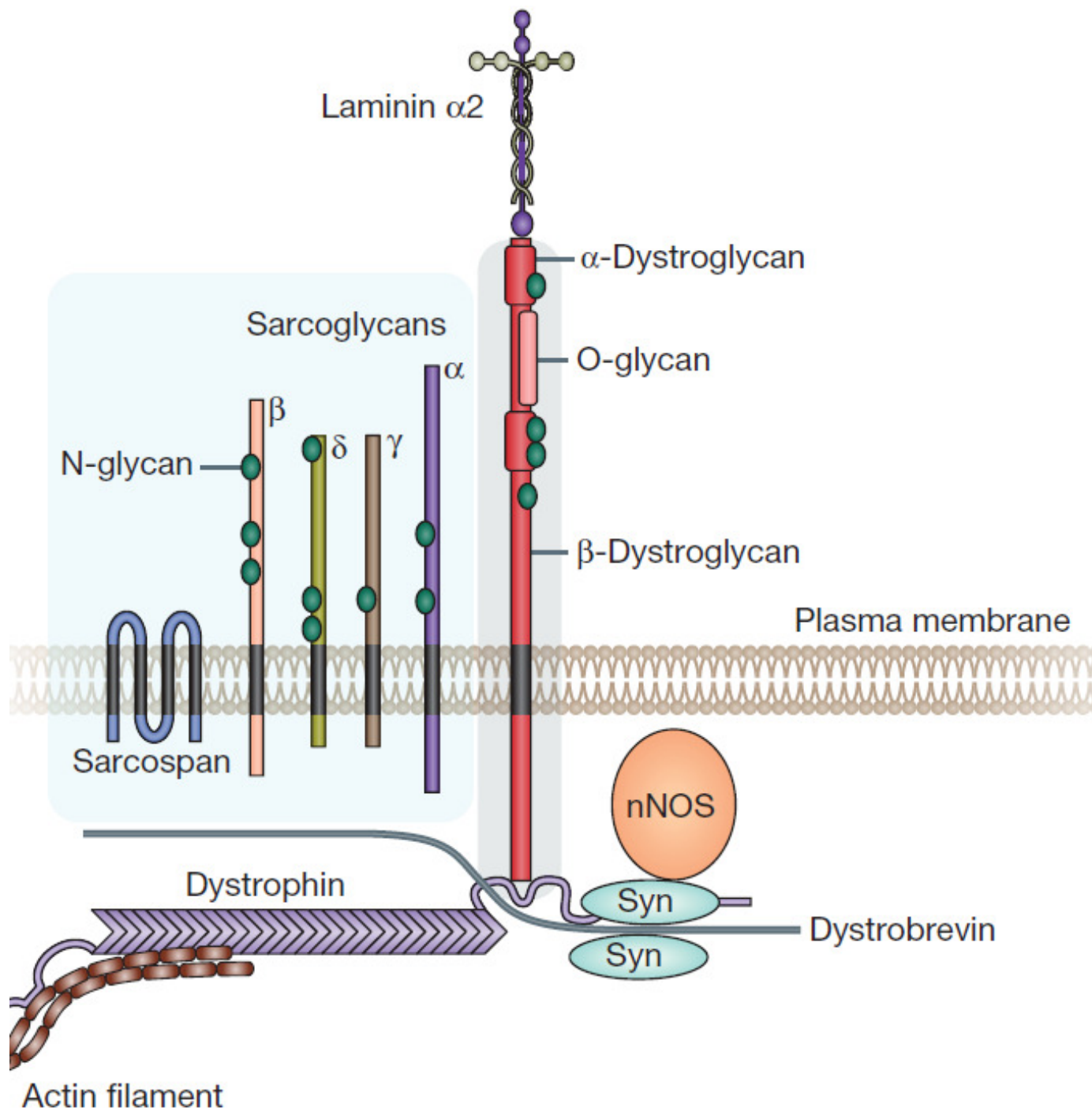
Table 1. Human sarcoglycan protein data

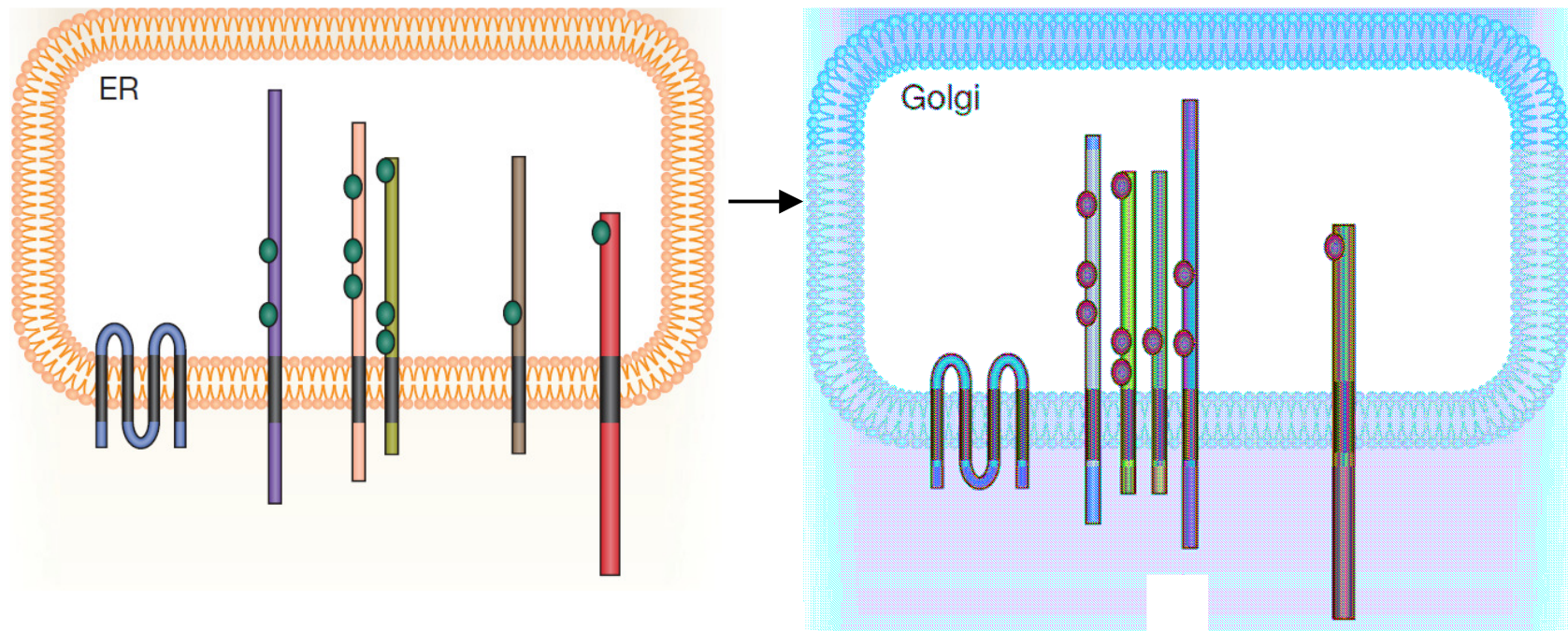
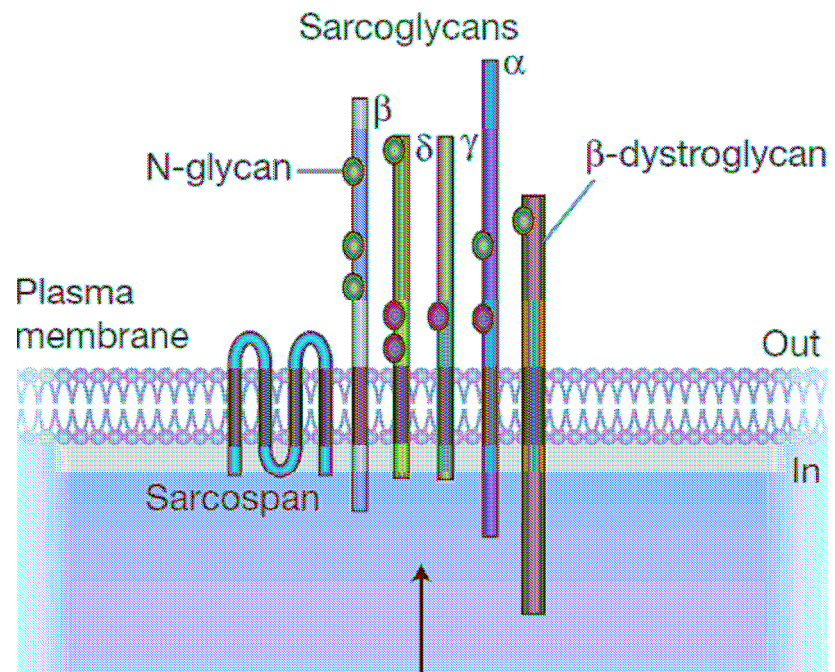
Protein	Gene	Chromosome	Disease	AA	Mass^a
α -Sarcoglycan	<i>SGCA</i>	17q21.33	LGMD-2D	387	50
β -Sarcoglycan	<i>SGCB</i>	4q11	LGMD-2E	318	43
γ -Sarcoglycan	<i>SGCG</i>	13q12	LGMD-2C	291	35
δ -Sarcoglycan	<i>SGCD</i>	5q33.3	LGMD-2F	290	35

