

MIOPATIAS ASSOCIADAS A AGREGADOS TUBULARES

MARY SOUZA CARVALHO *, EDGARD S. LUSVARGHI *, ANGELA LOBO F. LEVY **
PAULO N. BORSOI SALUM *, CONSUELO J. RODRIGUES ***
JOSÉ ANTONIO LEVY ****

RESUMO — Os autores relatam o caso de paciente de 58 anos de idade do sexo masculino, com quadro de características miastênicas tanto clínica como eletromiograficamente, no qual a biópsia muscular com histoquímica e microscopia eletrônica permitiu fazer o diagnóstico de miopatia associada a agregados tubulares. É chamada a atenção para o fato de que as alterações anátomo-patológicas encontradas podem estar presentes em um grupo heterogêneo de pacientes com grande variedade de sintomas, não havendo portanto motivo para considerar-se a existência de uma miopatia com agregados tubulares, já que os achados anátomo-patológicos são inespecíficos e não configuram moléstia específica.

PALAVRAS-CHAVE: miopatia, agregado tubular, histoquímica, ultra-estrutura.

Myopathies associated to tubular aggregates.

SUMMARY — The authors report the case of a 58-year-old male patient with clinical and electromyographic features of myasthenia. Muscle biopsy with histochemistry and electronic microscopy made it possible to diagnose a myopathy associated with tubular aggregates. Attention is called to the fact that the anatomical pathologic alterations which were found may be present in a heterogeneous group of patients showing a great variety of symptoms. Thus, there is no reason to consider the existence of a myopathy associated with tubular aggregates, since the anatomical and pathologic findings are inespecific and do not characterize any specific disease.

KEY WORDS: myopathy, tubular aggregates, histochemistry, ultrastructure.

Essas miopatias, nas quais a alteração anátomo-patológica principal é constituída da presença de agregados tubulares entre as fibras musculares, é diagnosticada em um grupo heterogêneo de pacientes com grande variedade de sintomas^{5,12}. De acordo com Banker² quatro quadros clínicos podem ser verificados nessa miopatia, quais sejam: (1) miopatia com características miastênicas e resposta favorável aos anticolinesterásicos; (2) miopatia com dor e câimbras ou enrijecimento após os exercícios; (3) miopatia com evolução lenta e caráter dominante com comprometimento inicial predominante nos ombros e coxas; (4) déficit motor lentamente progressivo nas cinturas pélvica e escapular, com herança autossômica recessiva⁹. Esses agregados tubulares, que podem inclusive aparecer experimentalmente em músculos pela injeção de toxina tetânica⁶, anoxia (Schiafina et al cit Banker²) e pelo frio (Price et al cit Banker²), são verificados tam-

Trabalho da Clínica Neurológica (CN) da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade de São Paulo (USP) (Prof. Dr. Milberto Scaff) e do Laboratório de Patologia Molecular da FMUSP (Prof. Dr. Antonio Sesso): * Médico, CN/FMUSP; ** Biomédica CN/FMUSP; *** Patologista, Disciplina de Técnica Cirúrgica, FMUSP; **** Professor Associado CN/FMUSP. Aceite: 31-janeiro-1993.

Dr. José Antonio Levy — Departamento de Neurologia, Faculdade de Medicina USP - Av. Dr. Arnaldo 455 - 01246-000 São Paulo SP - Brasil.

bém em várias outras afecções. Assim, a presença de agregados tubulares foi encontrada por: Bradey⁴ e Meyers et al¹¹ nas paralisias periódicas; Tome e Mair¹⁷ na polineuropatia alcoólica; Schroeder e Adams¹⁵ na distrofia miotônica; Stroeber e al¹⁶ na polimiosite crônica; Schiffer et al¹⁴ na paramiotonia congênita; Mastaglia¹⁰ na acromegalia; Shagiq et al¹³ nas atrofia por denervação e Fardeau et al⁸ no uso crônico do maleato de perexilene (substância anti-arrítmica). Bergman e Johns³ estudaram três pacientes com miastenia grave nos quais as biópsias musculares eram normais à microscopia óptica, mas que mostraram a presença de agregados tubulares à ultramicroscopia. Ao contrário do que observamos em nosso paciente, em que mesmo pelo HE os agregados tubulares foram facilmente verificáveis, os casos de Bergman e Johns³ eram normais à microscopia óptica. Por outro lado, as fotografias da microscopia eletrônica publicadas por esses autores não revelam os agregados tubulares em quantidade tão grande como em nosso paciente.

