



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**HALLAZGOS HISTOPATOLOGÍCOS Y
ULTRAESTRUCTURALES DE LAS
DISTROFIAS MUSCULARES DE
CINTURAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA**

**PRESENTA:
MARÍA GUADALUPE PÉREZ FLORES**

**DIRECTORA DE TESIS: FRANCISCA FERNÁNDEZ
VALVERDE**



LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO, MARZO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Para mi papá, gracias por guiar mi camino. Siempre has sido mi ejemplo de fuerza, dedicación, perseverancia, voluntad y amor. Llevo en mi corazón los recuerdos y tus enseñanzas. Te amo.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, mis hermanas y especialmente a mi hermano, gracias por la increíble vida que me han dado, lo que he logrado es gracias al respaldo y amor que me dan como familia. Cada objetivo que cumpla es para ustedes porque sin su apoyo, mis sueños no serían posibles. Son mi inspiración y fortaleza. Los amo mucho.

A mi asesora, Francis por transmitirme su conocimiento y ser un gran apoyo en mi crecimiento profesional y personal. Me siento afortunada por ser una de tus alumnas y me veas crecer en todos los aspectos de mi vida. Aprecio con todo el corazón tus enseñanzas y los increíbles años de amistad.

A los doctores Edwin Steven Vargas, Juan Carlos López y los residentes de neuromuscular, por facilitarnos el biomaterial para realizar este trabajo.

A la Dra Reyna Lara Martínez y al Dr Luis Felipe Jiménez García de la Facultad de Ciencias, por la increíble asesoría en la parte de ultraestructura y el préstamo del microscopio electrónico.

A los sinodales, por enriquecer este trabajo. Gracias por transmitir su conocimiento con los alumnos y especialmente formar parte de mi educación durante la carrera.

A las doctoras Maricela y Concepción, por su bella y sincera amistad en estos años de formación, es una fortuna aprender de investigadoras como ustedes.

Al Laboratorio de Neuropatología Experimental, gracias por abrirme las puertas hace 5 años, permitirme trabajar y aprender sobre la investigación. Se convirtió en mi segundo hogar.

A mis cuatrereros y sus familias, por darme su amistad todos estos años. Gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas. Los adoro.

A Takechi, por haber sido mi guardián tantos años. Siempre recordaré tu cálida compañía. Gracias por la amistad, tu peculiar sentido del humor y tus palabras de aliento cuando más las necesité. Llevo a tu familia y a ti en mi corazón.

A mis amigos de FESI, aunque nuestros caminos hayan tomado distintos y lejanos caminos los llevo siempre en mi corazón. Gracias por su compañía dentro y fuera del aula.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Músculo Esquelético	1
1.2. Células Satélite y Regeneración	3
1.3. Organelos de la Fibra Muscular Esquelética	5
1.4. Proteínas Asociadas al Músculo Esquelético	7
1.5. Distrofias Musculares.....	11
1.6. Tipos de Distrofias Musculares	12
1.6.1. Distrofia Muscular de Duchenne	13
1.6.2. Distrofia Muscular de Becker	15
1.6.3. Distrofias Musculares de Cinturas.....	15
1.6.4. Sarcoglicanopatías	17
1.6.5. Distrofia Muscular de Emery-Dreifuss.....	17
1.6.6. Distrofia Facio-escapulo-humeral.....	18
1.6.7. Enfermedad de Steinert	18
1.6.8. Distrofia Oculofaríngea	19
2. ANTECEDENTES	20
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. HIPOTESIS.....	23
5. OBJETIVOS.....	23
5.1. Objetivo General.....	23
5.2. Objetivos Particulares	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS	24
6.1. Selección de Pacientes.....	24
6.2. Obtención de la Muestra	25
6.3. Microscopía Óptica	26
6.4. Microscopía Electrónica	27
7. RESULTADOS.....	28
7.1. Histopatología.....	28
7.1.1. Cambio en la Forma y Tamaño de la Fibra Muscular	29
7.1.2. Migración Nuclear	32
7.1.3. Aumento de Tejido Conectivo	35
7.1.4. Fibras en Regeneración.....	36
7.1.5. Necrosis, Inflamación y Vacuolas	37
7.1.6. Tejido Fibro-adiposo	46
7.2. Cortes Semifinos	49
7.3. Ultraestructura	50

7.3.1.	Sarcolema y Línea Z.....	50
7.3.2.	Mitocondrias y Vacuolas.....	53
7.3.3.	Células Satélite y Macrófagos.....	54
7.3.4.	Lisosomas y Gránulos de Lipofuscina.....	56
8.	DISCUSIÓN.....	60
8.1.	Biopsia Muscular	60
8.2.	Diagnóstico de las Distrofias Musculares.....	61
8.3.	Técnica Histológica.....	64
8.4.	Hallazgos Histopatológicos	65
8.5.	Hallazgos Ultraestructurales	71
9.	CONCLUSIONES	76
10.	REFERENCIAS	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	3
Figura 2.....	4
Figura 3.....	4
Figura 4.....	7
Figura 5.....	11
Figura 6.....	25
Figura 7.....	26
Figura 8.....	27
Figura 9.....	28
Figura 10.....	29
Figura 11.....	30
Figura 12.....	31
Figura 13.....	31
Figura 14.....	33
Figura 15.....	33
Figura 16.....	34
Figura 17.....	34
Figura 18.....	35
Figura 19.....	35
Figura 20.....	36
Figura 21.....	38
Figura 22.....	39
Figura 23.....	40
Figura 24.....	41
Figura 25.....	42
Figura 26.....	43
Figura 27.....	44
Figura 28.....	45
Figura 29.....	47
Figura 30.....	47
Figura 31.....	48
Figura 32.....	48
Figura 33.....	51
Figura 34.....	52
Figura 35.....	53
Figura 36.....	55

Figura 37.....	57
Figura 38.....	58
Figura 39.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las miopatías hereditarias.....	13
---	----

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Músculo Esquelético

Unido al esqueleto y recubriendo la mayoría de los órganos se encuentra el músculo estriado esquelético. Las fibras musculares esqueléticas se diferencian de las demás células por poseer estrías a lo largo de ellas. Su contracción es voluntaria, aunque a veces se contrae por reflejos. Tiene la capacidad de contraerse rápidamente y desarrollar fuerza, aunque necesita periodos de descanso ya que se fatiga con relativa facilidad (Saladin, 2014; Dudek, 2015).

Las células encargadas de la formación del músculo son las mesodérmicas, las cuales efectúan un proceso de transformación. El resultado de este proceso da como producto células miogénicas que entran en mitosis y activan varios factores para la maduración de las células. El siguiente estadio de estas células son llamadas mioblastos, células proliferantes que tienen la capacidad de diferenciarse en miotubos. Los miotubos son células que cumplieron su diferenciación y se caracterizan por ser multinucleadas. Sintetizan proteínas musculares como la actina, troponina, miosina, tropomiosina, entre otras, formando miofibrillas.

Por otra parte, las miofibrillas se encuentran formadas por millones de miofilamentos, los cuales se encuentran formados por las proteínas que se mencionaron anteriormente. Las dos principales y más abundantes que se encuentran formando filamentos son la actina y la miosina. Dichas proteínas se ensamblan de manera particular y de manera ordenada formando sarcómeros que serán la unidad contráctil del músculo esquelético estriado. Se le llama fibra muscular al conjunto de miofibrillas estriadas que se encuentran rodeadas por lámina basal (Franzini-Armstrong & Fischman, 1994; Frontera & Ochala, 2015).

El músculo esquelético estriado tiene diversas funciones en el cuerpo humano. El movimiento es una de las principales funciones; por lo tanto, es fundamental para moverse en el espacio, cambiar de posición o mover partes individuales del cuerpo. Esto permite la participación del individuo en actividades sociales y ocupacionales, además de mantener o

mejorar la salud contribuyendo a la independencia funcional. Otra función es mantener la postura evitando movimientos no deseados y de igual forma, ayudan a estabilizar las articulaciones ya que mantienen la tensión en tendones y huesos. Contribuye en el metabolismo y la supervivencia gracias a la capacidad que tiene de producir calor, aproximadamente el 85% del calor corporal. Además de las funciones ya mencionadas, el músculo estriado almacena, absorbe y utiliza la glucosa. Esto también es de gran importancia ya que el músculo esquelético ayuda a estabilizar la concentración de glucosa en sangre. (Heymsfield et al., 2014; Marieb, 2008; Wolfe, 2006).