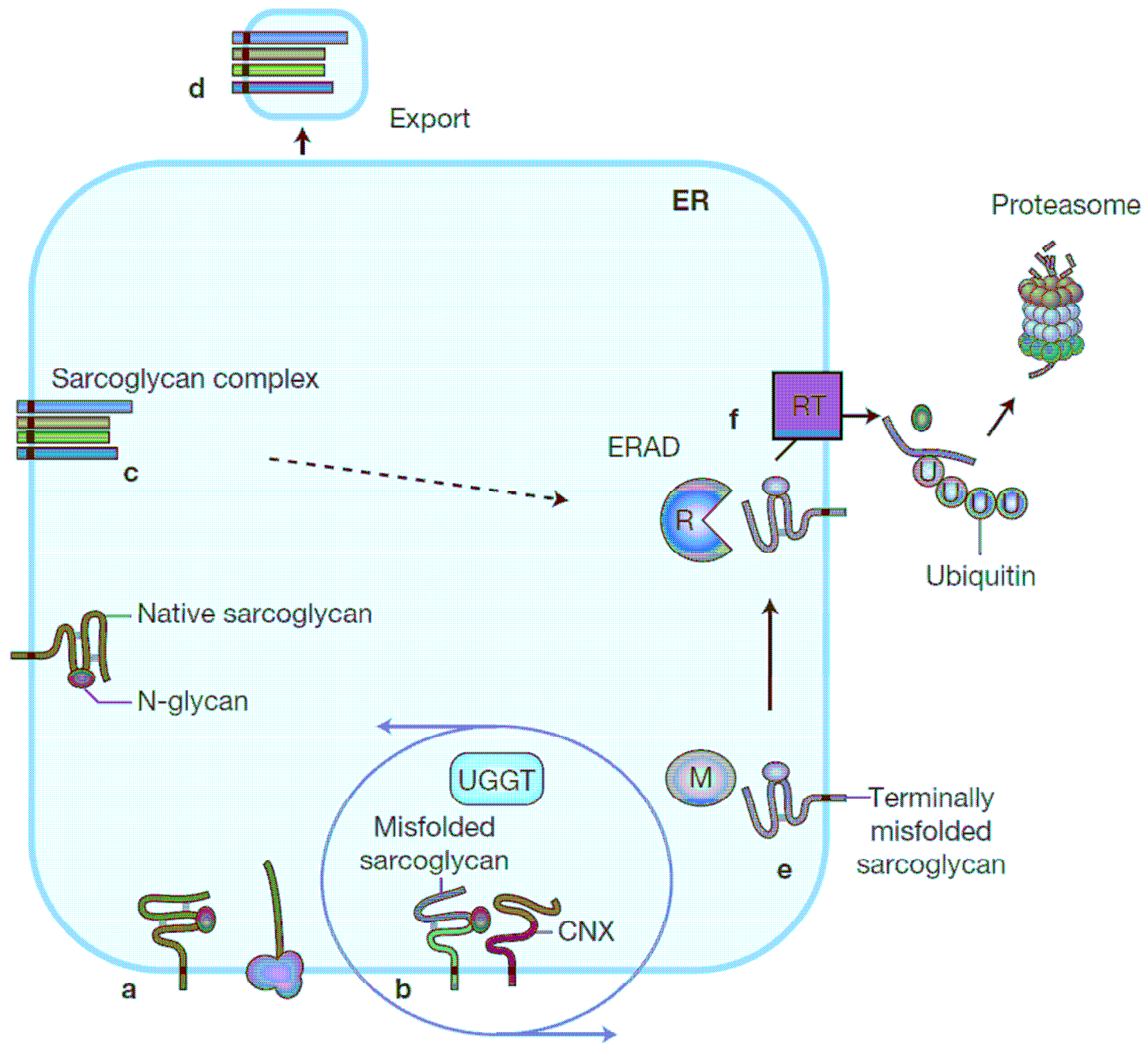
LGMD 2A-D: sarcoglicanopatía

S C A R M D

- SARCOGLICANOS
 - Glicoproteínas transmembrana
 - Función estructural
 - Función de comunicación celular
- Mutaciones missense, non-sense o deleciones







Putative ER processing of wild-type and mutant sarcoglycans

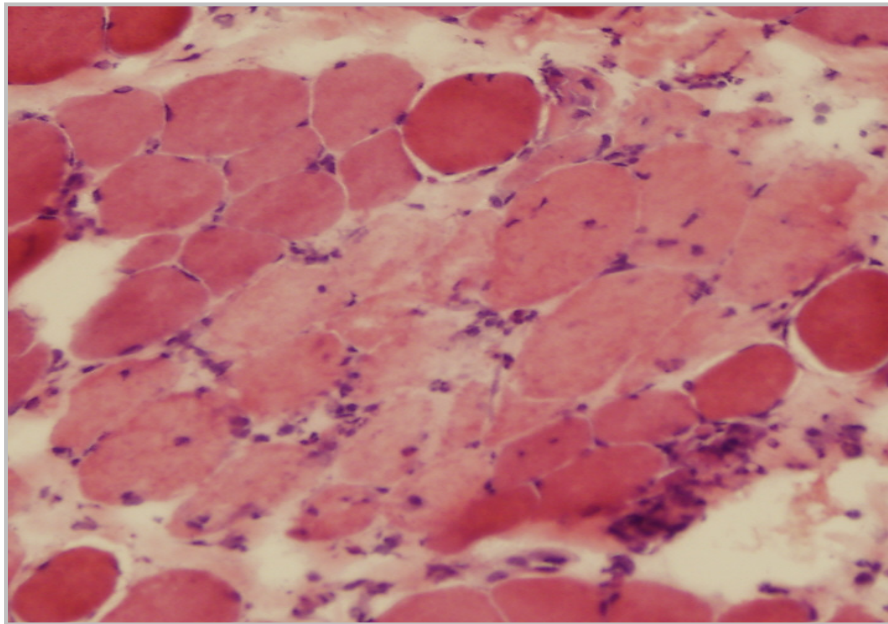
LGMD 2C-F: sarcoglicanopatías

- Frecuencia: $\alpha > \gamma > \beta > \delta$
- Inicio 2-15 años
- Fenotipo: **DMD**, DMB o leve
 - Afectación escapular precoz
 - Hipertrofia pantorrillas y lengua
 - Contracturas
- No afectación intelectual
- Afectación respiratoria tardía
- Afectación cardíaca 30% (β y δ)
- **CPK** ↑↑ (x10-50)
- **RMN**: cuádriceps + sóleo
- **Inmunoanálisis**: ↓ sarcoglicanos