Alterações anátomo-patológicas: apesar da diversidade das miopatias associadas com agregados tubulares, o quadro anátomo patológico muscular é praticamente idêntico em todos os casos. À microscopia óptica, com as colorações pela hematoxilina eosina (HE) ou pelo tricrômio de Gomori modificado, as alterações são mínimas consistindo de focos subsarcolemiais que podem atingir até o centro das fibras, que se coram diferentemente, sugerindo a presença de artefatos²; pelo HE essas zonas são basófilas, enquanto pelo tricrômio modificado de Gomori elas se coram de vermelho. A histoquímica essas zonas estão acentuadas pelo NADH enquanto pela fosforilase elas não são perceptíveis, sendo inativas às ATPases. Pela esterase inespecífica os focos são também facilmente visíveis. Quando a sintomatologia é caracterizada por dores e câimbras, as alterações são encontradas apenas nas fibras tipo 2. Nos outros três quadros clínicos anteriormente referidos, são encontradas nas fibras 1 e 2². Os estudos ultraestruturais (microscopia eletrônica) mostram, nas áreas cuja coloração está alterada à microscopia óptica, focos de agregados tubulares situados sob a membrana plasmática, nitidamente separados das miofibrilas adjacentes². Esses agregados tubulares consistem de coleções de túbulos paralelos de dupla parede situados juntos uns aos outros. Os agregados tubulares, conforme referimos anteriormente, não constituem característica de uma miopatia mas, ao contrário, podem ser encontrados em várias afecções musculares e mesmo em caso de denervação⁸.

Por termos encontrado os agregados tubulares em um de nossos pacientes do ambulatório de miopatias da Clínica Neurológica da FMUSP, julgamos útil relatar as características desse caso.

RELATO DO CASO

GLS, paciente branco, do sexo masculino, com 58 anos de idade, registro HC 2.535.451-F, foi encaminhado a nós pelo grupo de miastenia visto ter sua moléstia, que se iniciara aos 54 anos com oftalmoparesia e semiptose palpebral bilaterais, evoluído de modo lento e progressivo porém sem flutuações e sem resposta aos anticolinesterásicos, tendo sido pois impossível confirmar qualquer diagnóstico. Exame neurológico: oftalmoparesia bilateral acentuada, ligeiramente assimétrica, com ptose; diplopia ausente; nervo facial normal; nervos bulbares normais; musculatura de tronco, da respiração e dos membros normais. Pesquisa de anticorpos anti-receptor de acetilcolina: negativa (0,6 nM/l por radioimunoensaio). Pesquisa de anticorpos anti-músculo negativa (por enzima imunoensaio). Eletroneuromiografia: alterações sugestivas de miastenia grave com teste positivo ao Tensilon.

Biópsia muscular.

Métodos: A biópsia muscular foi realizada no biceps. Imediatamente após a retirada do tecido muscular foram recolhidos pequenos fragmentos destinados a estudo ultraestrutural. Estes fragmentos foram fixados em aldeído glutárico a 2% em tampão fosfato 0,075M pH 7.3 por 2 horas a 4°C, pós-fixados em OsO₄ a 1% em tampão fosfato a 4°C por 1 hora, imersos em acetato de uranila 0,5% por 24 horas a 4°C, desidratados em etanol, embebidos e incluídos em resina «araldite». Destes blocos foram obtidos cortes ultrafinos (500Å) depositados em tela de cobre e contrastados pelo citrato de chumbo de Reynolds. Estes cortes foram examinados ao microscópio eletrônico Zeiss em 9S2.