Un músculo completo se encuentra conformado por un grupo de fibras musculares denominadas fascículos, éstos se encuentran rodeados por una capa de tejido conectivo llamada epimisio, esta capa es la encargada de las uniones tendinosas o las aponeurosis, dichas uniones son de gran importancia ya que unen los músculos a los huesos, cartílagos o tejido conectivo. Cada fascículo se encuentra rodeado por tejido conectivo denominado perimisio. En esta capa también podemos encontrar vasos sanguíneos grandes, husos musculares y nervios (Saladin, 2014; Marieb, 2008).

Las fibras musculares esqueléticas son cilíndricas, núcleos periféricos y multinucleadas. La célula muscular se encuentra rodeada de una capa delgada de tejido conectivo laxo llamada endomisio. Esta porción de tejido conectivo le dará a la célula un medio químico extracelular, ahí es donde se encuentran las fibras nerviosas que inervan el músculo y los capilares que nutren la célula.

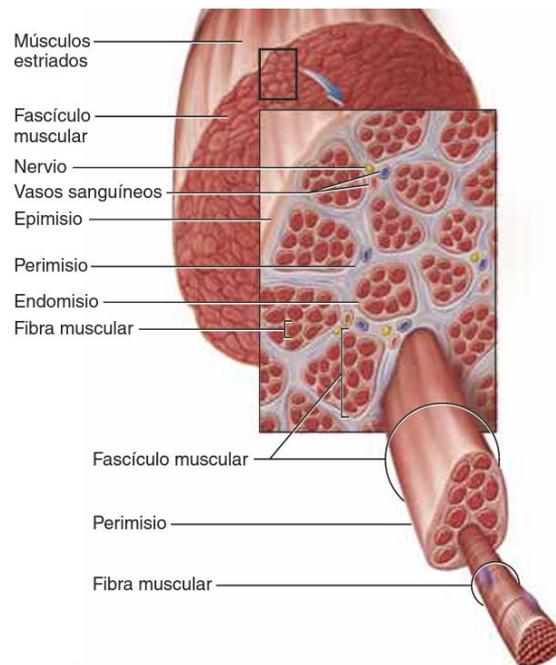


Figura 1. Morfología del músculo esquelético estriado (Saladin 2014).

1.2. Células Satélite y Regeneración

La capacidad de regeneración que posee la fibra muscular está asociada con las células satélite o mioblastos en reposo. Dichas células se encuentran a lo largo de la fibra muscular entre el sarcolema y la lámina basal. La célula satélite se caracteriza por tener un reducido citoplasma y numerosas caveolas orientadas hacia la lámina basal. El núcleo de la célula satélite se encuentra alineado con los núcleos más cercanos de la fibra muscular. Entre la fibra muscular y la célula satélite existe una íntima relación, además la lámina basal las cubre a ambas. También se consideran células madre por su capacidad progenitora y de autorrenovación (Bischoff, 1994; Zammit et al., 2006; Forcina et al., 2019).

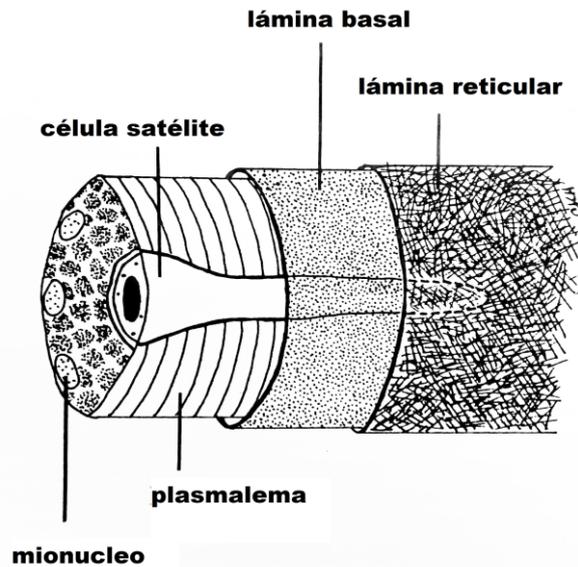


Figura 2. Ubicación de la célula satélite en la fibra muscular esquelética. Imagen modificada de Bischoff, 1994

En el músculo estriado esquelético, las células satélite se encuentran inactivas en el adulto. Cuando hay un estímulo externo como un trauma, enfermedad o una mayor utilización de los músculos, las células satélite se activan y proliferan. Dichas células pueden entrar en ciclo celular, proliferar y expresar marcadores miogénicos. Posteriormente, se fusionarán a las fibras musculares esqueléticas ya existentes o formarán nuevas miofibrillas (Keire et al, 2013).

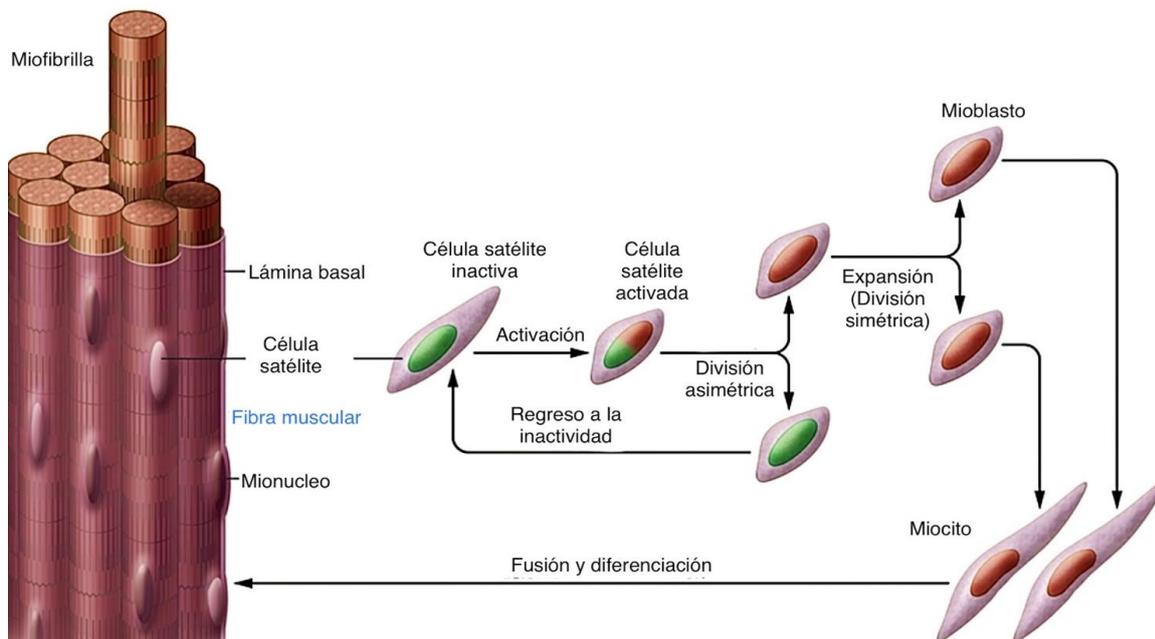


Figura 3. Diferenciación de las células satélite. Imagen modificada de Tedesco et al., 2010.

Por las características miogénicas que poseen las células satélite, la fibra muscular puede recuperarse por completo del daño. No es sólo la peculiar capacidad que tiene para recuperarse del daño, si no para operar cambios adaptativos durante el desarrollo posnatal y aún en la edad adulta. Como se mencionó anteriormente, estas células responden a estímulos tanto autónomos como externos que intervienen en la decisión del destino final de las células (Valentine, 2017).

1.3. Organelos de la Fibra Muscular Esquelética

Cómo se mencionó, los núcleos se encuentran en la periferia de la fibra muscular cilíndrica y dirigen los procesos fisiológicos de los componentes celulares en cierta área a través de los llamados dominios nucleares. Esta estructura anatómica permite que los fragmentos de células reaccionen independientemente de otras partes de la célula. Se considera que el mionúcleo de una fibra muscular madura, está diferenciado terminalmente, con poca o ninguna capacidad mitótica.

A la membrana de la fibra muscular se le denomina sarcolema, es una bicapa lipídica con proteínas integrales y cumple con las mismas funciones de otra membrana citoplasmática. Algunas proteínas que se encuentran en la membrana están asociadas al aparato contráctil, le dan estabilidad y al correcto funcionamiento de la fibra muscular. Un grupo importante es el complejo de proteínas asociadas a la distrofina, se compone de proteínas periféricas, transmembranales y citoplásmicas; estas a su vez se clasifican en distroglicanos, sarcoglicanos, sarcospan, distrobrevinas y las sintrofinas. De forma general, este conjunto de proteínas comunica la matriz extracelular con el citoesqueleto de actina y miosina los cuales son responsables de la contracción muscular (Ehmsen et al., 2002).