Beta-sarcoglicanopatía



LGMD2C: γ -sarcoglicanopatía



Varón, 5 años

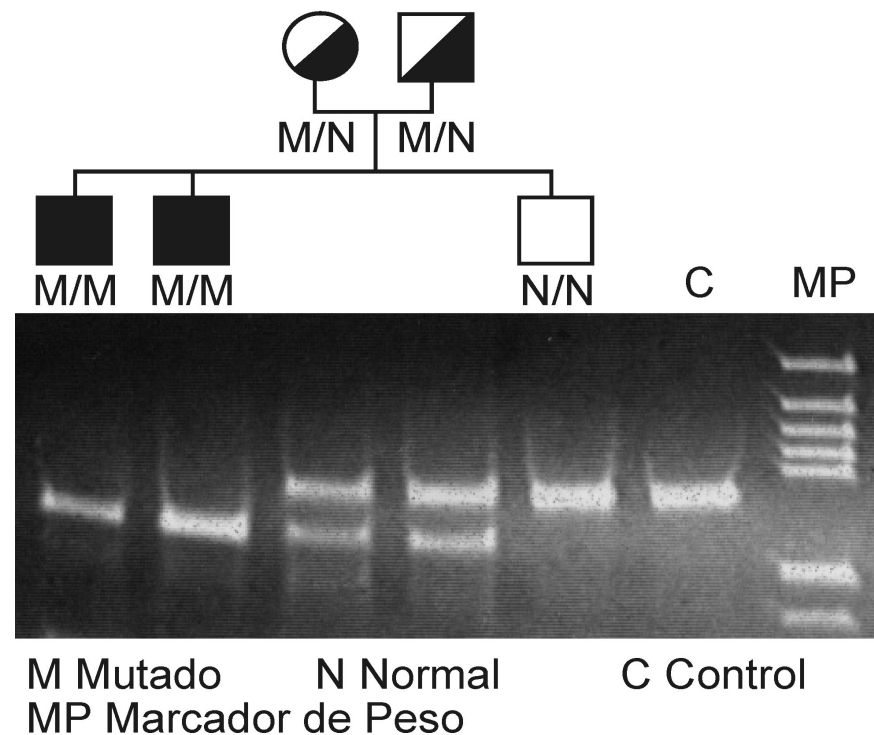
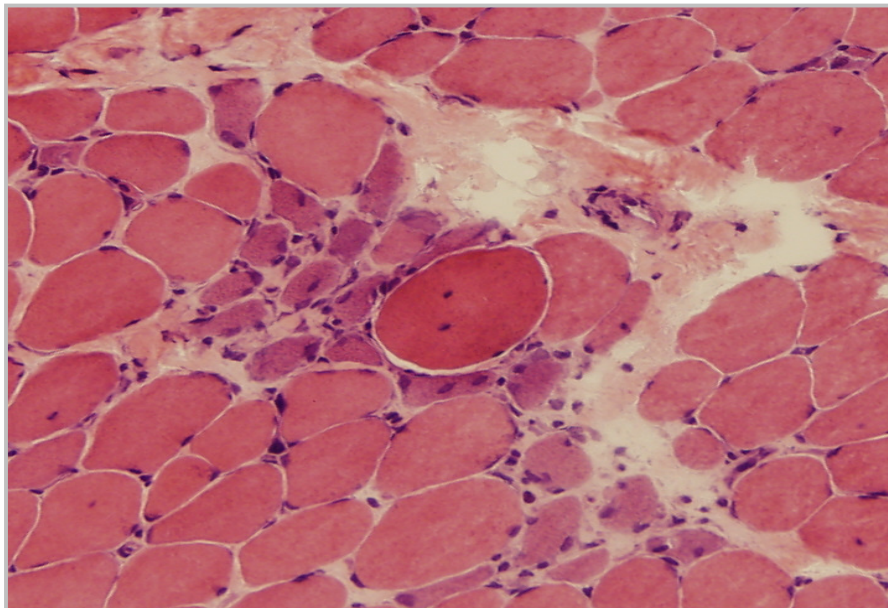
Familia gitana

