

DISTROFIA MUSCULAR CONGÊNITA

ESTUDO HISTOQUÍMICO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE 17 PACIENTES

ACARY S. B. OLIVEIRA * — BENY SCHMIDT ** — ARMANDO FERREIRA NETO ***
BEATRIZ H. KIYOMOTO * — ALBERTO A. GABBAI ****
J. G. CAMARGO LIMA *****

RESUMO — Foram individualizados 17 pacientes com distrofia muscular congênita (DMC) por critérios clínico-laboratoriais e biópsia muscular com estudo histoquímico do músculo deltóide superficial. São descritas e ilustradas, com detalhes, as alterações histológicas observadas nas respectivas biópsias e que compõem seu substrato anátomo-patológico: proliferação conjuntiva, alteração na arquitetura interna, necrose, involução gordurosa, macrofagia, regeneração, segmentação, centralizações nucleares e predominância de fibras tipo I. Destacamos a intensa proliferação conjuntiva endomisial, que tende a isolar cada fibra muscular separadamente, e as importantes alterações na arquitetura, interna, com formação de fibras bizarras, que constituem dois importantes sinais que devem ser ressaltados tendo em vista um diagnóstico histológico diferencial com a distrofia muscular de Duchenne e Becker (DMD/B) e com a distrofia forma cintura-membros. A importância de se individualizar a DMC das outras formas de distrofias musculares reside principalmente em seu prognóstico que, na maioria das vezes, é mais favorável que na DMD.

Congenital muscular dystrophy: skeletal muscle histochemical study of 17 patients.

SUMMARY — A thorough histological description of 17 patients with congenital muscular dystrophy (CMD) is presented. The biopsies were performed in the left superficial deltoid muscle and processed with histochemical techniques. All samples showed connective tissue proliferation, changes in the internal architecture, necrosis, increase of adipose tissue, macrophagia, fiber regeneration and segmentation, central nuclei, and type I fiber predominance. The histological hallmarks of this entity are the marked endomysial connective tissue proliferation that frames one fiber from the other, and the important changes in the fiber's internal architecture. Those two abnormalities are extremely helpful to differentiate, on histological grounds, CMD from limb girdle muscular dystrophy and Duchenne/Becker muscular dystrophy. CMD presents a particular natural course and should be individualized apart from other muscular dystrophies.

Geralmente, a classificação das distrofias musculares é feita sob base anátomo-clínica e de aspectos genéticos⁸. Dentro deste grupo de patologias existe forma peculiar denominada distrofia muscular congênita (DMC), que se caracteriza clinicamente pela presença marcante de hipotonia generalizada precoce acompanhada de fraqueza muscular, de evolução estacionária ou lentamente progressiva e, às vezes, com tendência a melhora. Com a melhor caracterização anátomo-patológica têm-se verificado diferentes formas clínicas de DMC em diferentes partes do mundo. Nos na Europa^{1,2} e no Uruguai^{2,3}, caracteriza-se por comprometimento muscular primário, isolado ou associado a retrações de articulações. No Japão (DMC tipo Fukuyama)^{7,20} existe um tipo associado a sintomas neurológicos como retardo

* Pós-Graduando, Disciplina de Neurologia (DN), Escola Paulista de Medicina (EPM);
** Professor da Pós-Graduação, EPM; *** Estagiário, DN EPM; **** Professor Adjunto, DN EPM; ***** Professor Titular, DN EPM.

Dr. Beny Schmidt — Rua Botucatu 447 - 04023 São Paulo SP - Brasil

mental e convulsão, além de malformações no sistema nervoso central (SNC) como micropoligiria e paquigiria. Até o momento, na América Latina, apenas há relatos de 9 casos no Uruguai^{2,3} e de somente um caso no Brasil com biópsia suficientemente detalhada¹³. Apesar da extensa literatura existente sobre esta entidade, ela não é afecção adequadamente conhecida em nosso meio, não existindo critérios claros e unânimes sobre sua individualização.

O objetivo do presente estudo é descrever detalhadamente o substrato anátomo-patológico desta miopatia, enriquecendo os critérios diagnósticos para o reconhecimento desta doença no Brasil. Os aspectos clínicos e genéticos dessa entidade são objeto de outra publicação¹⁸.