Para estudo histoquímico, aproximadamente 2/3 da biópsia muscular foi imediatamente congelada e estocada em N₂ líquido. Deste fragmento muscular foram obtidos cortes de con-

gelação de 4μ , recolhidos em lâmina de vidro, que seguiram para o estudo das seguintes reações enzimáticas: ATPase 9.4 e 4.3; SDH, esterase inespecífica, fosfatase ácida e fosfatase alcalina. Cortes foram também corados pela HE, tricrômio de Gomori modificado, Oil red O e Sudan Black, de acordo com os métodos padronizados¹⁸. A avaliação foi realizada em microscópio de luz.

O restante da biópsia muscular foi fixado em formol a 10% por 24 horas, desidratado em etanol, clareado em xilol, embebido e emblocado em parafina. Destes blocos foram obtidos cortes de 5μ que foram corados pela HE e examinados em microscópio de luz.

Resultados: Os cortes histológicos de parafina corados pela HE revelaram a presença de algumas fibras musculares com áreas focais periféricas não coradas.

Os cortes de congelação corados pela HE mostraram áreas subsarcolemais de tamanho e forma irregular, aspecto granular e coloração basofílica (Fig. 1). Observamos que alguns fascículos apresentaram muitas fibras musculares com aquelas áreas anormais (10%), enquanto outros fascículos mostraram raras fibras com tais alterações. O restante do tecido muscular mostrava pequena quantidade de fibras arredondadas e/ou fibras com núcleos centrais.

No tricrômio de Gomori modificado, essas áreas subsarcolemais coraram-se em vermelho, com aspecto de grânulos grosseiros (Fig. 2). Da mesma forma, essas zonas interfibrilares tornaram-se mais evidentes também pela reação da esterase inespecífica, adquirindo tonalidade vermelho escura (Fig. 3).

A pesquisa da reação da ATPase revelou ausência de atividade enzimática nesses focos, correspondendo então a uma zona com ausência de miofibrilas (Fig. 4). Além disso, verificamos que tanto as fibras tipo I como II estavam atingidas em proporções relativamente semelhantes. Essas áreas alteradas interfibrilares, quando em posição central na fibra muscular, adquirem forma arredondada (Fig. 4).

A atividade mitocondrial pela reação de SDH revelou que nas zonas interfibrilares não havia aumento de mitocôndrias, salvo em raras fibras musculares.

Microscopia eletrônica: As fibras musculares exibiram estruturas de aspecto tubular com membrana lisa que se dispunham paralelamente em posição subsarcolema, formando agregados tubulares (Fig. 5). Os sarcômeros estavam destruídos e substituídos por inúmeras vesículas dilatadas (Fig. 6), dando aspecto de favo de mel (Fig. 7) e com características semelhantes ao retículo sarcoplasmático. Em regiões adjacentes encontramos alguns vacúolos e mitocôndrias de características preservadas. As membranas basal e celular estavam normais (Fig. 7).

COMENTÁRIOS

Nosso paciente apresentava quadro sugestivo de miastenia grave tanto clínica como eletromiograficamente, embora evoluísse de modo lento e progressivo sem flutuações. Por outro lado, a pesquisa de anticorpos anti-receptores da acetilcolina e anti-músculo foi negativa. A biópsia muscular com histoquímica e microscopia eletrônica permitiu o diagnóstico de miopatia associada a agregados tubulares.