En el sarcoplasma de la fibra muscular esquelética se encuentran varios organelos, estos tienen funciones específicas que, en conjunto, trabajarán con la fibra para realizar las funciones mencionadas anteriormente. La red mitocondrial, los túbulos T y el retículo sarcoplasmático son los principales organelos asociados con la funcionalidad de la célula muscular.

Los túbulos T y el retículo sarcoplasmático formarán una estructura conocida como la triada, que estará conformada por un túbulo t y dos cisternas terminales del retículo sarcoplasmático (una en cada lado del túbulo). La triada es el componente estructural del músculo relacionado con el almacenamiento y liberación de calcio y con el acoplamiento excitación-contracción. La predominancia de algún organelo dependerá del tipo de fibra muscular (Frontera y Ochala, 2014).

Los túbulos T son invaginaciones del sarcolema, forman un sistema de tubos que rodean transversalmente la fibra muscular, tiene aspecto de malla densa. Tienen la capacidad de mantener su integridad en todo momento, incluyendo el momento del acople excitación-contracción, esto para mantener la función muscular y no comprometerla. Este organelo comunica el medio extracelular con el intracelular, se encarga de transmitir el potencial de acción que viaja desde el nervio hasta el centro de la célula de manera uniforme (Jayasinghe & Launikonis, 2013).

El retículo sarcoplasmático en la fibra muscular cumple con la función de regular, almacenar, liberar y recapturar el Ca^{2+} . Su organización y función son fundamentales para el rendimiento y función del músculo esquelético, además de garantizar el acople excitación-contracción. Es una modificación del retículo endoplásmico liso; se encuentra entre la unión de las zonas A e I. Una parte importante de este organelo son las cisternas terminales ya que es donde se libera el Ca^{2+} y se encuentran en contacto con los tubos T.

La bomba SERCA y la calsecuestrina ayudarán a mantener la homeostasis, ya que recaptura y estabiliza el calcio, respectivamente, manteniéndolo dentro de las cisternas terminales del retículo sarcoplasmático (Sepúlveda-Saavedra, 2012; Lambole et al., 2014).

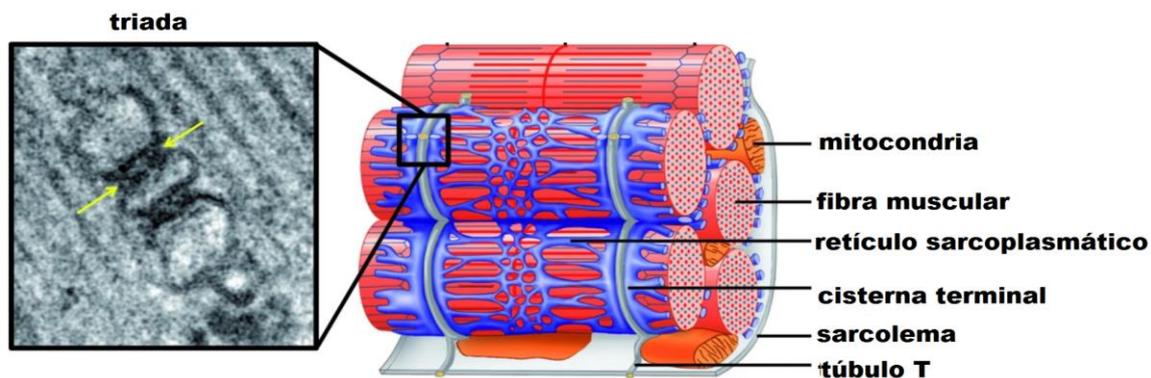


Figura 4. Organización de los organelos en la fibra muscular esquelética (Al-Qusairi & Laporte, 2011).

1.4. Proteínas Asociadas al Músculo Esquelético

Las actinas son proteínas altamente conservadas evolutivamente involucradas en varios tipos de actividades celulares. Se trata de una familia de proteínas globulares multifuncionales que pueden polimerizarse en filamentos e interactuar con varias proteínas de unión a actina, incluyendo al menos seis isoformas humanas. La actina alfa se puede localizar en el tejido muscular y es un componente fundamental del aparato contráctil. La actina forma filamentos, fundamentales para las múltiples funciones que realiza dicha proteína. Los filamentos de actina desempeñan un papel importante en muchas funciones celulares, incluida la contracción muscular, la señalización celular, además de la integridad y el movimiento celular (NCBI, 2021; Varland et al., 2019).

La miosina en el músculo es una proteína hexámerica formada por dos subunidades de cadena pesada, dos subunidades de cadena ligera alcalina y dos subunidades reguladoras de cadena ligera. Se ha demostrado que las fibras de tipo I contienen solo miosina lenta, las fibras de tipo IIA y IIB contienen solo miosina rápida y las fibras de tipo IIC contienen miosina en proporciones variables (NCBI, 2021; Billeter et al., 1980).

La actina y miosina son fundamentales para realizar el acople excitación-contracción. Además de las proteínas contráctiles, actina y miosina, se ha reportado que el músculo esquelético contiene proteínas que no participan directamente en el fenómeno

contráctil, pero juegan un papel importante como reguladoras de la contracción o manteniendo la integridad estructural de la fibra muscular.

La disferlina es una proteína asociada al sarcolema del músculo esquelético. Se encuentra relacionada al acople excitación-contracción y a la dinámica del calcio en la membrana de la célula muscular respondiendo a los cambios de concentración del Ca^{2+} intracelular causado por el estrés y el daño de la membrana del túbulo t. También se le relaciona con la regeneración y reparación de membranas. Como ya se mencionó, se encuentra en la membrana del túbulo T, cerca de las uniones que conforman la triada del músculo. La ubicación pareciera estratégica, ya que es dónde la homeostasis del Ca^{2+} se encuentra regulada de manera estricta para interceder en las cascadas de señalización que conservan las funciones normales del músculo (Kerr et al., 2014; NCBI, 2021).

La distrofina es una proteína subsarcolémica de 427 kDa, posee cuatro dominios: un dominio aminoterminal que favorece la unión con F-actina; un dominio central y dos dominios que son responsables de la unión al sarcolema; uno rico en cisteína y uno carboxiterminal. Tiene forma de varilla que trabaja en conjunto con el Complejo de Glicoproteína Asociada a Distrofina (Dystrophin-Associated Glycoprotein Complex, DGC) (Navarro-Fernández, 1999). Forma parte de un complejo de glicoproteínas que se encuentra unido a la membrana, a este se le denomina Complejo Proteínico Asociado a Distrofina (Dystrophin-Associated Proteins complex, DAP). La interacción que existe entre dicho complejo con la matriz extracelular y el citoesqueleto forma un importante vínculo físico entre estas estructuras. La distrofina formando parte del DAP, realiza diferentes funciones como proteger al sarcolema contra el daño mecánico que puede ocurrir durante la contracción o estiramiento del músculo. De igual manera, participa en la transducción de señales desde la matriz extracelular hacia el citoesqueleto de actina, además de agrupar canales de calcio y participar en el mantenimiento de la homeostasis intracelular de este ion (León-Moreno, 2017; Ervasti et al., 1990).

Los sarcoglicanos en el músculo esquelético funcionan como proteínas transmembranales formando un complejo proteínico conformado por diferentes tipos de

sarcoglicanos. Existen seis secuencias de sarcoglicanos, los cuales son: α , β , γ , δ , ϵ y ζ . La función del complejo de sarcoglicano es mantener estable al Complejo de Glicoproteína asociada a Distrofina y fortalecer el enlace entre la distrofina y el distroglicano en la membrana plasmática. Este complejo se forma en el retículo sarcoplasmático cuando termina la co-traducción de las subunidades de sarcoglicano. Para que exista un flujo correcto del complejo de sarcoglicanos entre el Retículo Endoplasmático a la membrana plasmática, los cuatro sarcoglicanos deben expresarse al mismo tiempo. Se ha observado en múltiples estudios genéticos que las mutaciones en α -sarcoglicano, β -sarcoglicano, γ -sarcoglicano y δ -sarcoglicano son responsables de las distrofias musculares humanas (Berger & Tarakci, 2016; McNally, 2013).

La calpaína es una proteasa no lisosomal que regula las funciones de algunas proteínas, facilita la transducción de señales de calcio y mantiene algunas funciones en las células, además, necesita de Ca^{2+} para su correcto funcionamiento. Existen 16 tipos de calpaínas y se dividen en calpaínas clásicas y calpaínas no clásicas.