Debilidad cinturas

CPK: 20.000 U

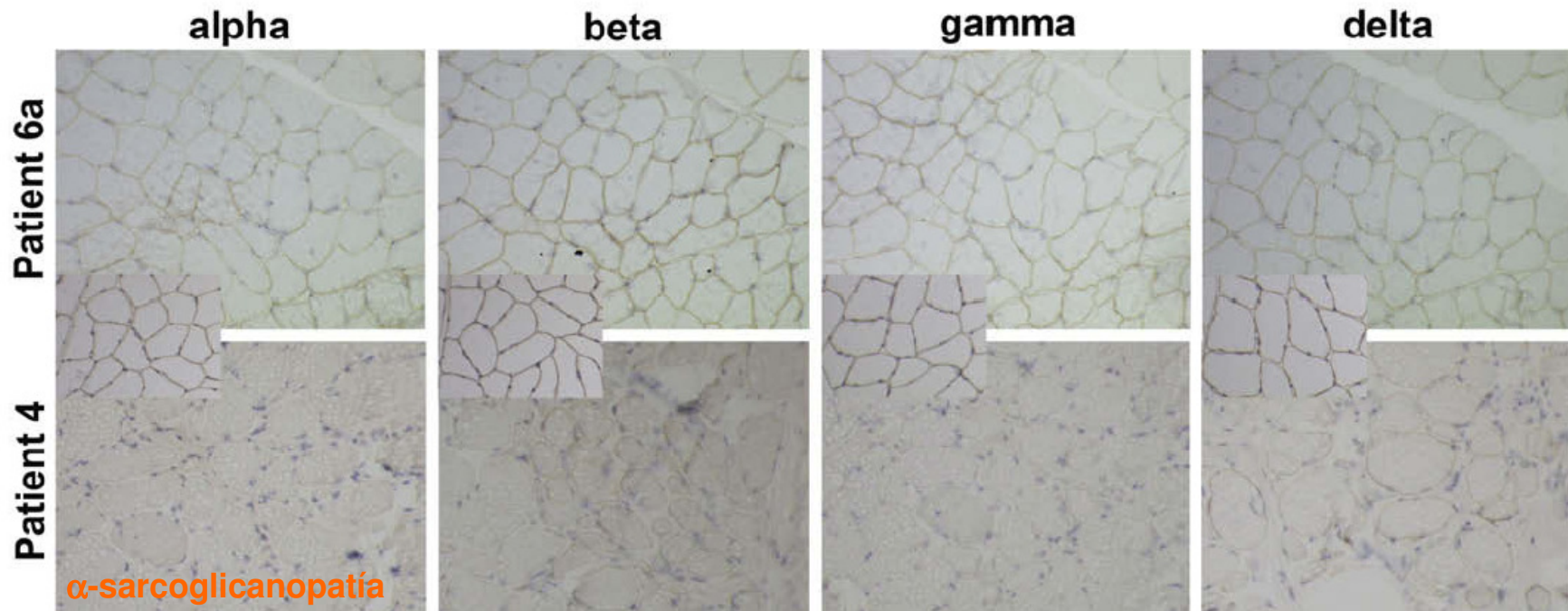
Hermano mismo fenotipo

Mutación C283Y



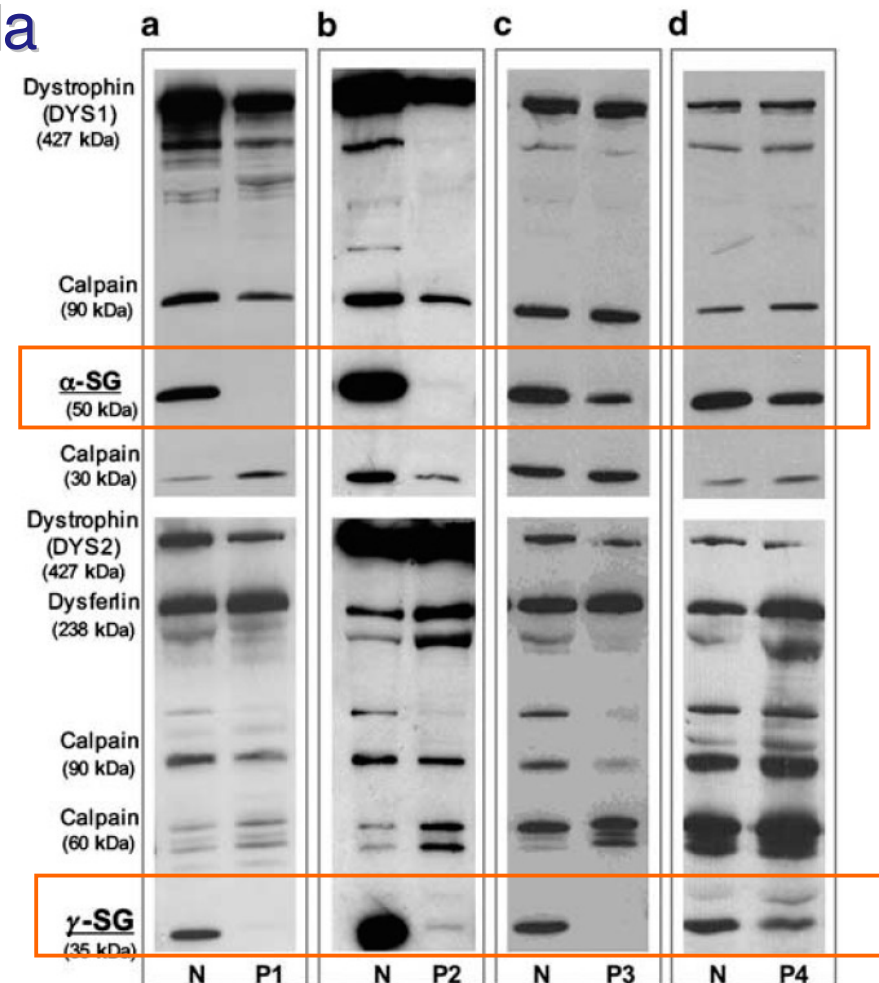
LGMD 2C-F: sarcoglicanopatías

- **IHQ y WB:**
 - Distrofina normal o alterada
 - Sarcoglicanos (4)



LGMD 2C-F: sarcoglicanopatías

- **IHQ y WB:**
 - Distrofina normal o alterada
 - Sarcoglicanos (4)



LGMD 2C-F: sarcoglicanopatías

- **IHQ y WB: NO ES ÚTIL PARA SABER GENOTIPO**
 - Distrofina normal o alterada
 - Sarcoglicanos (4)

LGMD 2C-F: sarcoglicanopatías

- **IHQ y WB:** NO ES ÚTIL PARA SABER GENOTIPO
 - Distrofina normal o alterada
 - Sarcoglicanos (4)
- **Genética** de los 4 sarcoglicanos por:
 - Frecuencia: $\alpha > \gamma > \beta > \delta$
 - Etnia → mutaciones fundacionales:
 - Amish: β (Thr151Arg)
 - Magrebíes (del521T) y gitanos (C283Y): γ
 - Brasileños: δ

TRATAMIENTO

- Fisioterapia
- Cirugía ortopédica
- Cardiología
- Neumología
- ¿Corticoides?
 - LGMD2D- alfa sarcoglicano *Angelini, Muscle and Nerve 1998; Connolly, Muscle and Nerve 1998*
 - LGMD2E- beta sarcoglicano *Wong-Kisiel y Kuntz, Neuromuscular Disord 2010*
- Transferencia génica AAV
 - LGMD2D-alfa sarcoglicano *Mendell, Ann Neurol 2009*
 - LGMD2C-gamma sarcoglicano *Herson, Brain 2012*

LGMD 2A-D: transferencia génica

Ventajas respecto a DMD:

- Secuencias codificantes pequeñas (vector)
- En muchos pacientes se produce algo de proteína (respuesta inmune).

Lack of toxicity of alpha-sarcoglycan overexpression supports clinical gene transfer trial in LGMD2D

L.R. Rodino-Klapac, PhD

J.-S. Lee, MD, PhD

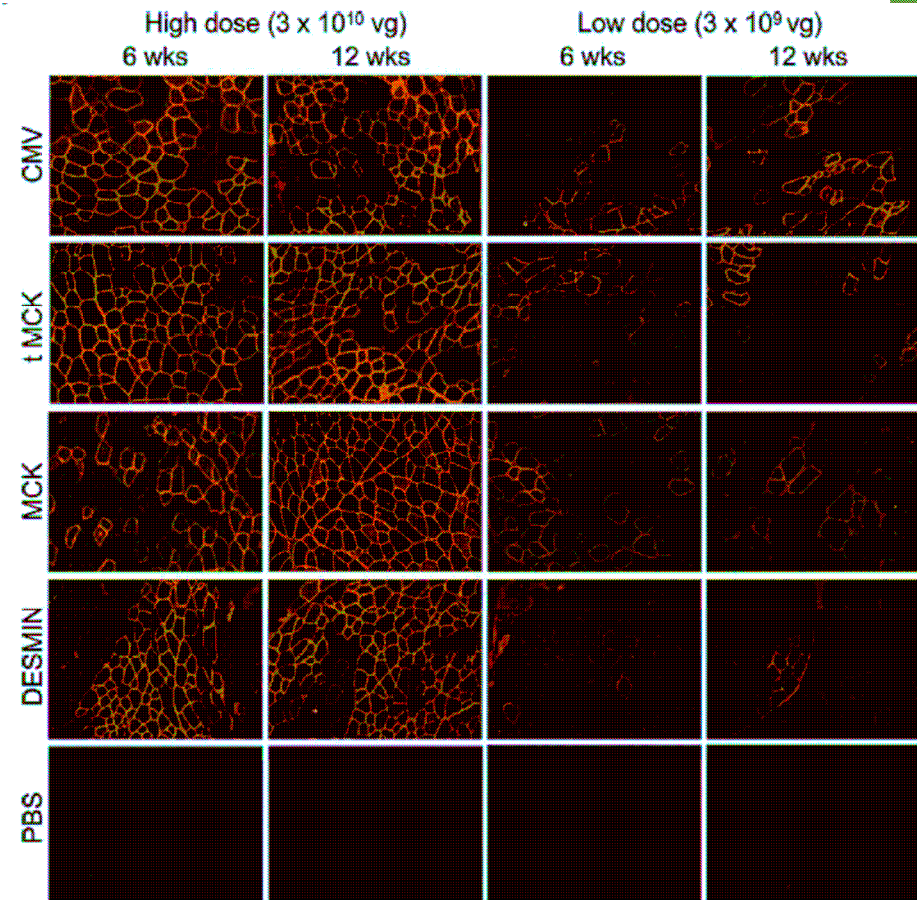
R.C. Mulligan, PhD

K.R. Clark, PhD

J.R. Mendell, MD

 **Neurology**® 2008;71:240-247

- Ratones α SC KO (N=6 por promotor)
- AAV1 im, tibial anterior
- 12 semanas



Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2D Gene Therapy Restores α -Sarcoglycan and Associated Proteins