MATERIAL* E MÉTODOS

Nosso material é constituído de 17 pacientes com DMC, dos quais 7 casos (3, 12, 13, 14, 15, 16, 17) estão matriculados na Disciplina de Neurologia da EPM e 10 na Associação de Assistência à Criança Defeituosa (Centro de Reabilitação Dr. Renato da Costa Bonfim). Estes pacientes foram estudados no período de fevereiro-1964 a junho-1986. Os critérios clínicos e laboratoriais para o diagnóstico de DMC, seguidos de acordo com a literatura, foram: fraqueza muscular e hipotonia presente desde o nascimento ou precocemente; presença frequente de, contraturas articulares, que têm tendência a aumentar de intensidade durante a evolução da doença; não serem acompanhadas de déficit motor correspondente; retardo do desenvolvimento motor; ausência de sinais ou sintomas sugestivos de malformações do SNC; doença adquirida sob forma de herança autossômica recessiva; atividade de enzimas séricas normal ou discretamente aumentada, raramente ultrapassando 10 vezes o valor da normalidade; eletroneuromiograma frequentemente de padrão miopático; e, principalmente, biópsia muscular de padrão miopático, exibindo importante proliferação do tecido conjuntivo endomisial e perimisial, variação no tamanho da fibra muscular, alteração na arquitetura interna das fibras musculares, com imagens ocasionais de necrose e macrofagia.

A biópsia muscular foi realizada em todos os 17 pacientes ao nível do músculo deltóide esquerdo, com anestesia local, sendo realizadas as colorações de hematoxilina-eosina, tricrômio de Gomori modificado e Sudan negro. Conforme técnicas já estabelecidas⁵ foram realizadas as seguintes reações histoquímicas: ATPase pré-incubada em pH 9,4, 4,63 e 4,34; PAS; NADH; desidrogenase succínica.

RESULTADOS

As alterações histológicas estão sumariadas na Tabela 1. O padrão histológico, quando se analisam globalmente as alterações, é o de uma distrofia muscular. As centralizações nucleares estão presentes em mais de 80% dos casos sendo, porém sempre discretas, ou seja, a percentagem de núcleos centralizados nunca foi maior que 15%. Os sacos nucleares são constituídos de núcleos vesiculosos, conglomerados; em 35% dos casos os conglomerados são grandes, compostos por até 15 núcleos. Em todos os casos observamos imagens de necrose. As fibras necróticas dispõem-se isoladamente em meio aos fascículos e são acompanhadas por discreta macrofagia em 60% dos casos. Em todos os casos existe atrofia de fibras musculares, sendo severa em 70%. As fibras atroficas tendem a assumir forma arredondada, não sendo encontradas fibras atroficas angulares (Fig. 1A). Imagens de hipertrofia estão sempre presentes, porém são mais discretas que as de atrofia. Em geral, as fibras hipertróficas apresentam imagens de segmentação. A hipertrofia predominou para as fibras tipo I. Em geral as fibras hipertróficas apresentam imagens de segmentação. As imagens de regeneração, reconhecidas pela intensa basofilia, estão presentes em 90% dos casos. A única célula inflamatória observada, além da proliferação conjuntiva fibrosa, foi o macrófago que está sempre relacionado às imagens de necrose. Não se observaram em qualquer dos casos, portanto, verdadeiros infiltrados inflamatórios em especial do tipo linfoplasmocitárib. A proliferação conjuntiva fibrosa, sempre presente, foi considerada severa em aproximadamente 60% dos casos. Esta proliferação fibrosa é predominantemente do tipo endomisial e tende a circundar cada fibra muscular separadamente. Desta forma, a proliferação fibrosa faz com que as fibras musculares atroficas fiquem totalmente isoladas. (Fig. 1B).

Em todos os casos há imagens importantes de alterações na arquitetura interna, predominando as imagens de «moth-eaten». Algumas fibras apresentam arquitetura extremamente desorganizada, havendo formação de enrodilamentos e dando a essas fibras a configuração de fibras bizarras (Figs. 1C, 1D, 1E, 2A, 2B).