La CAPN3 es una proteína que se encuentra dentro de las calpaínas clásicas, es la única en músculo por los altos niveles de expresión del ARNm. Contiene cuatro dominios (I-IV) y se expresa en miofibrillas, citoplasma y en la tríada del músculo esquelético. Dentro de las funciones de la calpaína podemos destacar el mantenimiento de la integridad de la tríada que, a su vez, promoverá la liberación de calcio dentro de las fibras musculares. Es necesaria y fundamental para la formación muscular y un requisito previo para mantener la función muscular normal. Funciona como regulador del citoesqueleto muscular. Una presencia baja de calpaína disminuye la cantidad de células musculares y el tamaño de los miotubos. Por último, es necesaria durante la remodelación del sarcómero ya que influye en el proceso de regeneración muscular (Chen et. al., 2021).

La caveolina es codificada por el gen CAV3 y se encuentra en la membrana plasmática de las células, dicha proteína funciona para ordenar y concentrar moléculas específicas que hacen interacción con la caveolina, una de ellas es la disferlina que se encuentra en la fibra muscular. El problema más común de la mutación en el gen es la falla

en la formación de caveolas indispensables para el transporte de sustancias dentro de la célula (NCBI, 2022)

La emerina es una proteína transmembrana rica en serina, que forma parte de las proteínas de la membrana interna de la envoltura nuclear. Esta proteína realiza diferentes funciones como: ensamblaje del núcleo, mantenimiento de la estabilidad de la envoltura nuclear, regulación de la expresión de ciertos genes, interviene en el anclaje de la membrana al citoesqueleto. Además, hay estudios que demuestran su expresión en estadios tempranos de la diferenciación de células musculares (NCBI, 2021; Zubiri et al., 2015).

Existen distintos tipos de fibras musculares que difieren en características metabólicas y contráctiles. Una clasificación general es separar las fibras como: Tipo I (fibras de contracción lenta) y Tipo II (fibras de contracción rápida). La prevalencia de algún tipo de fibra muscular en los diferentes músculos, además de la capacidad contráctil, dependerá de su función, si está en relación con el mantenimiento de la postura (contracción lenta y no vigorosa) o si las contracciones son rápidas y vigorosas (asociadas con la flexión de las articulaciones) (De Freitas et al., 2009).

El estado dinámico y funcional del músculo esquelético dependerá del equilibrio que exista entre la síntesis y degradación de proteínas, y puede verse influenciado por factores externos como la nutrición, las enfermedades, actividad física, el equilibrio hormonal, etcétera.

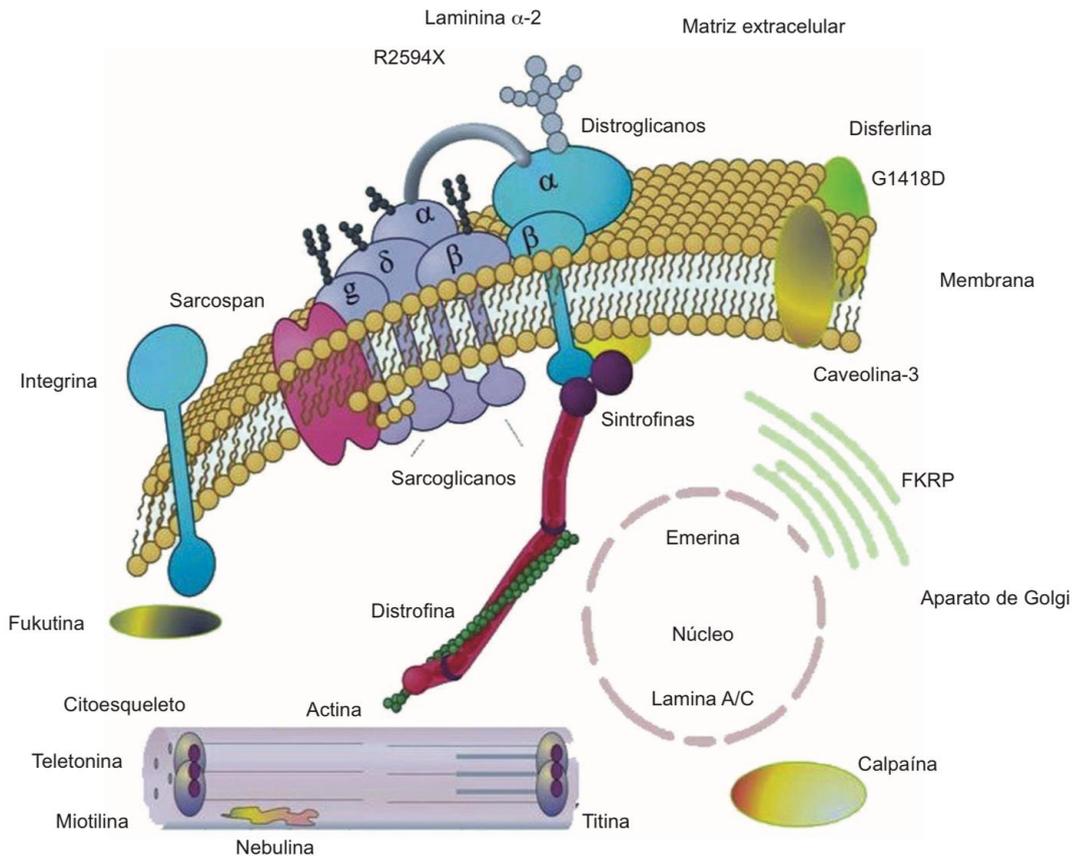


Figura 5. Síntesis de proteínas asociadas con las distrofias musculares (Coral-Vázquez et al., 2010).

1.5. Distrofias Musculares

Dentro del grupo de las enfermedades genéticas se encuentran las distrofias musculares. Estas enfermedades son provocadas por defectos en los genes que codifican proteínas importantes para el funcionamiento e integridad del músculo esquelético. Las consecuencias de estos defectos genéticos ocasionan deficiencia o ausencia de proteínas fundamentales para las células musculares esqueléticas. La deficiencia de estas moléculas causa desperfectos que pueden alterar las funciones del músculo como la postura y la locomoción.

La distrofia muscular incluye a un conjunto de enfermedades que se caracterizan por causar debilidad progresiva a los músculos esqueléticos, principalmente a los músculos proximales. (Gómez-Díaz et al., 2012).

Las afectaciones en las miofibrillas y en el citoesqueleto de la célula muscular dependerá del tipo de patología. Por ejemplo, las mutaciones genéticas en el complejo distrofina-glicoproteína se caracterizan por una reducción en la velocidad de deslizamiento de los miofilamentos de actina sobre la miosina. La alteración en los miofilamentos provoca una deficiencia en la fuerza y en la calidad de las fibras musculares de tipo I y II. Como consecuencia, hay un deterioro de la capacidad funcional del músculo esquelético (Frontera y Ochala, 2014).

Entre las alteraciones histopatológicas provocadas por las afectaciones antes señaladas, se pueden observar fibras con diferencia de tamaño (atrofia e hipertrofia), núcleos centrales y un aumento de tejido conectivo intersticial. El daño en la fibra muscular es debido a una combinación de necrosis y regeneración. Cuando la enfermedad comienza a progresar, se observa la sustitución de las fibras musculares por tejido fibro-adiposo. La severidad con la que se presente la enfermedad, la edad de comienzo, la evolución y las complicaciones dependerán del gen mutado o el tipo de mutación (Earle y Bevilacqua, 2018).

1.6. Tipos de Distrofias Musculares

Se han descrito diferentes tipos de distrofias musculares: Duchenne-Becker, miopatías distales, distrofia de cinturas, distrofia oculofaríngea, enfermedad de Steinert, facioescapulohumeral, Emery-Dreifuss, entre otras. Hay diversas formas para clasificar a las distrofias musculares. Una de las técnicas más actuales para clasificar estas enfermedades es considerando la proteína asociada o el modo de transmisión genética. Este último puede ser gen autosómico recesivo, dominante o ligado al gen X (Gómez-Díaz et al., 2012).