Mendell et al, 2009

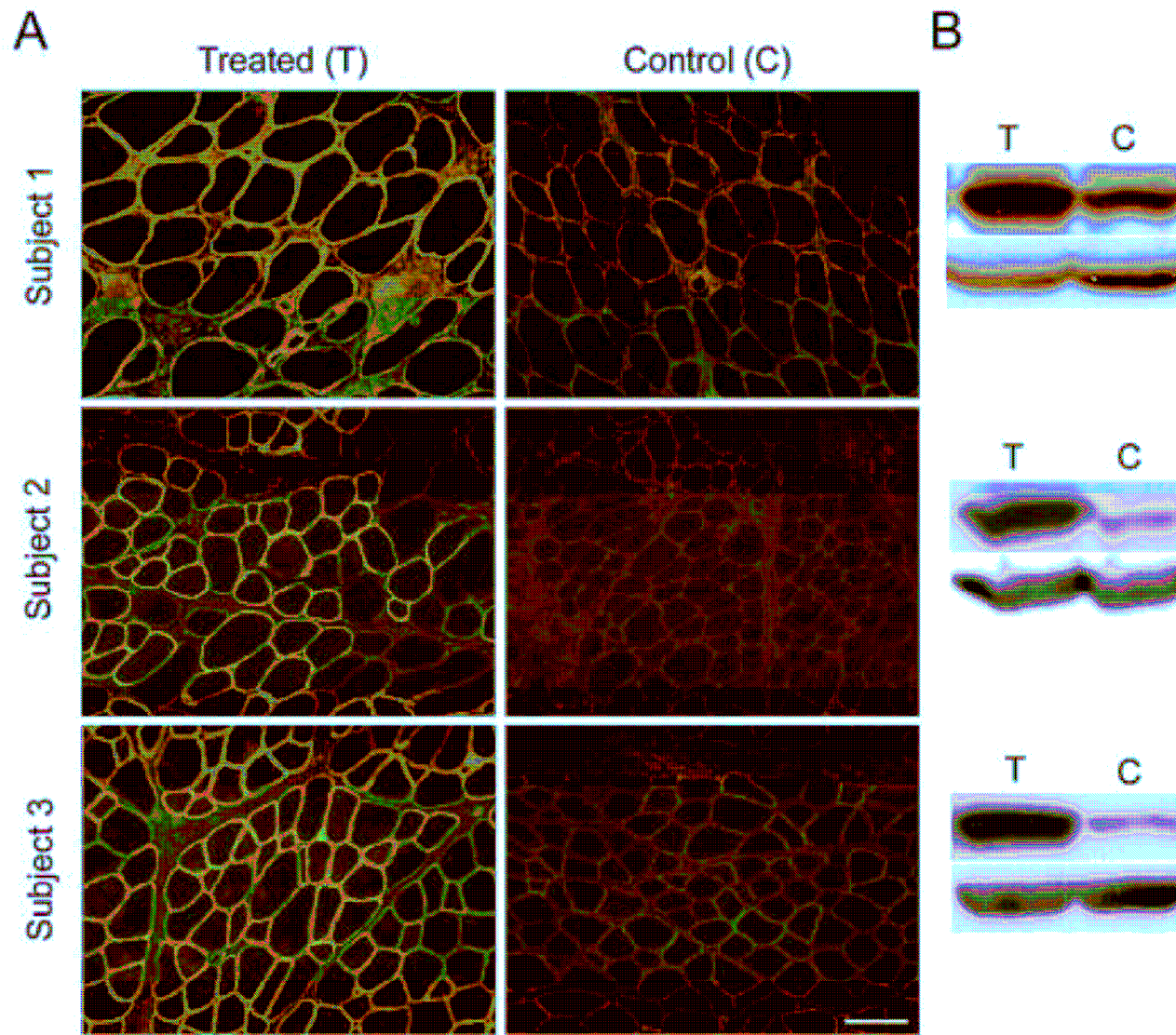
Fase I, randomizado, doble ciego y controlado con placebo

-**N=3** (11-14 años)

-rAAV1.tMCK.hSGCA i.m., extensor corto de los dedos

-**3/3** pacientes (2/3 6 sem y 1/3 3 meses) con expresión mantenida de alfa-SC

-**No efectos adversos**



alfa-SC

Sustained Alpha-Sarcoglycan Gene Expression after Gene Transfer in Limb-Girdle Muscular Dystrophy, Type 2D

ANN NEUROL 2010;68:629–638

Fase I, randomizado, doble ciego y controlado con placebo

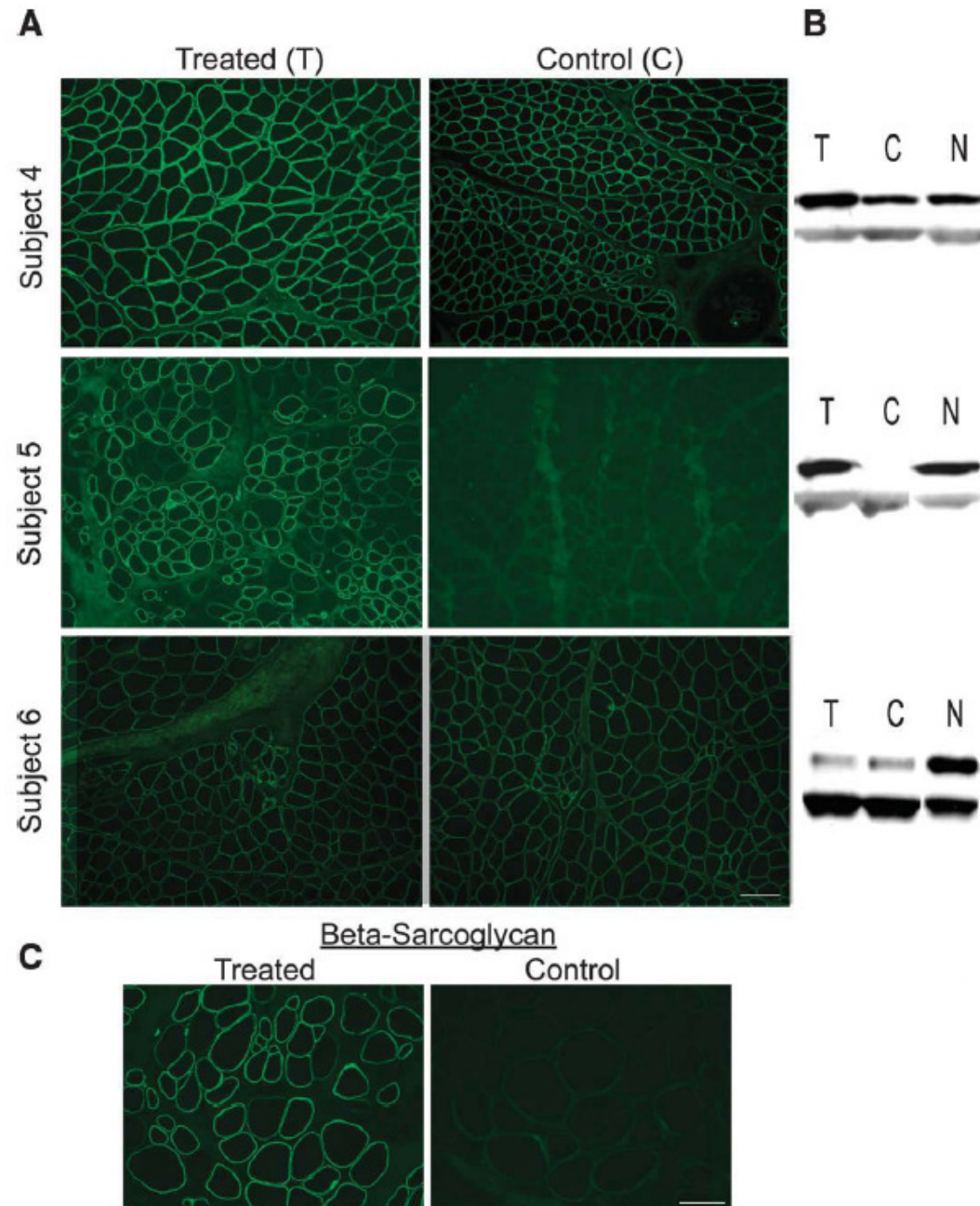
-**N=3** (23-43 años)

-rAAV1.tMCK.hSGCA i.m., extensor corto de los dedos

-**Bx: 6 meses**

-2/3 pacientes con expresión mantenida de alfa-SC

-**No efectos adversos**



alfa-SC

A phase I trial of adeno-associated virus serotype 1- γ -sarcoglycan gene therapy for limb girdle muscular dystrophy type 2C

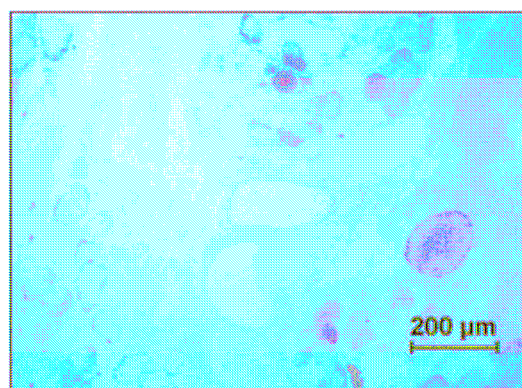
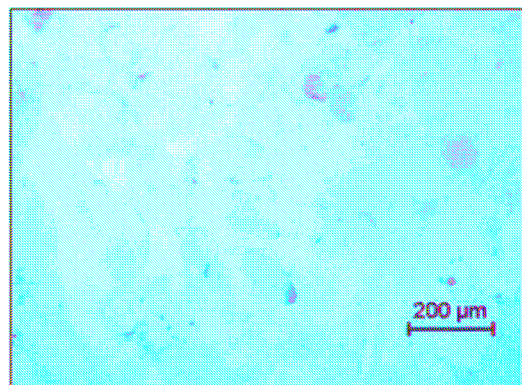
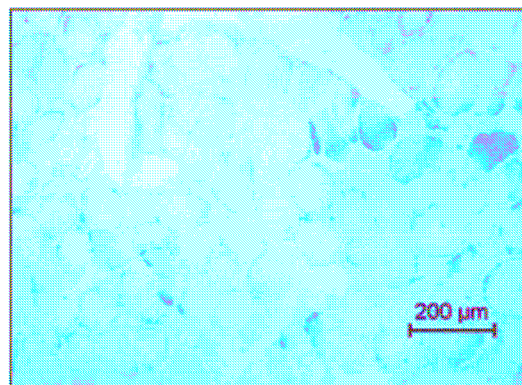
Brain 2012; 135; 483–492

Herson et al.