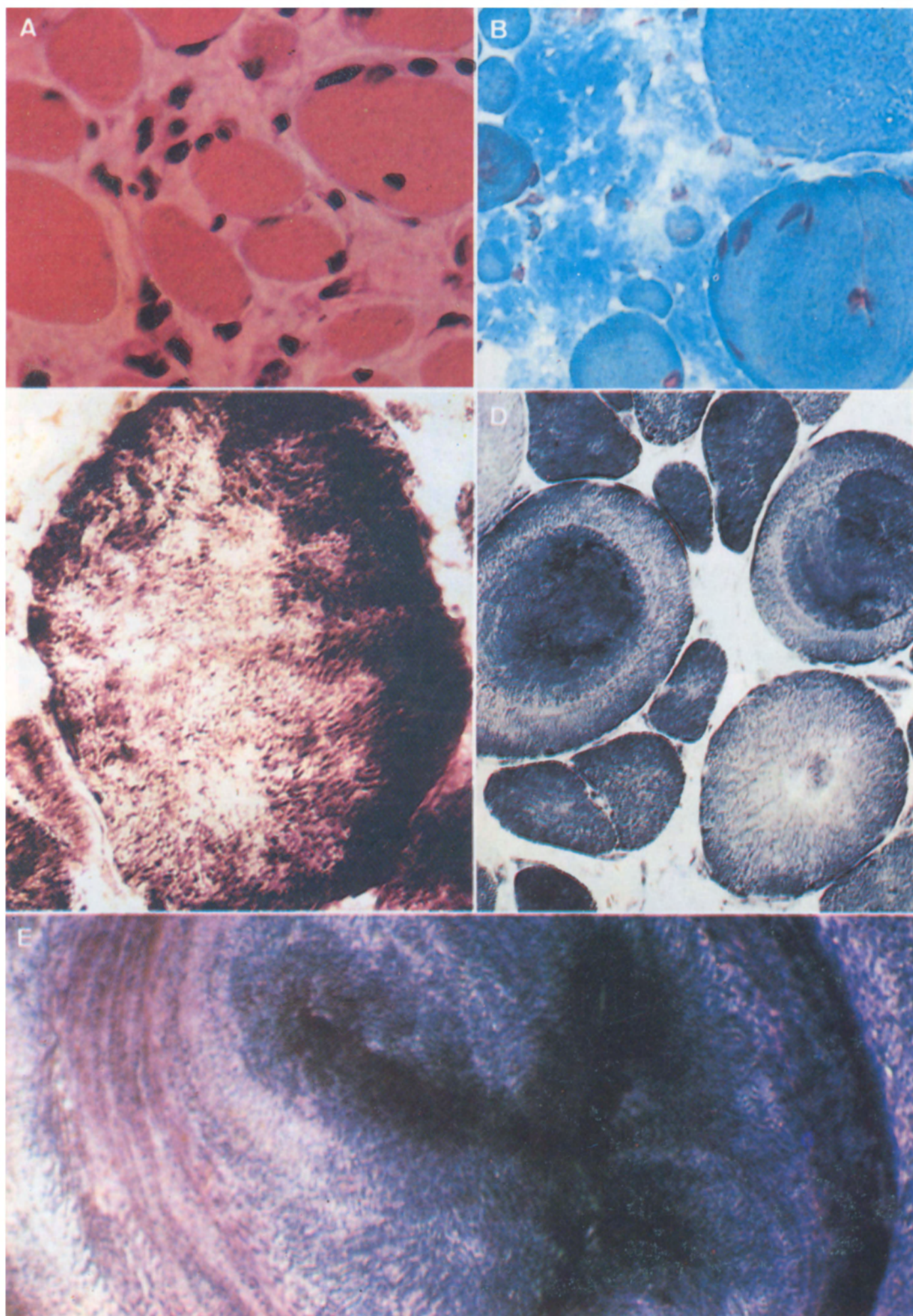


Fig. 1. A — Observa-se atrofia muscular importante; as fibras tendem a assumir forma arredondada, em consequência da proliferação conjuntiva endomisial que circunda cada fibra isoladamente. HE, $\times 350$. B — Detalhe da proliferação conjuntiva endomisial. Tricrômio de Gomori, $\times 350$. C — Presença de «moth-eaten fibers». NADH, $\times 500$. D e E — Alterações importantes na arquitetura interna das fibras musculares com formação de figuras bizarras. D: NADH, $\times 350$. E: NADH, $\times 1250$.