Tabla 1. Clasificación de las miopatías hereditarias

Distrofinopatías	Enfermedad de Duchenne Enfermedad de Becker
Distrofia de cinturas	Autosómicas dominantes LGMD1A. Miotilino patía proximal LGMD1B. Laminopatía LGMD1C. Caveolinopatía LGMD1D. Desminopatía proximal AD LGMD1E. DNAJB6 LGMD1F. Transportina 3 LGMD1G. HNRPDL LGMD1H
	Autosómicas recesivas LGMD2A. Calpainopatía LGMD2B. Disferlinopatía LGMD2C. γ -sarcoglicanopatía LGMD2D. α -sarcoglicanopatía LGMD2E. β -sarcoglicanopatía LGMD2F. δ -sarcoglicanopatía LGMD2G. Titin-cap o telethoninopatía LGMD2H. TRIM32 LGMD2I. FKRP LGMD2J. Titinopatía proximal LGMD2K. POMT1 LGMD2L. Anoctaminopatía proximal LGMD2M. Fukutina LGMD2N. POMT2 LGMD2O. POMGnT1 LGMD2P. Distroglicano 1 LGMD2Q. Plectina LGMD2R. Desminopatía proximal AR LGMD2S. TRAPPC11 LGMD2T. GDP-manosa fosforilasa B LGMD2U. Isoprenoide sintasa LGMD2V. α -glucosidasa ácida. Pompe del adulto tardío LGMD2W. LIMS2/PINCH2
Distrofia facio-escápulo-humeral	FSH tipo I FSH tipo II
Valosinopatía	
Distrofia óculo-faríngea	
Distrofia de Emery-Dreifuss	XL-EDMD o EDMD1 AD-EDMD o EDMD2

1.6.1. Distrofia Muscular de Duchenne

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) es una enfermedad que se encuentra ligada al cromosoma X existiendo una mutación en el gen de la distrofina. Esta enfermedad afecta a hombres, las mujeres son portadoras asintomáticas. La consecuencia de esa mutación es la ausencia de la proteína distrofina citoesquelética o ausencia de esta., tanto en las fibras musculares esqueléticas como en las fibras musculares cardíacas provocando una

degeneración muscular progresiva. Como la afectación es en ambos tipos de fibra y es agresiva se le considera la distrofinopatía más grave y las más frecuente.

Es una de las distrofias más comunes y generalmente hay manifestaciones clínicas alrededor de los 5 años de edad cuando se observa la pérdida de la marcha, entre los 9 y 13 años el paciente se vuelve dependiente de silla de ruedas ya que pierde la capacidad de marcha independiente. Sin intervención médica el paciente muere cerca de los 20 años de edad. Si existe la posibilidad que el paciente sea tratado terapéuticamente. puede llegar a vivir hasta los 30 años de edad (San Martín P. et al., 2018; Guerra-Torres et al., 2019).

Los síntomas aparecen a una edad temprana, puede existir retraso en el desarrollo motor y de lenguaje, normalmente no corren y no saltan. La debilidad en los músculos proximales de la cintura pélvica comienza entre los 3 y 6 años de edad. La debilidad de músculos como los cuádriceps, deltoides, bíceps, tríceps, musculatura abdominal, axial y respiratoria es progresiva.

Las contracturas se hacen más frecuentes conforme avanza la enfermedad y aparecen en las extremidades inferiores en equino de ambos pies, en flexión de las rodillas, abductores y extensores de las caderas, mientras en las extremidades superiores las contracturas son en flexión de codos, pronación de antebrazos y flexión de dedos.

Las afectaciones en el músculo cardíaco aparecen en la adolescencia provocando una disfunción cardíaca. De igual manera, se desarrollan miocardiopatías dilatadas y estas van asociadas a arritmias provocando la reducción de la expectativa de vida de las personas que padecen esta enfermedad.

La disfunción cognitiva no siempre se presenta, pero puede ser leve o grave asociado a rasgos autistas, estas alteraciones no son progresivas (Mercuri et al., 2019; Perera-Canul et al., 2019).

1.6.2. Distrofia Muscular de Becker

Al igual que la DMD, la distrofia muscular de Becker (DMB) está relacionada con una mutación en el cromosoma x en el exón 5. Dicha mutación provoca un déficit en la proteína distrofina de las fibras musculares esqueléticas (Sánchez et al., 2019).

Afecta a varones desde la infancia (5 años) hasta la edad adulta (30 años o más). La intensidad de la debilidad que presentan los pacientes tiene una gran variación. En general, la BMD se desarrolla más lentamente que la DMD y, en promedio, el inicio de la enfermedad se asocia con una progresión más lenta de la debilidad muscular.

El síntoma más frecuente es la hipertrofia de gemelos. Las personas con DMB pueden presentar debilidad muscular leve de las extremidades o en casos más graves, los pacientes presentan tetraparesia donde es necesario el uso de silla de ruedas eléctrica para moverse.

En la mayoría de los pacientes con DMB la disfunción respiratoria es más leve que en la DMD aunque no se descarta el uso de ventilación no invasiva nocturna. Se ha observado que la afectación cardíaca no se correlaciona necesariamente con la enfermedad del músculo esquelético, aun así, los pacientes pueden presentar una miocardiopatía dilatada con aumento del riesgo de arritmias auriculares o ventriculares. Son comunes los problemas de aprendizaje en personas con DMB. (Díaz-Manera, 2017; Wicklund, 2013).

1.6.3. Distrofias Musculares de Cinturas

Abarcan un variado número de mutaciones genéticas lo que amplía su diversidad, haciéndolas un grupo heterogéneo de miopatías. La edad de aparición de los síntomas dependerá del tipo de distrofia. Algunas se manifiestan desde la infancia o pueden aparecer en la edad adulta tardía. Al igual que la edad de aparición, la gravedad clínica varía dependiendo de la alteración. Por lo tanto, algunas son relativamente leves y lentas, mientras que otras causan debilidad muscular severa a una edad temprana.

Al ser un grupo amplio de enfermedades se clasifican en 2 grandes grupos, esto dependerá del patrón de herencia: autosómica dominante (LGMD1) o autosómico recesivo

(LGMD2). Adjunto a este número hay una letra que indica el orden en que se encontró cada locus cromosómico. La distrofia de cinturas autosómicas dominantes es menos común y generalmente menos grave que la forma recesiva, y representa alrededor del 10 % de todos los casos de distrofias de cinturas.

De manera general, las distrofias musculares de cinturas muestran un patrón de debilidad de la cintura escapular que afecta los músculos proximales de los brazos y las piernas, pero puede existir debilidad en otro tipo de músculos. Algunas de las características clínicas son: desarrollo temprano del pie caído, asimetría en la debilidad muscular, contracturas de las extremidades, calambres musculares prominentes, alas escapulares, hipertrofia de la pantorrilla, miocardiopatía o anomalías del sistema de conducción cardíaca (Narayanaswami et al., 2014; Poza Aldea et al., 2017; Reyes et al., 2020).

Un ejemplo de las DMC autosómicas dominantes es la caveolinopatía, enfermedad asociada a la mutación del gen *CAV3* que codifica caveolina-3. Se ha observado que la mutación interviene en la síntesis de caveolina-3 en el sarcolema de la fibra. De igual forma, dicha mutación provoca la acumulación de residuos dentro de los organelos de la célula comprometiendo el funcionamiento de esta. La enfermedad comienza habitualmente hacia los 5 años siendo evidente la debilidad muscular y la distrofia muscular que va de leve a moderada. Los pacientes presentan signo de Gowers, calambres al momento del ejercicio e hipertrofia en pantorrillas (Liewluck & Milone, 2018; Fulizio et al., 2004).

Las calpainopatías son un ejemplo de DMC autosómicas recesivas. El responsable de esta distrofia es el gen que codifica para calpaína-3. Esta enzima se encuentra asociada al sarcoplasma de la fibra. La edad de comienzo es entre los 8 y los 12 años, pero se han registrado casos entre los 2 y los 65 años. La debilidad en glúteo mayor, en abductores del muslo y la aparición de una escápula alada son de los primeros signos. La atrofia muscular es característica en la calpainopatía, sin embargo, hay personas que presentan hipertrofia de pantorrillas al comienzo de la enfermedad. También se padecen contracturas en extremidades inferiores. La musculatura facial y la del cuello no se ven comprometidas,

además, no hay afectación respiratoria y los pacientes no presentan cardiopatías. La capacidad para caminar se pierde a los 10 a 20 años después del inicio de la enfermedad, aunque algunos pacientes aún pueden caminar a los 50 o 60 años (Dubowitz, 2007; Quilacio et al., 2022).

1.6.4. Sarcoglicanopatías

Existen 4 tipos de sarcoglicanopatías y se definen dependiendo del sarcoglicano afectado (alfa, beta, gamma y delta). Los signos clínicos, la gravedad y el inicio de la enfermedad dependerá del tipo de mutación que presente el paciente.