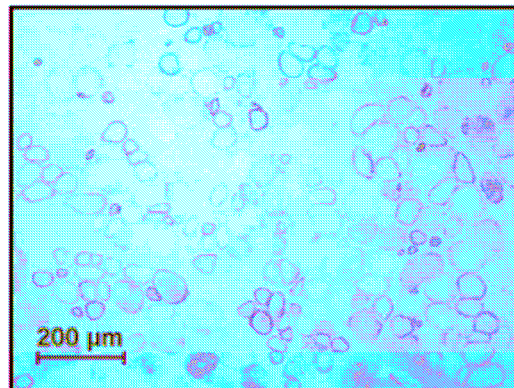
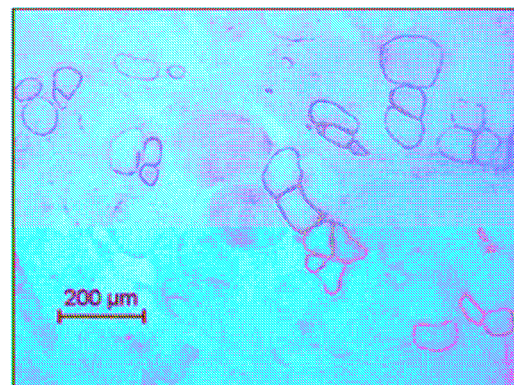
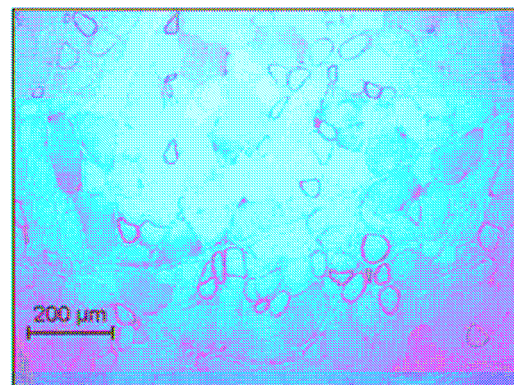
Fase I

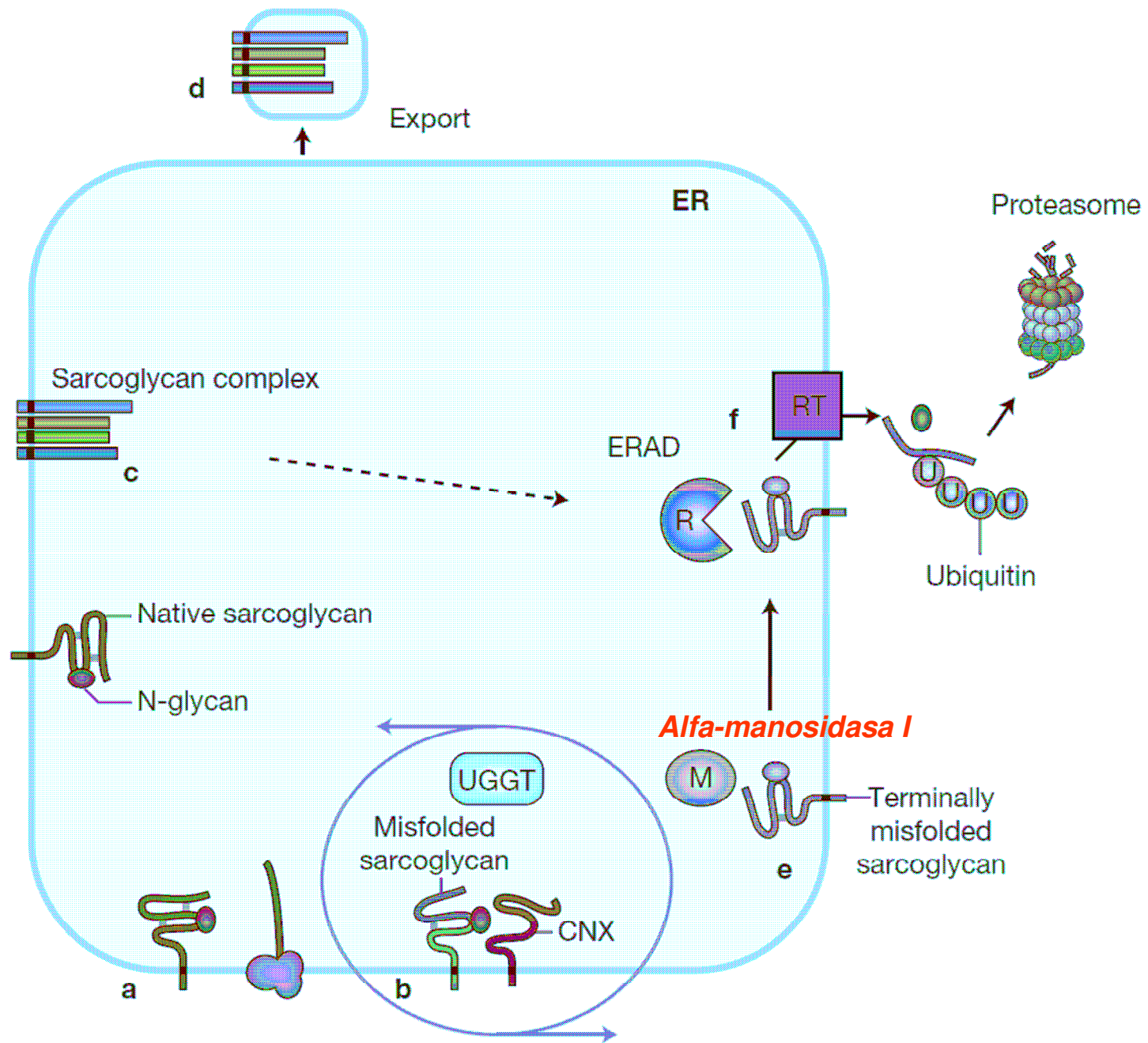
- N=9** (16-38 años)
- AAV1.des.h γ SGC i.m., extensor radial del carpo; **3 dosis**
- Bx 30 días**
- En pacientes con mayor dosis (3): expresión de gamma-SC
- Efecto dosis-dependiente**
- No efectos adversos**