Não sabemos se o caso descrito poderia ser enquadrado no tipo 1 da classificação de Banker² ou seja naquela forma com características miastênicas, se na síndrome miastênica referida por Engel e col.⁷, ou se poderia tratar-se de uma miastenia grave propriamente dita. Em relação, à primeira hipótese, os casos descritos são ainda muito poucos, sendo preciso considerar também que a classificação referida acima na verdade é apenas uma tentativa de classificar um grupo de miopatias com alterações patológicas idênticas. Em relação aos casos referidos por Engel e col.⁷, que poderia ser igual nosso caso, o próprio Banker² é de opinião que a relação entre o grupo 1 de sua classificação e síndrome miastênica ainda está para ser determinada. Dessa última síndrome, Engel e col.⁷ relataram três casos (idades de 30 a 35 e 53 anos) familiares e congênitos, com fraqueza e aumento da fadigabilidade, de evolução e idade de início variável (da infância à velhice). O teste do Tensilon, ao contrário do sucedido em nosso paciente, foi negativo ou ambíguo, sendo as drogas anticolinesterásicas inefetivas. O pai e um filho de um dos pacientes e o filho de um outro estavam afetados. As alterações encontradas na síndrome seriam decorrentes da abertura

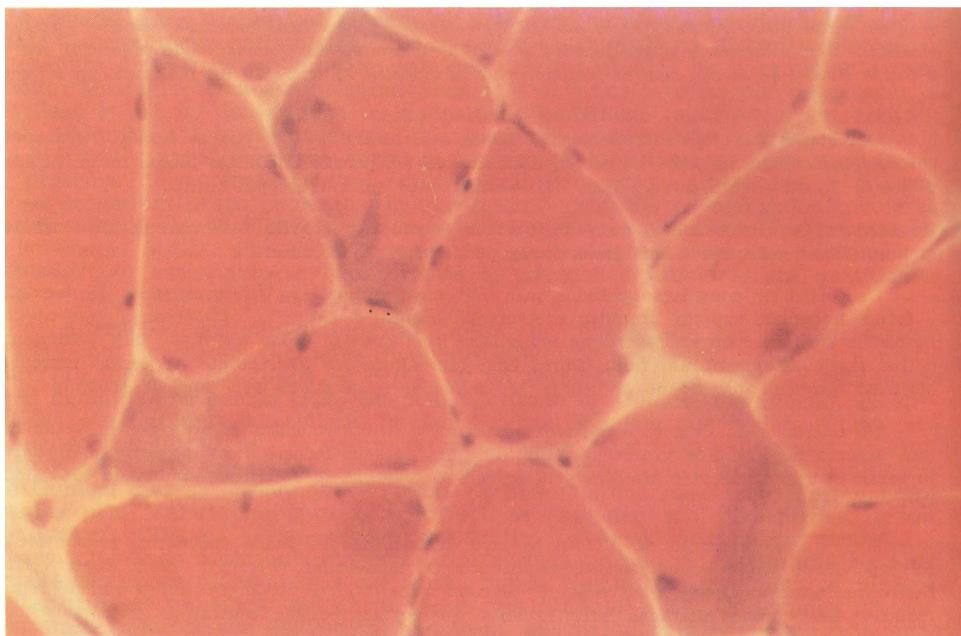


Fig. 1. Áreas subsarcolemais basofílicas de tamanho e forma irregular, aspecto granular (HE; congelação).