En general, el inicio es entre los 6 y 8 años en la mayoría de los pacientes con este tipo de distrofia. Los músculos que se observan gravemente afectados tempranamente son aductores, posteriores del muslo y los glúteos. Además, presentan escápula alada, hiperlordosis lumbar e hipertrofia en las pantorrillas. La debilidad muscular es parecida a la que se observa en las distrofias Duchenne-Becker. En los casos más graves, se pierde la deambulación en la adolescencia mientras que, en los casos más leves, los pacientes pueden llegar a la edad adulta y seguir caminando. Los pacientes pueden presentar eventos cardiorrespiratorios. En las sarcoglicanopatías no se ha encontrado discapacidad intelectual o conductual (Rojas-Marcos, 2019; Vainzof et al., 2021).

1.6.5. Distrofia Muscular de Emery-Dreifuss

Esta distrofia muscular presenta dos tipos y se encuentran asociadas al cromosoma x, la distrofia muscular de Emery-Dreifuss asociada a emerina (tipo I) con mutación en el gen que codifica emerina por herencia recesiva. Y la distrofia muscular Emery-Dreifuss asociada a lamina A/C (tipo II), que como su nombre lo indica, hay una deficiencia en la codificación de dicha proteína por herencia autosómica dominante (Madej-Pilarczyk, 2018).

La edad en donde inician los síntomas es entre los 5 y 10 años. Se menciona comúnmente una tríada de síntomas característicos de esta distrofia: contracciones, debilidad muscular y daño cardíaco.

Al llegar a la primera década de vida, los pacientes presentan dificultad para caminar o correr además de presentar contracturas frecuentes en la extensión del cuello, la flexión del codo y la tensión del tendón del talón que se hacen más evidentes hasta la adolescencia. De igual forma, el daño cardíaco es más notorio en la adolescencia y los músculos faciales no tienen afectaciones. La atrofia y la debilidad empeoran cuando las personas llegan a la edad adulta al igual que el daño cardíaco (Heller et al., 2019).

1.6.6. Distrofia Facio-escapulo-humeral

Para este tipo de distrofia, el daño genético es la delección de copias de un fragmento en la región subtelomérica del cromosoma 4q (Dubowitz, 2007). Tiene una variabilidad amplia con respecto a la edad de comienzo como en los síntomas clínicos. De manera general, es una distrofia progresiva, se caracteriza por la debilidad en los músculos de la cara, escapulares, miembros proximales y músculos peroneos.

Cómo características clínicas podemos mencionar la escápula alada y asimétrica acompañada de atrofia proximal de deltoides. También se observa debilidad orbicular de párpados o una sonrisa invertida. En muy pocos pacientes existe daño en los músculos respiratorios. No se observan muchas complicaciones conforme avanza la enfermedad, la mayoría de los pacientes adultos conservan la capacidad de caminar (Mercuri et al., 2019; Camaño González et al., 2017).

1.6.7. Enfermedad de Steinert

También conocida como distrofia miotónica tipo 1 es la enfermedad más común en adultos mayores que afecta a múltiples órganos llegando a provocar una falla multisistémica. En esta enfermedad la alteración es en el cromosoma 19 provocando una enfermedad autosómica dominante.

Esta distrofia se caracteriza por la debilidad en miembros distales, músculos del cuello y de la cara. Además, es muy notoria la miotomía (dificultad en la relajación muscular tras una contracción voluntaria), fatiga constante, hipersomnias diurnas, déficit de atención y

retraso mental. Los daños en el corazón pueden ser leves o causar la muerte del paciente. A nivel ocular pueden existir alteraciones en la presión ocular, alteraciones pigmentarias del fondo de ojo y membranas epirretinianas (Juvier-Riesgo et al., 2021; Pedrosa et al., 2021; Gutiérrez et al., 2020).

1.6.8. Distrofia Oculofaríngea

Este tipo de distrofia aparece en adultos, entre la quinta y sexta década de vida de los pacientes. El tipo de herencia puede ser autosómica o recesiva. La mutación se da en el gen PABPN1 en el cromosoma 11. Se describe como una miopatía de inicio tardío, lentamente progresiva y la severidad es variable (Brais, 2011).

Una característica de esta miopatía es la ptosis (ambos párpados caídos), está acompañado de cejas levantadas y frente arrugada. Otros síntomas son: debilidad en músculo proximales y disfagia. En algunos casos la ptosis es el primer síntoma, en otros es la disfagia. Los niveles de CPK varían dependiendo de la severidad. En pacientes con enfermedad leve, la cpk estará ligeramente elevada, en casos severos habrá un aumento significativo de estos niveles. En el caso de la electromiografía, los músculos faciales y proximales muestran un patrón miopático (Yamashita, 2021).

Como ya se describió anteriormente, las manifestaciones de estas enfermedades se pueden presentar en diferentes etapas de la vida. Durante los primeros días de vida se puede observar: hipotonía generalizada, escasez de movimientos antigravedad, talipes, contracturas ocasionales de cadera y rodilla. Los infantes con distrofia muscular raramente tienen la capacidad de pararse o caminar. A través de los años se presentan otros síntomas: debilidad en los músculos proximales y contracturas progresivas. (Bönnemann et al., 2014).

2. ANTECEDENTES

Los primeros casos de distrofia muscular se empezaron a detectar años antes de que se identificaran las etiologías genéticas. Los investigadores observaron contracturas y debilidad muscular en cuello, brazos, piernas, cintura pélvica, etc. Fue hasta después de 1900 que los investigadores estudiaron las distrofias musculares a nivel molecular.

En el estudio de Becker y Kiener en 1955 se describió una nueva distrofia muscular desconocida y diferente a las ya descritas. Se nombró distrofia muscular de Becker, la cual era una patología ligada al cromosoma X. Para esta descripción se estudió a 14 enfermos preadolescentes observando debilidad progresiva en los músculos distales, faciales y en cintura.

En 1966 Emery y Dreifuss describieron una distrofia muscular ligada al cromosoma x. En las evaluaciones clínicas se notaba un aumento progresivo de la debilidad muscular iniciando a los 4 o 5 años de edad. Los músculos más afectados eran los de la cintura pélvica, cintura pectoral, también se detectaron contracturas en flexión de los codos y acortamiento del tendón aquileo. En 1979, esta enfermedad se conoció oficialmente como distrofia muscular de Emery-Dreifuss.

Al paso de los años se adecuaron técnicas para hacer un diagnóstico clínico más preciso como la electromiografía, resonancia magnética muscular y el análisis de los niveles de creatina-fosfocinasa. Además de los estudios de gabinete, la biopsia muscular es necesaria para confirmar el diagnóstico de cualquier tipo de distrofia muscular, algunos autores mencionan en sus trabajos la importancia de este procedimiento.

Rojas y Marcos en el 2019 comentan que, de un inicio con la historia clínica del paciente, seguido de los demás estudios de gabinete, se van acumulando datos para ofrecer un diagnóstico preciso. Cuando se realiza la biopsia muscular se puede confirmar la sospecha diagnóstica que se obtuvo de los demás estudios. Los hallazgos histopatológicos son variados, pero comúnmente se observa necrosis, regeneración y tejido fibro-adiposo en

las muestras. Los resultados son una herramienta para definir a qué grupo de distrofia muscular pertenece. También son útiles para la clasificación de estas patologías.

Nascimento y colaboradores en el 2019, mencionan que la distrofia muscular de Duchenne-Becker se considera de las más frecuentes. A los pacientes con sospecha, que no presentan antecedentes familiares y con niveles de creatina quinasa de 10 a 100 veces arriba de lo normal se les realiza la biopsia muscular. En algunas ocasiones se lleva a cabo para confirmar los estudios genéticos observando desestructuración de la arquitectura fascicular del músculo entre otras anomalías histológicas.

Heller et. al en el 2019 explicó que la biopsia muscular se utilizó para la evaluación clínica de pacientes con afectación en el músculo esquelético y con sospechas de Emery-Dreifuss. Aunque menciona que la biopsia muscular tiene limitaciones con respecto al diagnóstico de este tipo de distrofia muscular. De igual forma, Statland y Tawil en el 2014 realizaron biopsias musculares en pacientes con distrofia facioescapulohumeral para observar los cambios miopáticos específicos en las fibras musculares.

El microscopio electrónico se ha utilizado para observar las alteraciones ultraestructurales en las diferentes variedades de distrofia muscular. En 1972 Jiménez Cardoso, et al. mencionan que se pueden observar cambios ultraestructurales en las células musculares cuando la enfermedad no ha progresado. En la microscopía de luz no se observan alteraciones mientras que en la microscopía electrónica se pueden observar alteraciones ultraestructurales como lesiones tempranas y de poca severidad. Cuando la enfermedad avanza, las lesiones encontradas mediante la microscopía electrónica se encuentran correlacionadas con las manifestaciones clínicas.