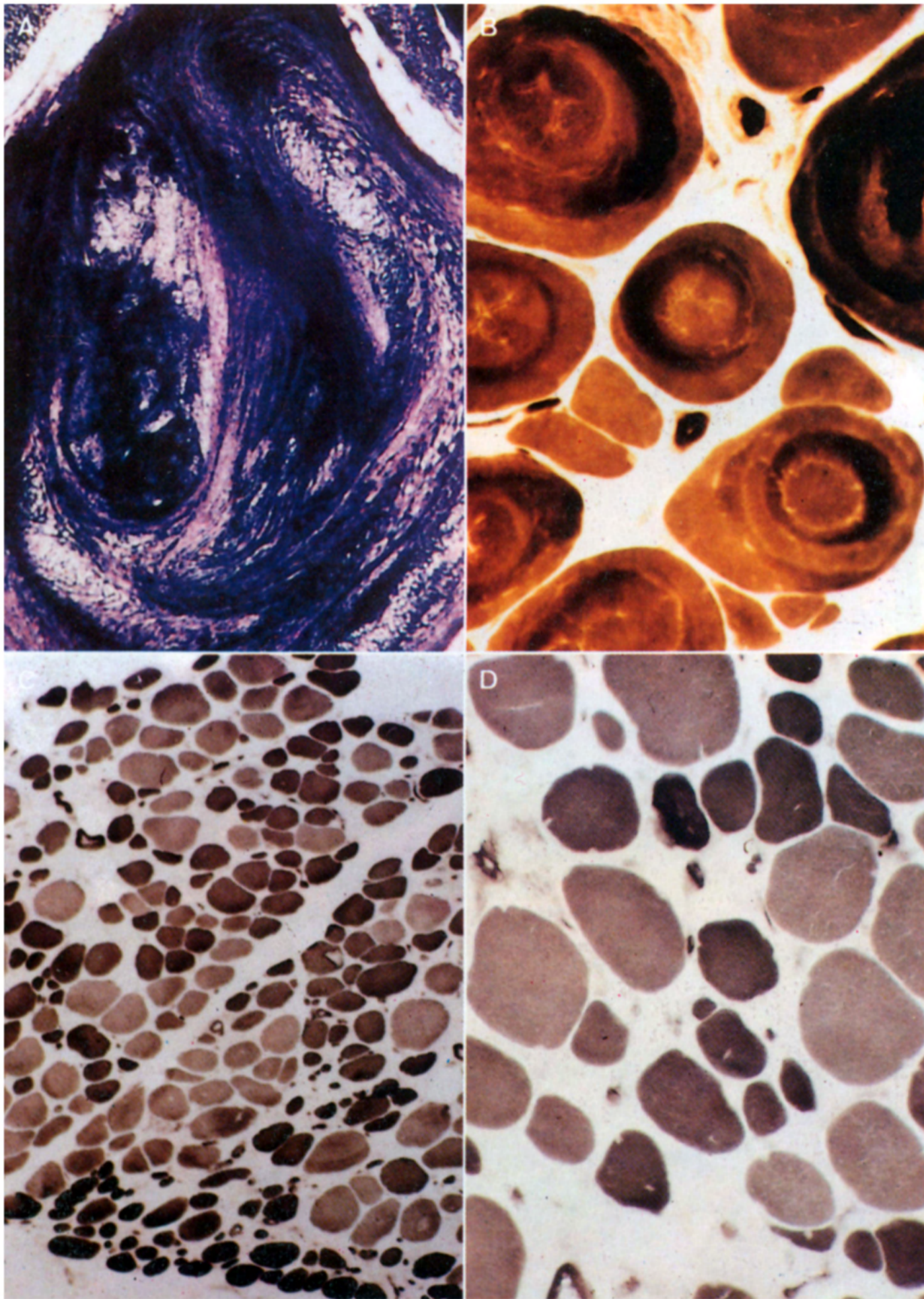


Fig. 2 A e B — Alterações importantes na arquitetura interna das fibras musculares com formação de figuras bizarras. A: NADH, $\times 500$. B: ATPase pré-incubada no pH 4,63, $\times 350$. C — Apesar da predominância de fibras tipo I, a imagem de mosaico está preservada. ATPase pH 9,4, $\times 125$. D — A atrofia não é seletiva para um determinado tipo de fibra: as fibras tipo I e II são igualmente comprometidas; não há agrupamentos de fibras tipo II. ATPase pH 9,4, $\times 350$.