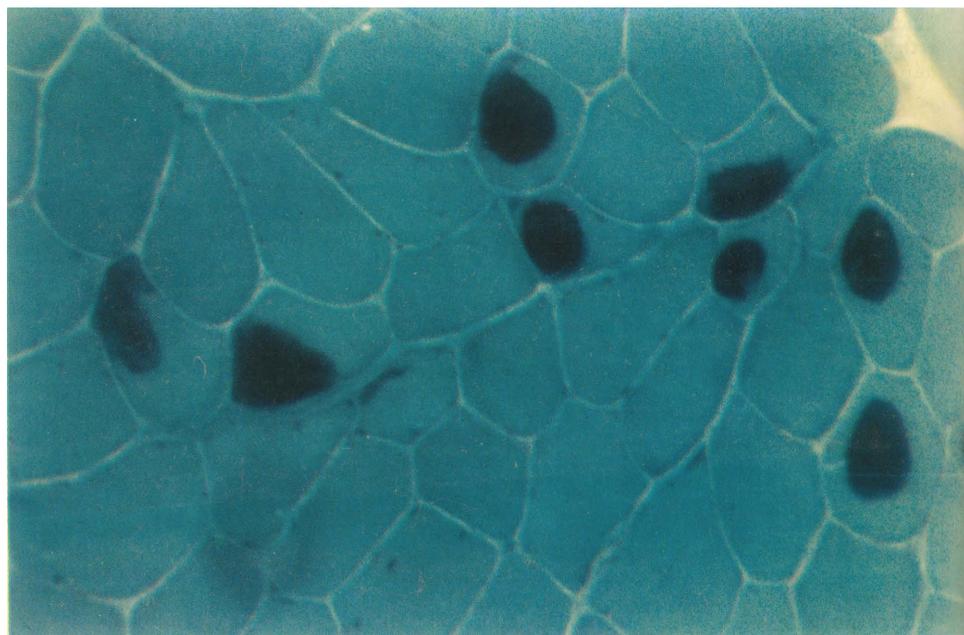


Fig. 2. Áreas subsarcolemais que avançam para o interior das fibras, de coloração avermelhada (Tricrômio de Gomori modificado; congelação)

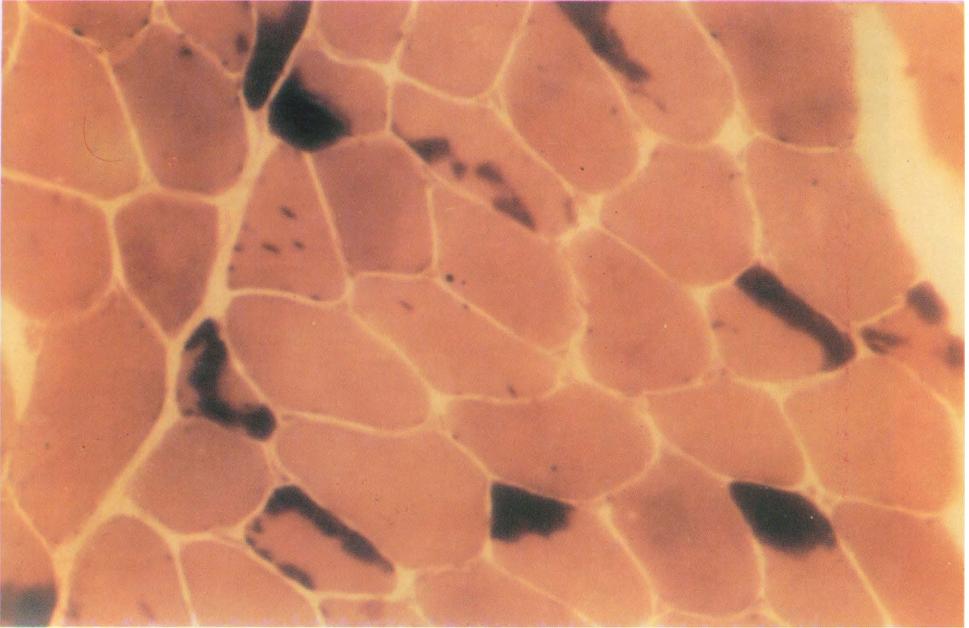


Fig. 3. Áreas subsarcolemais avermelhadas (Esterase inespecífica; congelação).