A Before AAV1- γ -SGC (D-30) injection



After AAV1- γ -SGC (D30) injection

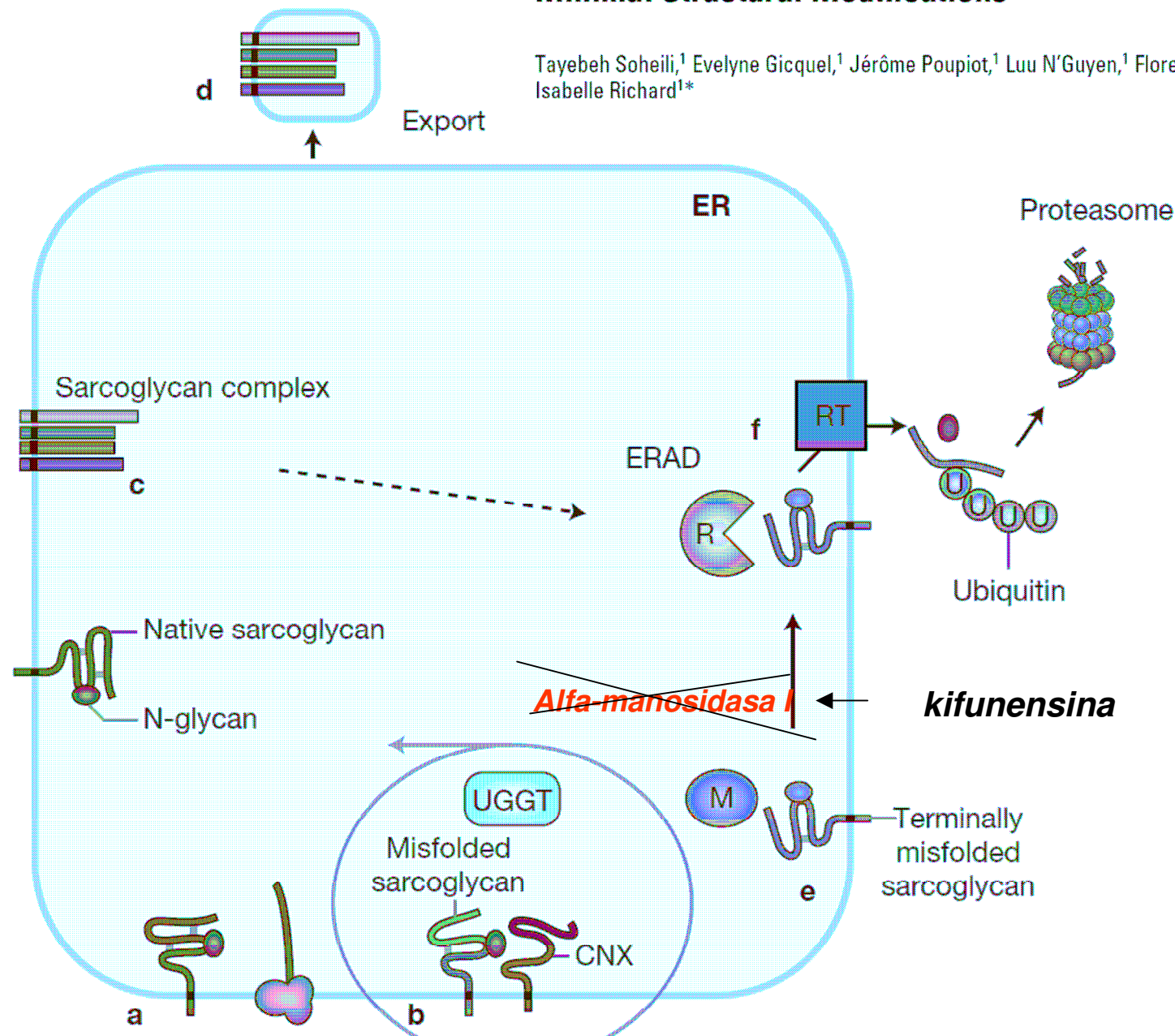




Putative ER processing of wild-type and mutant sarcoglycans

Rescue of Sarcoglycan Mutations by Inhibition of Endoplasmic Reticulum Quality Control is Associated with Minimal Structural Modifications

Tayebeh Soheili,¹ Evelyne Gicquel,¹ Jérôme Poupiot,¹ Luu N'Guyen,¹ Florence Lecomte,¹ Marc Bartoli,^{1,2} and Isabelle Richard^{1*}



LGMD 2C-F: sarcoglicanopatías

Duchenne-like

Escápula alada

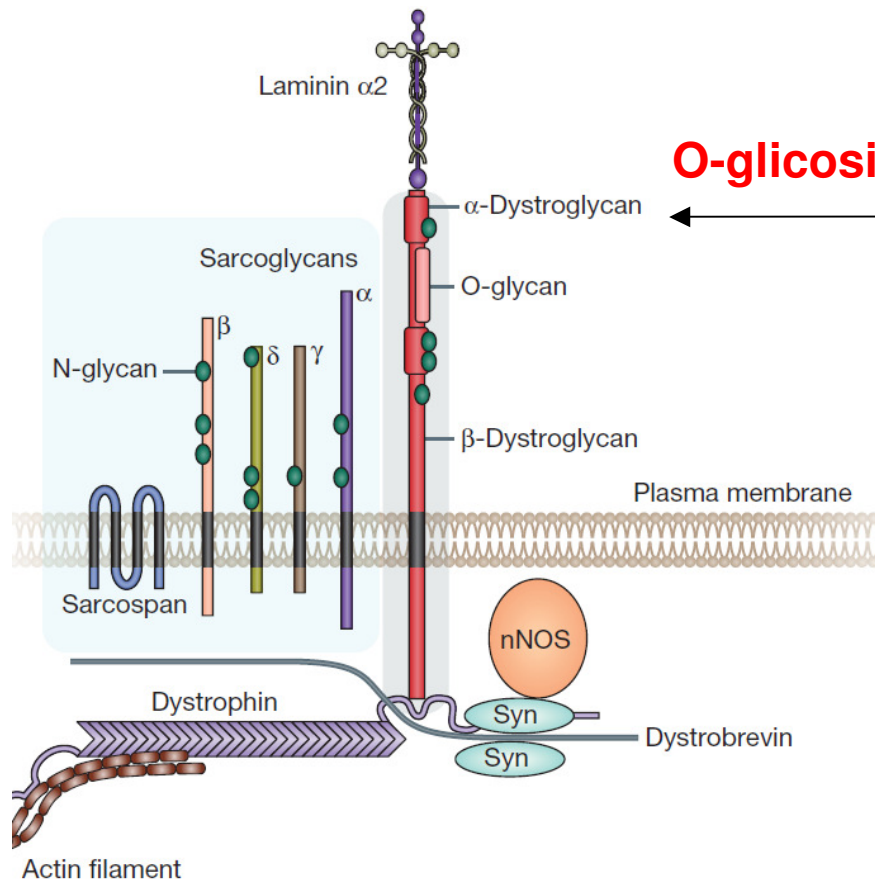
Hipertrofia gemelar

Cardiopatía

CPK ↑↑

LGMD 2I: FKRP

- Gen: **FKRP** 19q13-3
- Proteína: **proteína relacionada con la fukutina**
 - Se atribuye función de glucosiltransferasas



O-glicosilación

FKRP
Fukutina
POMT1
POMT2
POMGnT1
LARGE

LGMD2I
LGMD2M
LGMD2K
LGMD2N
LGMD2O

Distroglicanopatías

Walker
Warburg



Hipotonía neonatal y CPK alta

1



2

Anomalías SNC: lisencefalia, hidrocefalia, hipoplasia de tronco/fosa posterior

Walker
Warburg

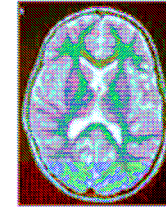
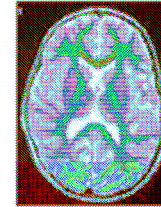
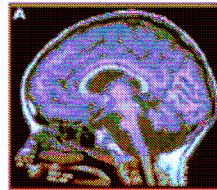
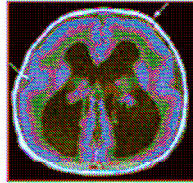


3

Anomalías oculares: microftalmia, cataratas, glaucoma, alteraciones retinianas

Walker Warburg

Dystroglycanopathies



- POMT1

WWS

MEB

LGMD2K

?