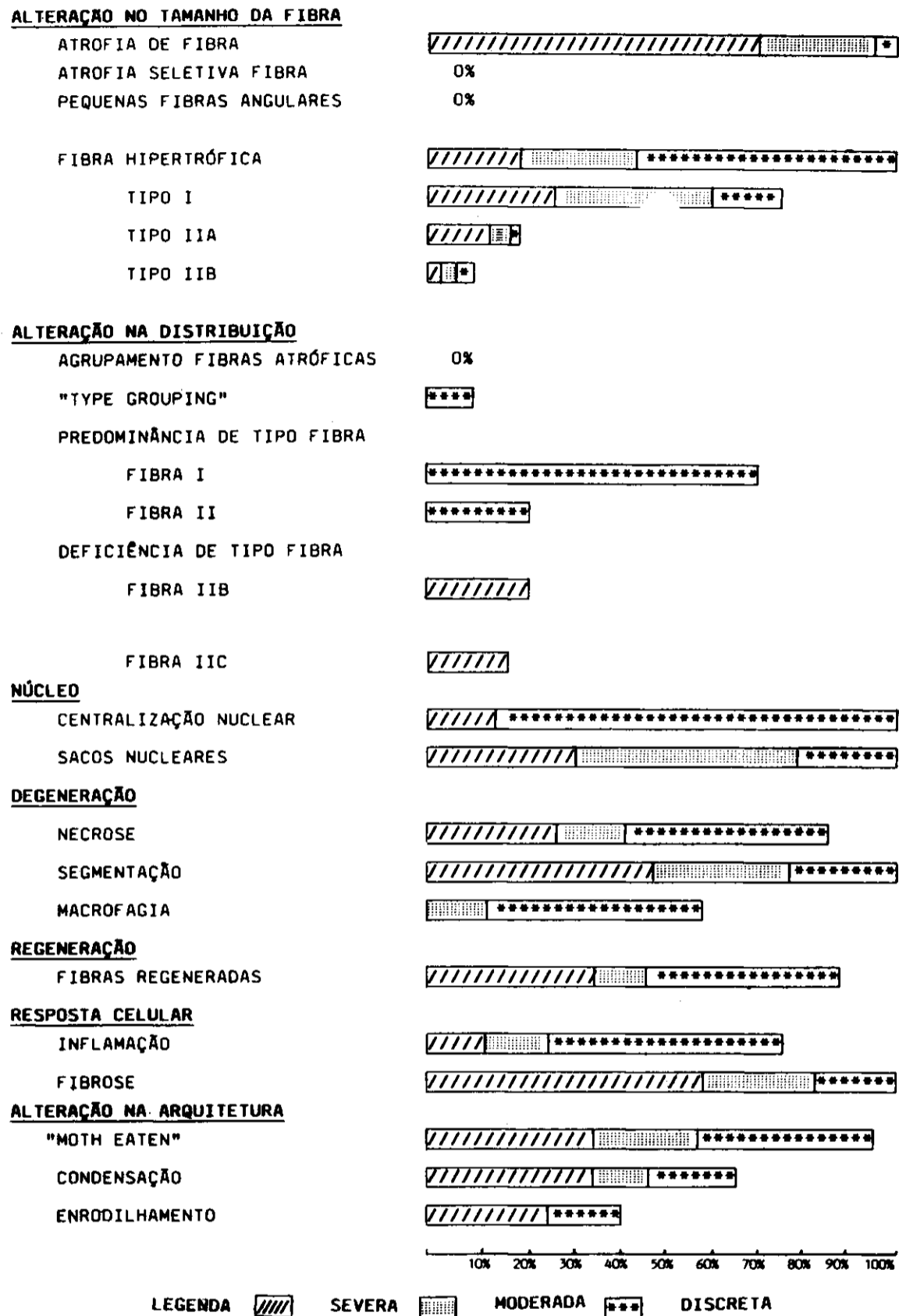


Tabela 1 — Alterações vistas no músculo esquelético nos 17 casos de DMC: representação diagramática.

Com colorações pela ATPase pré-incubada em diferentes pHs (9,4; 4,65; 4,35) a imagem de mosaico está, em mais de 90% dos casos, preservada (Fig. 2C). Em mais de 70% dos casos, observou-se predominância de fibras tipo I porém, nesses casos, as fibras tipo II dispõem-se aleatoriamente não havendo, portanto, formação de agrupamentos (Fig. 2D). Nos demais casos, os agrupamentos («type-grouping») são sempre de interpretação duvidosa, não havendo em qualquer dos casos verdadeiros agrupamentos de fibra tipo I e tipo II. Em 20% dos casos' observa-se deficiência de fibras tipo IIB. Em resumo, o padrão histológico é o de uma distrofia muscular que tem como particularidades a presença de escassa involução gordurosa, a proliferação conjuntiva individual e a presença de fibras bizarras.