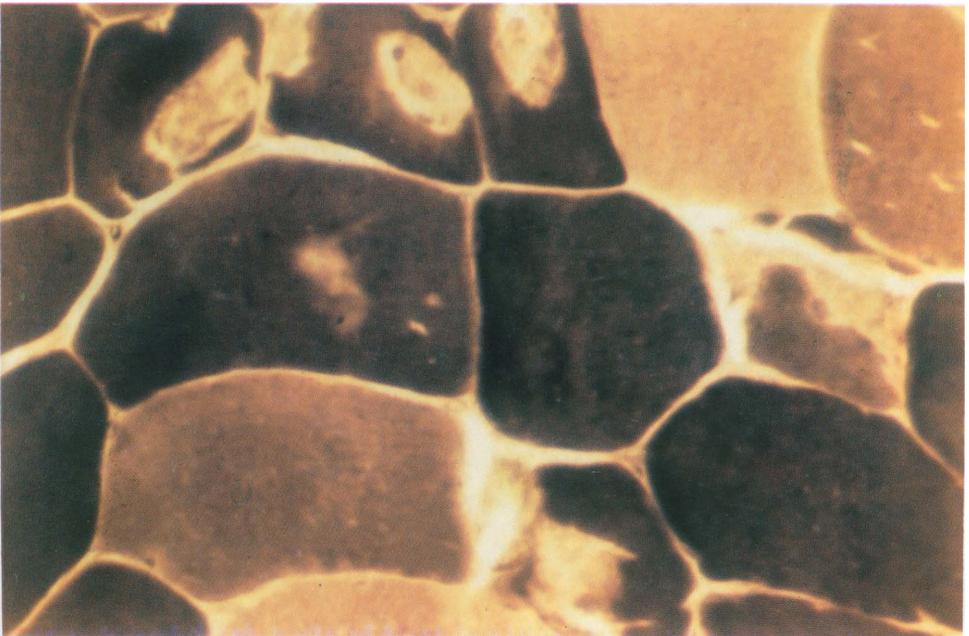


Fig. 4. Ausência focal de atividade enzimática correspondendo a zonas com ausência de miofibrilas (ATPase 4.3; congelação).

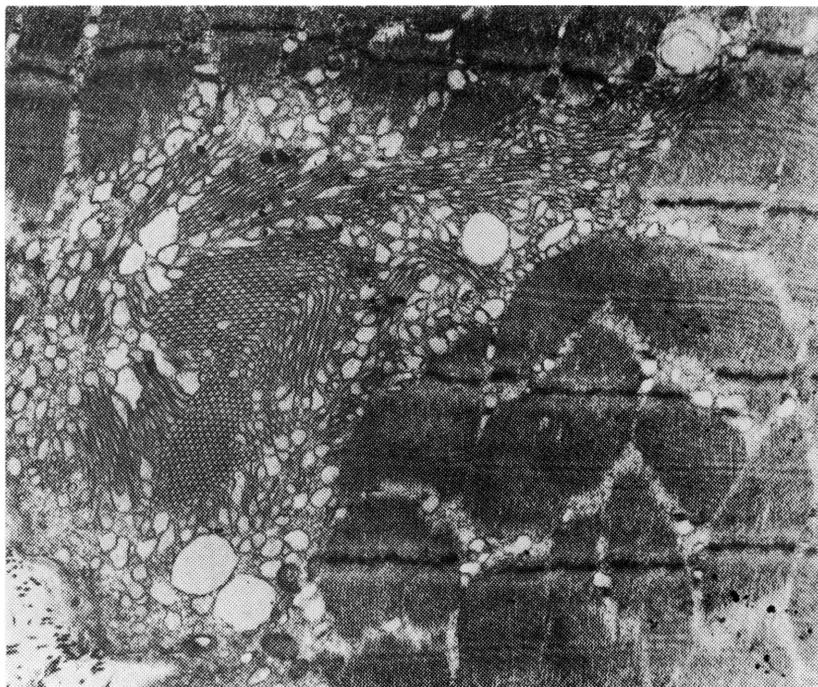


Fig. 5. Agregado tubular subsarcolemal invadindo a fibra muscular ($\times 1900$).