- POMT2

WWS

MEB



LGMD2N

- POMGnT1

WWS

MEB

-

LGMD2O

- Fukutin

WWS

FCMD



LGMD2M

- Large



MDC1D

-

-

- FKRPF

WWS

MEB

MDC1C

LGMD2I

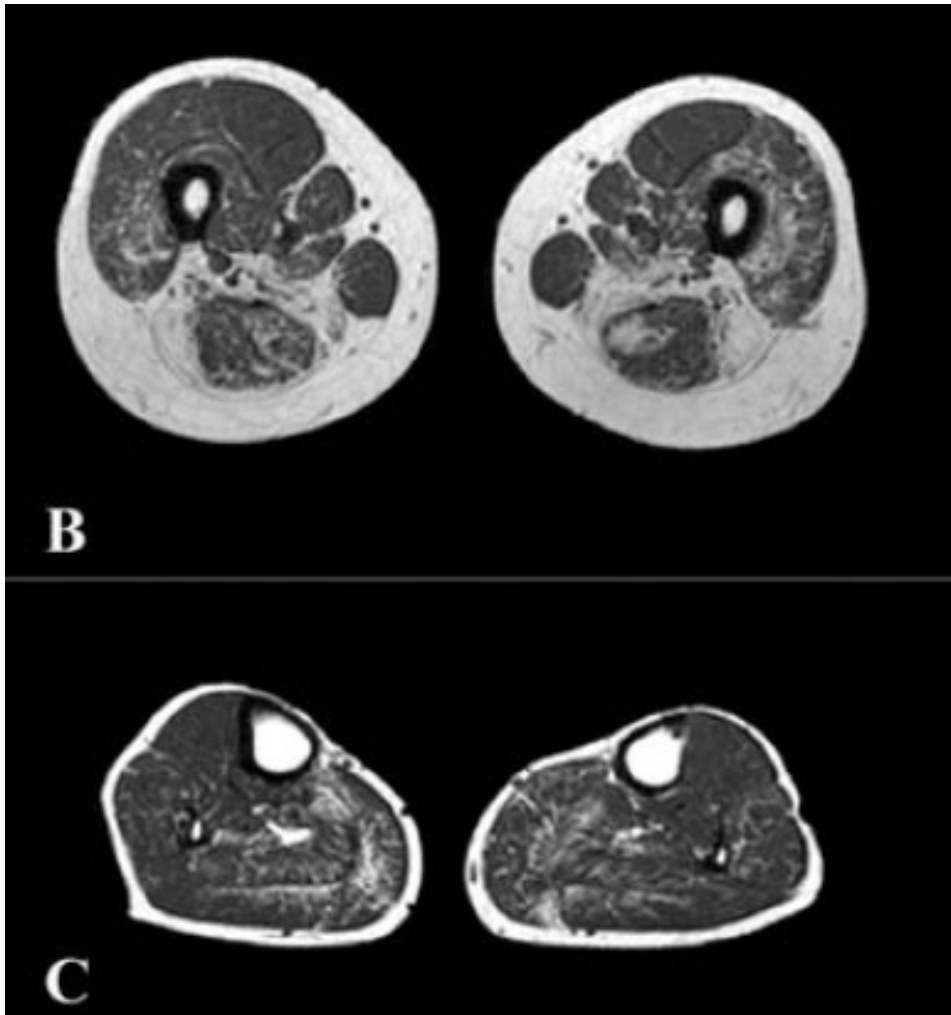
LGMD 2I: FKRP

- Frecuente en norte de Europa (C826A)
- Fenotipo variable: **CMD** → LGMD
- Becker-like
- Hipertrofia muscular:
 - pantorrillas
 - lengua
- **Afectación cardíaca**
- **Afectación respiratoria** (diafragma)
- **CPK ↑↑** (x5-x40)
- **RMN:** muslo post + (gemelo interno/sóleo)
- **Inmunoanálisis:** ↓ α DG y laminina α 2



LGMD 2I: FKRP

RMN



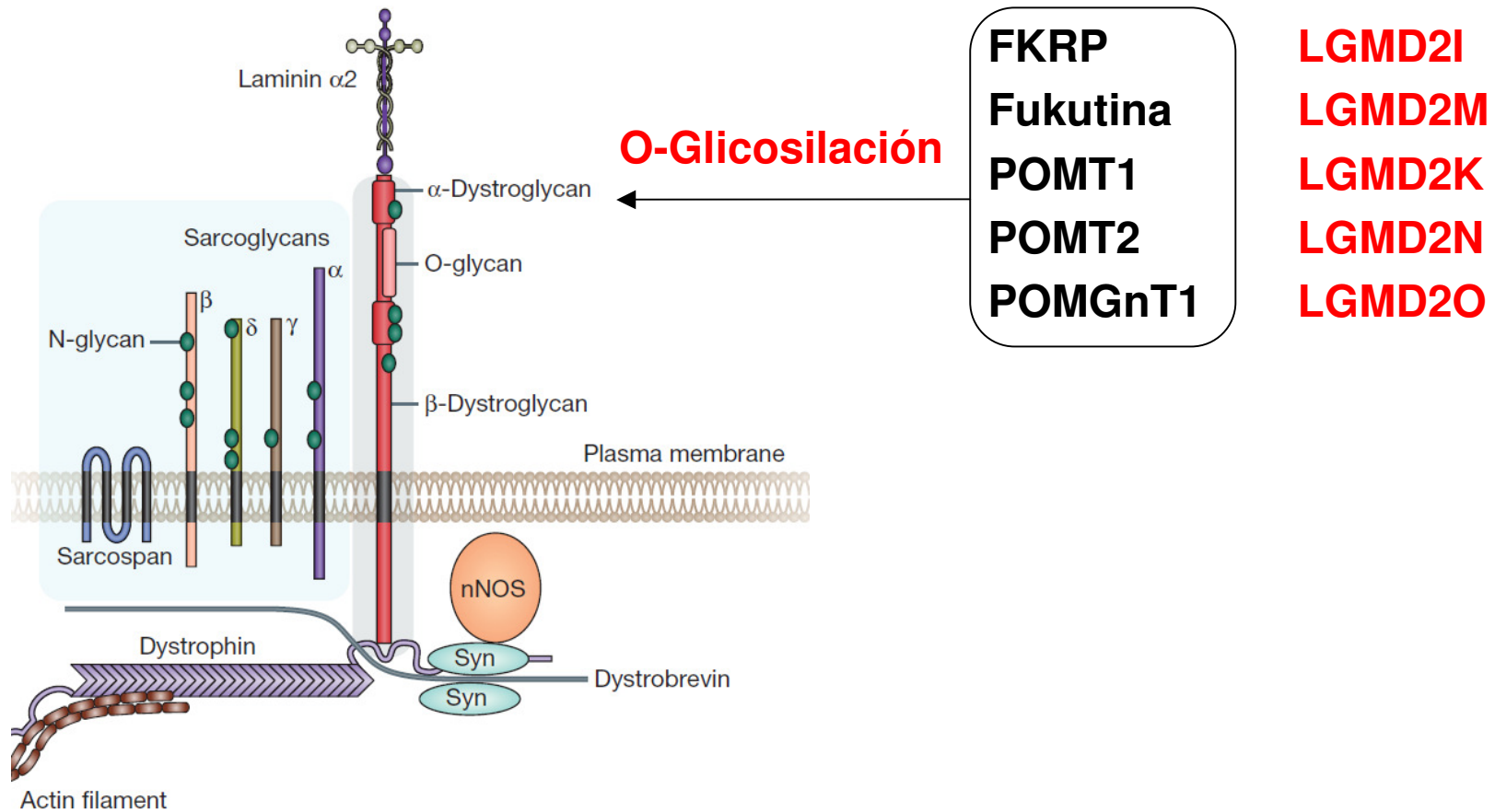
**compartimento
posterior**

adductor

bíceps femoral

**(gemelo interno
sóleo)**

• **Inmunoanálisis:** ↓ alfadistroglicano y laminina α2



• **Genética FKRP:** si negativa, pensar en FKTN, POMT1, POMT2, POMGnT1

TRATAMIENTO

- Fisioterapia
- Cirugía ortopédica
- Cardiología
- Neumología
- ¿Corticoides?
 - LGMD2I-FKRP *Darin, Eur J Paediatr Neurol 2007*

Transgenic Overexpression of LARGE Induces α -Dystroglycan Hyperglycosylation in Skeletal and Cardiac Muscle

Martin Brockington¹, Silvia Torelli¹, Paul S. Sharp², Ke Liu², Sebahattin Cirak¹, Susan C. Brown³, Dominic J. Wells^{2,3}, Francesco Muntoni^{1*}

PLoS One 2010

LGMD 2I: FKRP

Becker-like

**Hipertrofia
muscular**

Cardiopatía

Diafragma

Conclusiones

(K. Bushby, Pract Neurol 2009)

- Las distrofias de cinturas son raras (pensar en distrofinopatías!)
- El diagnóstico definitivo se consigue en el 75%
- La IHQ orienta el diagnóstico en 2/3 de los casos
- El análisis mutacional es el *gold estándar* diagnóstico
- El diagnóstico certero facilita el modo de seguimiento, especialmente en formas con afectación cardíaca y/o respiratoria: LGMD1B, LGMD2C-F y LGMD2I