COMENTÁRIOS

Na maioria dos registros da literatura foi estudado o músculo esquelético incluído em parafina e corado por corantes usuais. A análise realizada por microscopia óptica evidenciou alterações do tipo miopático com variação do tamanho das fibras, aumento do número de núcleos sarcolemais e, principalmente, pronunciada fibrose peri e endomisial, além de involução lipídica 2,10,11,23,24. Estudos histoquímicos na DMC são pouco numerosos 1,4,6,9,11,12,14,16,17,21. As alterações histológicas são compatíveis a quadro miopático em que o padrão em mosaico está preservado. A predominância de fibras tipo I foi o padrão mais frequentemente encontrado. Lenard e Goebel descreveram um caso com ausência completa de fibras tipo II¹². As alterações na estrutura das fibras foi infreqüentemente relatada. Dentre as alterações na arquitetura interna descritas, observam-se: fibras lobuladas 1, «moth-eaten» 9,21, enrodilhamento 9, «targetóides» 11 e «rimmed vacuoles» &. Não se observa, na literatura, substrato anátomo-patológico que seja específico para a DMC. Em nossos casos observamos um padrão miopático característico, em que se destacam a exuberante proliferação conjuntiva perimisial e endomisial e as alterações na arquitetura interna. Estas duas alterações devem ser ressaltadas, tendo em vista um diagnóstico diferencial com distrofia muscular progressiva de Duchenne/Becker (DMD/B) e distrofia muscular forma cintura-membros (DCM), quando considerados somente critérios histológicos. A proliferação conjuntiva endomisial tende a isolar cada fibra muscular separadamente. Este é o achado histológico mais importante e específico da DMC pois, nas demais formas de distrofia muscular, a proliferação conjuntiva endomisial ocorre geralmente em áreas de necrose muscular ou ao redor de grupos de fibras musculares.

O segundo dado histológico mais sugestivo é a alteração na arquitetura interna. Observamos em nossos casos que ela está sempre presente e que as fibras assumem imagens de fibras bizarras fantásticas. As alterações de arquitetura interna normalmente observadas em patologia neuromuscular ocorrem geralmente em casos crônicos, em que existe grande número de fibras hipertróficas. Na DMC, parece que as alterações da arquitetura interna são mais importantes que as imagens de hipertrofia. A presença de fibras hipertróficas, acompanhadas por segmentação, é o principal sinal histológico da distrofia muscular forma DCM; entretanto, na DCM não existem alterações tão importantes na arquitetura interna como aquelas que ocorrem na DMC.

As outras alterações histológicas encontradas na DMC, apresentadas na Tabela 1, completam o substrato anátomo-patológico da DMC e são comuns em patologia neuromuscular, não apresentando particularidades. Por exemplo, a presença de centralizações nucleares, necrose, segmentação, macrofagia e regeneração, são sinais histológicos frequentes em todas as formas de distrofia muscular. Em 70% aproximadamente de nossos casos observamos predominância de fibras tipo I. Ressalte-se que, apesar desta predominância, a imagem de mosaico está absolutamente preservada em 90% dos casos, mostrando que o componente neurogênico da DMC se existe, não é importante. As células inflamatórias observadas são todas elas representadas por macrófagos e estiveram sempre relacionadas a imagens de necrose muscular, não se observando, portanto, verdadeiros infiltrados inflamatórios intersticiais. Muitos pacientes mostram aumento no número de fibras tipo IIC, que são consideradas como precursoras de fibras imaturas e devem ser creditadas a processo regenerativo ativo. Atualmente, a DMD pode ser, do ponto de vista histológico, mais facilmente diferenciada das demais miopatias quando utilizadas técnicas de imuno-histoquímica com a distrofina 15. Entretanto, esta metodologia ainda não está totalmente padronizada e difundida em nosso meio.

Conclusões — Após o estudo histoquímico de 17 biópsias musculares de pacientes com DMC, concluímos que existe um substrato anátomo-patológico característico para esta entidade do qual destacam-se duas alterações importantes, que devem ser sempre consideradas no diagnóstico histológico diferencial com a DMD/B e a DCM: o tipo de proliferação conjuntiva e as alterações na arquitetura interna com formação de fibras bizarras.