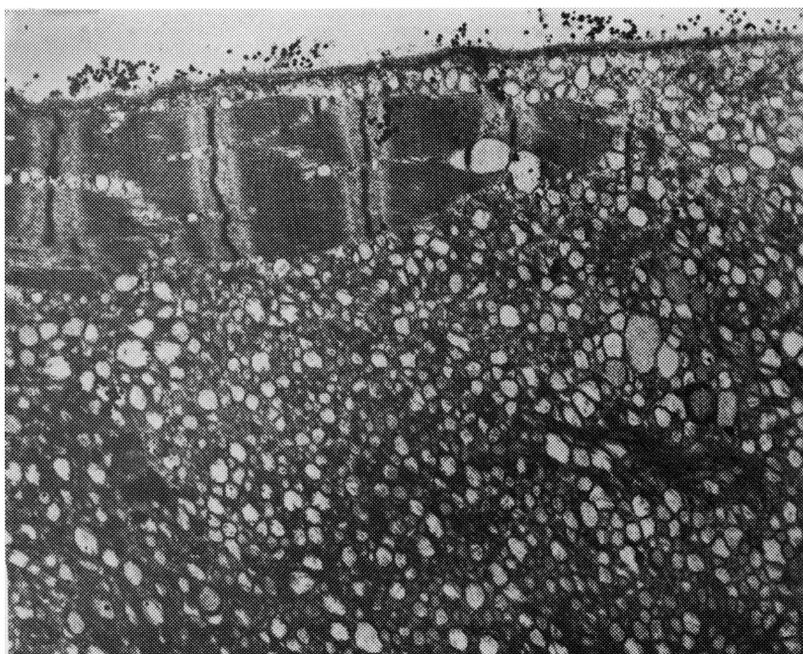


Fig. 6. Destruição de sarcômeros e substituição por inúmeras vesículas originadas de proliferação do retículo sarcoplasmático ($\times 1900$).

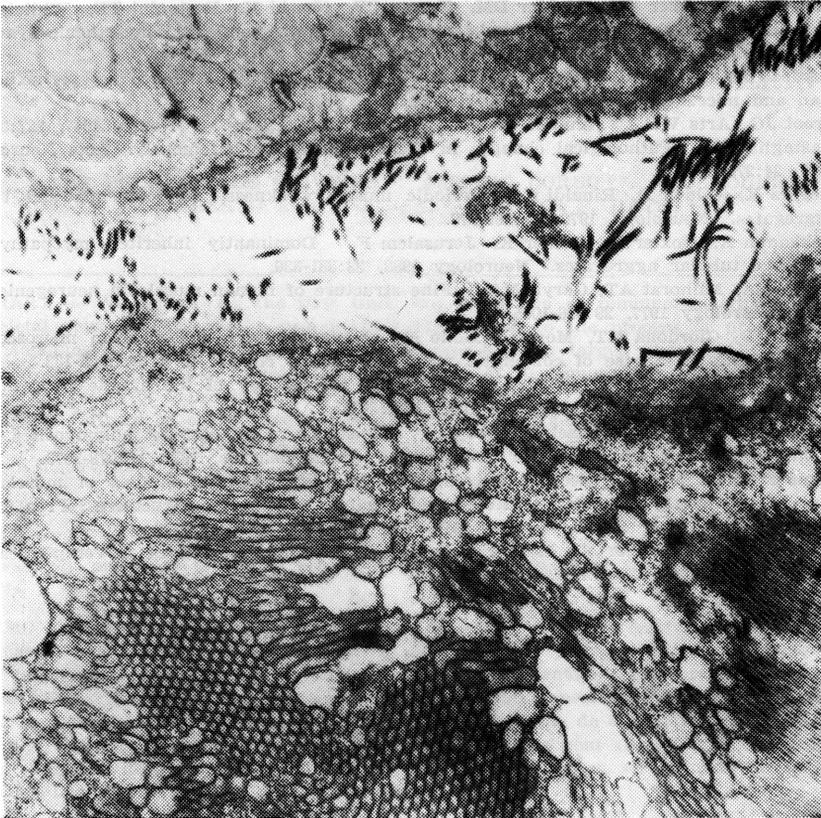


Fig. 7. Acúmulo de retículo sarcoplasmático assumindo aspecto de «favo de mel» ($\times 1900$).