3. JUSTIFICACIÓN

Los hallazgos histopatológicos han sido fundamentales para la comprensión de las distrofias musculares. Además de ser un procedimiento que asegura el diagnóstico de la enfermedad, la observación histológica ayuda a la identificación, descripción y clasificación de las distrofias musculares. La microscopía electrónica ayuda a identificar tempranamente los cambios ultraestructurales de las células musculares provocados por la distrofia muscular. También evidencia los cambios provocados por la muerte celular y mutaciones mitocondriales de las células musculares.

Como se mencionó, la actividad en la vida de las personas que padecen algún tipo de distrofia muscular se ve limitada y en algunas ocasiones mueren a edades tempranas. Es muy importante que las distrofias musculares sean diagnosticadas correctamente para un abordaje terapéutico adecuado. Hay ocasiones en las que los pacientes han sido tratados por períodos prolongados con un diagnóstico erróneo y expuestos a tratamientos potencialmente nocivos. Un diagnóstico equivocado provoca que la enfermedad siga progresando y en general, afecta la salud de las personas. En la actualidad, el entendimiento de la patogenia de las distrofias musculares está siendo utilizado para el desarrollo de nuevas terapias médicas.

4. HIPOTESIS

Las biopsias musculares con sospecha diagnóstica de distrofia muscular de cinturas mostrarán alteraciones histológicas y ultraestructurales en la fibra muscular esquelética.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

- Evaluar los hallazgos histopatológicos y ultraestructurales en el músculo deltoides de pacientes del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía con sospecha diagnóstica de distrofia muscular de cinturas en el período 2008-2022.

5.2. Objetivos Particulares

- Identificar las alteraciones histológicas más comunes en músculo esquelético de pacientes con sospecha de distrofia muscular.
- Identificar hallazgos ultraestructurales en músculo esquelético de los pacientes.
- Obtener un banco de muestras de pacientes con sospecha diagnóstica de distrofia muscular.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Selección de Pacientes

Se eligieron pacientes que presentaban sospecha clínica de algún tipo de distrofia muscular. Para esto, los médicos especialistas tomaron en cuenta las siguientes características clínicas.

1. **Exploración física.** El paciente puede presentar diversos síntomas, dependerá del tipo de distrofia muscular que se padezca.
 - Debilidad en los músculos proximales, distales, axial y/o craneal. Que se puede manifestar en:
 - Dificultad para levantar brazos, abrir envases, ponerse y/o mantenerse de pie (signo de Gowers), subir escaleras.
 - Dificultad para respirar.
 - Caminata de puntillas.
 - Atrofia o hipertrofia muscular. A veces el aumento de volumen se debe a la sustitución de músculo esquelético por tejido fibro-adiposo.
 - Calambres y contracturas. Se pueden presentar cuando se realiza ejercicio o cuando se está en reposo.
 - Problemas cardiacos. Las alteraciones son diversas y dependen del tipo de distrofia muscular que se padezca.
 - Problemas para deglutir.
 - Escoliosis.
 - Cataratas.
 - Problemas cognitivos
2. **Niveles de creatinquinasa (CPK).** En la mayoría de las distrofias musculares se presentan niveles elevados, aunque también se puede mantener normal en algunas otras.
3. **Electromiograma (EMG).** El resultado de este estudio debe arrojar un patrón miopático.

6.2. Obtención de la Muestra

Se obtuvieron 57 biopsias musculares de pacientes del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía con sospecha de distrofia muscular. La biopsia se realizó en el músculo deltoides ya que la mayoría de las distrofias afectan los músculos proximales. Se aplicó anestesia local para realizar la incisión de 3 cm aproximadamente y se realizó una biopsia a cielo abierto. Las muestras se colocaron en una gasa dentro de una caja Petri para su traslado.

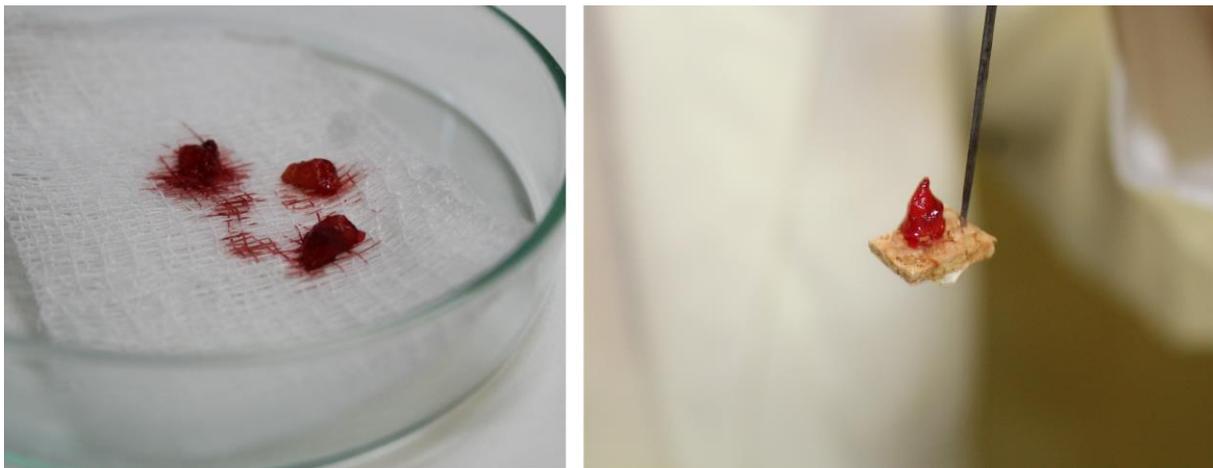


Figura 6. Biopsia muscular de deltoides. Así es como se entrega el músculo para su procesamiento. La muestra de músculo se encuentra sobre corcho para sumergirla en el isopentano previamente enfriado en nitrógeno líquido.

6.3. Microscopía Óptica

El análisis histológico se llevó a cabo con el músculo deltoides de los 57 pacientes. Para ello, la muestra se fijó con 2 metilbutano (comúnmente conocido como isopentano) que previamente se enfrió en nitrógeno líquido. Las muestras se sumergieron en el isopentano durante 2 min, cabe mencionar que la muestra se mantuvo en constante movimiento durante este proceso.

Los cortes se realizaron en el criostato a -20°C con 8 micras de grosor y estos se colocaron en cubreobjetos de 24 x 24 mm.

Las tinciones que se usaron para la observación al microscopio fueron H-E (Hematoxilina y Eosina), que permitió observar los hallazgos histopatológicos, y T-G (Tricrómico modificado de Gomori), con lo cual se observó la presencia de tejido conectivo, vacuolas bordeadas y fibras tipo I y II.



Figura 7. Muestra de músculo deltoides en el criostato a -20°C

6.4. Microscopía Electrónica

Para la ultraestructura se procesaron las muestras en glutaraldehído al 2.5% por una hora. Se realizaron 3 lavados de 5 min con buffer de cacodilatos pH 7.2. Para la post-fijación se utilizó tetraóxido de osmio por una hora y se volvió a lavar con buffer de cacodilatos. Se deshidrataron las muestras empezando por acetona al 50%, 60%, 70%, 80%, 90% terminando con 2 al 100% por 10 min cada uno.

La pre-inclusión se realizó con acetona:resina epóxica 1:1 toda la noche, posteriormente se incluyeron las muestras y se dejaron toda la noche a 60°C en moldes de silicón. Antes de realizar los cortes en el ultramicrotomo se formaron "pirámides" para que el corte se mantuviera más estable al momento de pasar por la cuchilla.



Figura 8. Bloques para microscopía electrónica.

Los cortes semifinos fueron de 1µm de grosor y se tiñeron con azul de toluidina. Los cortes ultrafinos tuvieron un grosor de 60-80 nm, se contrastaron con acetato de uranilo por 20 minutos y citrato de plomo por 10 min. Finalmente se observaron los cortes en el microscopio electrónico de transmisión.

7. RESULTADOS

7.1. Histopatología

Las alteraciones más comunes en las 57 biopsias musculares fueron 11 (Figura 8). En todas las muestras había diferencia en la forma y tamaño de las fibras musculares. El tejido conectivo se nombró dependiendo de su localización en el fascículo. En 57 cortes se observó un aumento en el tejido conectivo perimisial y en 54 en el tejido conectivo endomisial. La inflamación fue encontrada en 48 muestras.

También se tomó en cuenta la posición anormal de los núcleos; 45 muestras presentaban fibras con internalización nuclear y 41 con centralización nuclear. En 40 muestras había fibras en proceso de necrosis o necrosadas. El tejido fibro-adiposo se observó en 27 cortes, 20 presentan vacuolas en las fibras musculares. Los hallazgos con menor incidencia fueron las fibras en fusión que se encontraron en 8 muestras y la pérdida de la arquitectura fascicular en 14 muestras.