REFERÊNCIAS

1. Bethlem J, Wijngaarden GK van. Benign myopathy with autossomal dominant inheritance: a report on three pedigree. *Brain* 1976, 99 : 91-100.
2. Deffémenis-Rospide HA, Gaundin ES, Vincent O, Scarabino R. Ubicación nosológica y clasificación de la hipotonía congénita de origen miopático. *Arch Ped Uruguay* 1966, 37:503-508.
3. Deffémenis-Rospide HA, Vincent O, Gaundin ES, Scarabino R, Médici M. Distrofia muscular congénita pura: ubicación nosológica, frecuencia, aspectos clínicos y evolutivos y clasificación. *Acta Neurol Latino Amer* 1972, 18 : 20-36.
4. Donner M, Rapola J, Somer H. Congenital muscular dystrophy: a clinico-pathological and follow-up study of 15 patients. *Neuropaediatrie* 1975, 6:239-258.
5. Dubowitz V, Brooke M. *Muscle Biopsy: A Modern Approach*. London: Saunders, 1973.
6. Echenne B, Astruc J, Brunei D. Congenital muscular dystrophy and rigid spine syndrome. *Neuropediatrics* 1983, 14 : 95-101.
7. Fukuyama Y, Kawazura M, Haruna H. A peculiar form of congenital progressive muscular dystrophy. *Paediatr Univ. Tokyo* 1970, 4 : 5-8.
8. Gardner-Medwin D. Clinical features and classification of the muscular dystrophies. *Br Med Bull* 1980, 36 : 109-115.
9. Goebel HH, Lenard HG, Langenbeck U, Mehl B. A form of congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1980, 2 : 387-400.
10. Greenfeld T, Cornman T, Shy GM. The prognostic value of the muscle biopsy in the «floppy infant». *Brain* 1958, 81 : 461-484.
11. Kihira S, Ninaka I. Congenital muscular dystrophy: a histochemical study with morphometry analysis on biopsied muscles. *J Neurol Sci* 1985, 70 : 139-149.
12. Lenard HG, Goebel HH. Congenital muscular dystrophies and unstructured congenital myopathies. *Brain Dev* 1980, 2:119-125.
13. Levy JA, Alegro MSC, Salum PNB, Brotto MW, Levy A. Distrofia muscular progressiva congênita tipo Fukuyama: descrição de um caso. *Arq Neuro-Psiquiat (S Paulo)* 1987, 45:188-192.
14. Menamin JB Mc, Becker LE, Murphy EG. Congenital muscular dystrophy: a clinico-pathologic report of 24 cases. *J Pediatr* 1982, 100 : 692-697.
15. Miranda AF, Francke U, Bonilla E, Schmidt B, Salvati G, Rubi M. Dystrophin immunochemistry in muscle culture: detection of a carrier of Duchenne muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 1989, 32 : 268-273.
16. Misugi N. Light and electron microscopic studies of congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1980, 2 : 191-199.
17. Nonaka I, Miyoshino S, Miike T, Mishima K. Clinical and pathological study of Ullrich type of congenital muscular dystrophy. *No To Hattatsu (Tokyo)* 1974, 6 : 45-56.
18. Oliveira ASB. Distrofia muscular congênita: estudo histoquímico do músculo esquelético de 17 pacientes. Tese. *Disciplina de Neurologia, Escola Paulista de Medicina. São Paulo, 1987.*
19. Otto HF, Lucking T. Congenital Muskeldystrophie: licht und elektronenmikroskopische Befunde. *Virchows Arch (Path Anat)* 1971, 352 : 324-329.
20. Segawa M. Congenital muscular dystrophy. *Adv Neurol Sci (Tokyo)* 1976, 20:68-80.
21. Serratrice G, Cros D, Pellissier JF, Gastaut JL, Pouget J. Distrofie musculaire congénitale. *Rev Neurol (Paris)* 1980, 136 : 445-472.
22. Vassella F, Mummenthaler M, Rossi E, Moser H, Wiesmann U. Die kongenitale muskeldystrophie, *Dtsch Z Nervenhe* 1967, 190 : 349-374.
23. Zellweger H, Afifi A, Cormick WG Mc, Mergner W. Severe congenital dystrophy. *Am J Dis Child* 1967, 114 : 591-602.
24. Zellweger H, Afifi A, Cormick WF Mc, Mergner W. Benign congenital muscular dystrophy: a special form of congenital hypotonia. *Clin Pediatr* 1967, 6 : 655-663.