prolongada dos canais iônicos dos receptores de acetilcolina, o que prolongaria a duração do potencial das placas terminais, com acúmulo de cálcio nas regiões pré-sinápticas, cálcio este que seria responsável pela perda de receptores de acetilcolina¹. Não nos parece que o caso que relatamos possa ser de miastenia grave. Além da evolução lenta e progressiva, sem flutuações, e apenas com comprometimento da musculatura ocular, temos a negatividade à pesquisa de anticorpos, anti-receptor de acetilcolina e anti-músculo e a ausência de resposta favorável aos anticolinesterásicos.

REFERÊNCIAS

1. Assis JL, Marchiori PE. Miastenia grave: fisiopatologia. In Assis JL. Miastenia grave. São Paulo: Sarvier, 1990, p 206.
2. Banker BQ. The congenital myopathies. In Engel A, Banker B. Myology. New York: McGraw-Hill 1986, p 1554-1556.
3. Bergman RB, Johns RJ. Ultrastructural alteration in muscles from patients with myasthenia gravis and Eaton-Lambert syndrome. Ann NY Acad Sci 1987, 183:88-122.
4. Bradley W. Ultrastructural changes in adynamia episodica hereditaria and normokalemic familial periodic paralysis. Brain 1969, 93:379-390.
5. Brumback RA, Staton RG, Susag ME. Exercise induced pain, stiffness and tubular aggregation in skeletal muscle. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1981, 44:250-254.
6. Duchon WH. The local effects of tetanus toxin on the electron microscopic structure of skeletal muscle fiber of the mouse. J Neurol Sci 1973, 19:169-177.

7. Engel AG, Lamber EH, Mulder DM, Torres CF, Sbashi K, Bertonini TE, Whitaker JN. Investigation of three cases of newly recognized familial congenital myasthenic syndrome. *Ann Neurol* 1971, 6:146-147.
8. Fardeau M, Tomé FM, Simon P. Muscle and nerve changes induced by perhexilene in man and mice. *Muscle Nerve* 1979, 2:24-36.
9. Groot JG, Arts WF. Familial myopathy tubular aggregates. *J Neurol* 1987, 227:35-39.
10. Mastaglia FL. Pathological changes in skeletal muscle in acromegaly. *Acta Neuropathol* 1973, 24:273-286.
11. Meyers K, Gilden D, Rinaldi C. Periodic muscle weakness, normokalemia and tubular aggregates. *Neurology* 1972, 22:269-279.
12. Rohkamm R, Boxler K, Ricker K, Jerusalem F. Dominantly inherited myopathy with excessive tubular aggregates. *Neurology* 1983, 33:331-336.
13. Shagiq SA, Milhorat AT, Garyk MA. Fine structure of human muscle in neurogenic atrophy. *Neurology* 1977, 29:996-1005.
14. Schiffer D, Giordona MT, Mons G, Mollo F. Histochemistry and electron microscopy of muscle fibers in a case of congenital paramyotonia. *J Neurol* 1976, 211:125-133.
15. Schroeder JM, Adams RD. The ultrastructural morphology of the muscle fiber in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 1968, 10:218-241.
16. Stroebner P, Sengel A, Jesel M, Isch F. Ultrastructure de certains polymyosites myastheniformes. *Proc 6th Int Congr Neuropathol. Paris: Masson, 1970, p 1078-1079.*
17. Tomé F, Maiz WGP. Electron microscopical and histochemical studies of muscle in a case of neuropathy with target fibres and laminar cytoplasmic structures. *Proc 6th Int Congr Neuropathol. Paris: Masson, 1970, 1070-1071.*
18. Werneck LC. O valor da biópsia muscular em neurologia. *Clínica e Terapêutica* 1981, número especial (março):1-24.