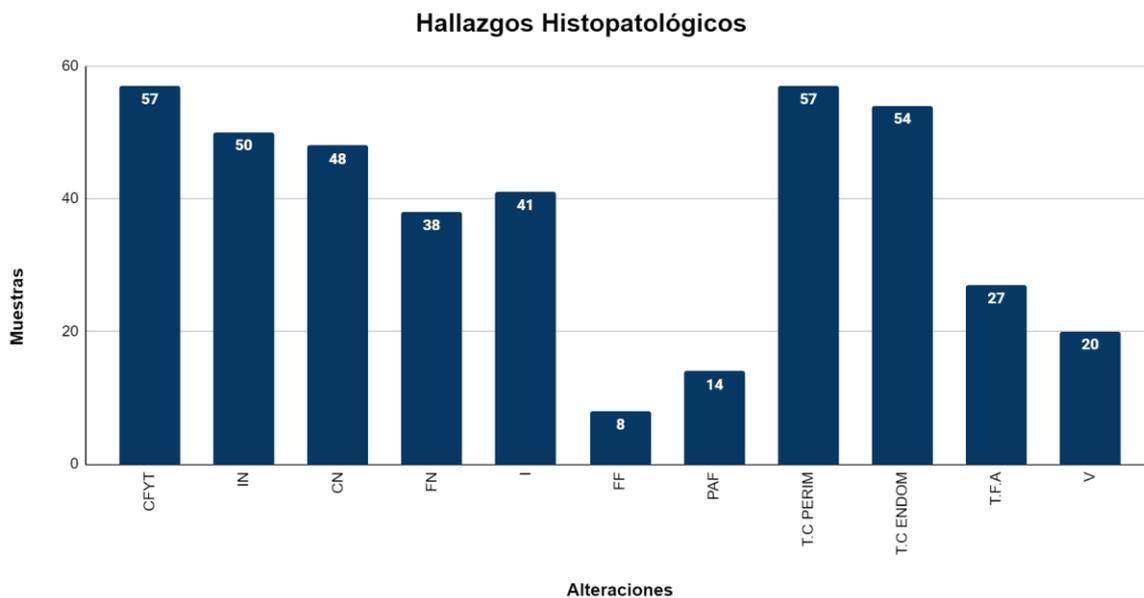


Figura 9. Hallazgos histopatológicos encontrados en las 57 muestras observadas: CFYT= Cambio en la forma y tamaño de la fibra; IN= Internalización nuclear; CN= Centralización nuclear; FN= Fibras en necrosis; I= inflamación; FF= Fibras en fusión; PAF= Pérdida de la arquitectura fascicular; T.C PERIM= Tejido conectivo perimisial; T.C ENDOM= Tejido conectivo endomisial; T.F.A= Tejido fibro-adiposo; V= Vacuolas.

La célula muscular tiene una forma poliédrica, es multinucleada y estos se encuentran en la periferia de la célula. El músculo estriado esquelético cuenta con varias láminas de tejido conectivo ubicadas en distintos niveles.

En pacientes con distrofia muscular se observó que hay cambios característicos en la morfología de la fibra muscular. Estos cambios dependerán del tipo de distrofia muscular, el avance y la gravedad de la enfermedad.

7.1.1. Cambio en la Forma y Tamaño de la Fibra Muscular

Hubo músculos que no presentaron cambios significativos en su morfología (figura 10). Sin embargo, había un cambio en la forma de las fibras musculares perdiendo su forma poliédrica. Algunas fibras se comenzaban a hipertrofiar y otras a atrofiar, esto hacía evidente la diferencia en el tamaño de las fibras. En algunas muestras, los núcleos seguían en la periferia, mientras en otros, los núcleos comenzaban a migrar hacia el centro de la fibra. En estas muestras también se observaba un aumento en el tejido conectivo interfascicular, intrafascicular o en ambos (figura 11).

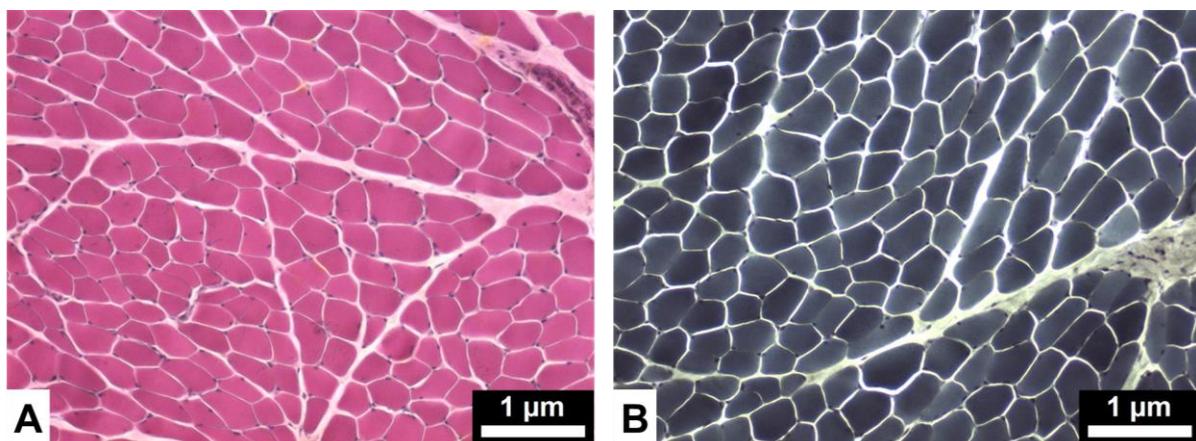


Figura 10. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Se observan los fascículos conservados con un ligero aumento en el tejido conectivo endomisial y perimisial. Las fibras musculares con leves alteraciones presentan un cambio en la forma y tamaño. Los núcleos de la fibra se mantienen en la periferia. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

Conforme avanza la enfermedad, los cambios en la fibra muscular se hacen más notorios. Las fibras musculares presentan hipertrofia y atrofia y se observa mayor internalización y/o centralización nuclear (figura 12). El número de fibras en necrosis no es significativo en músculos distróficos no tan deteriorados. También pueden observarse algunas fibras en regeneración y fibras en fusión. El aumento anormal de tejido conectivo indica el comienzo del deterioro de la estructura del músculo esquelético ya que se empieza a deformar su arquitectura normal y las fibras musculares también pierden su organización habitual. Dependerá de la gravedad y tiempo de la enfermedad para que se puedan manifestar más alteraciones en el tejido muscular.

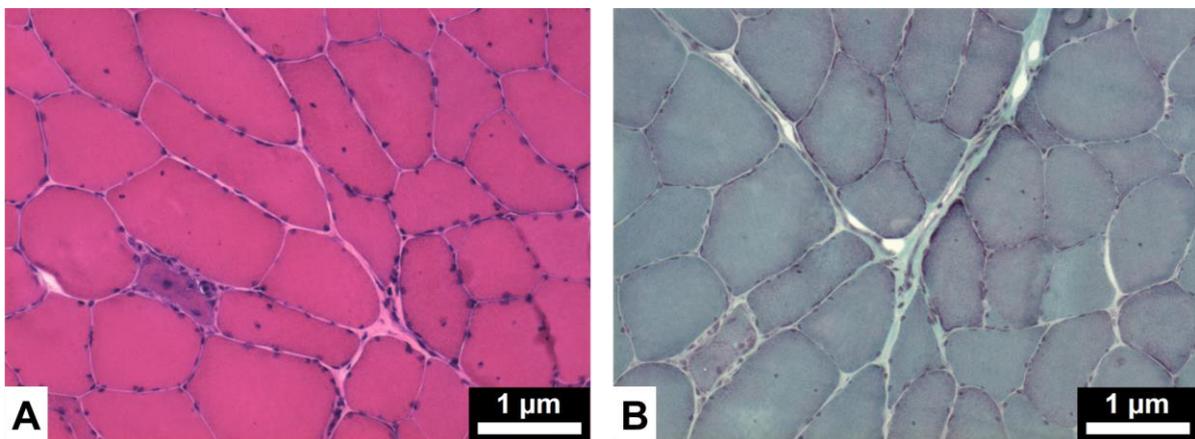


Figura 11. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Se observa un ligero aumento en el tejido intrafascicular e interfascicular pero los fascículos siguen conservados. Las fibras musculares presentan diferencia en forma y tamaño, además de fibras en necrosis. Hay internalización y centralización nuclear. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricómico Modificado de Gomori (100x).

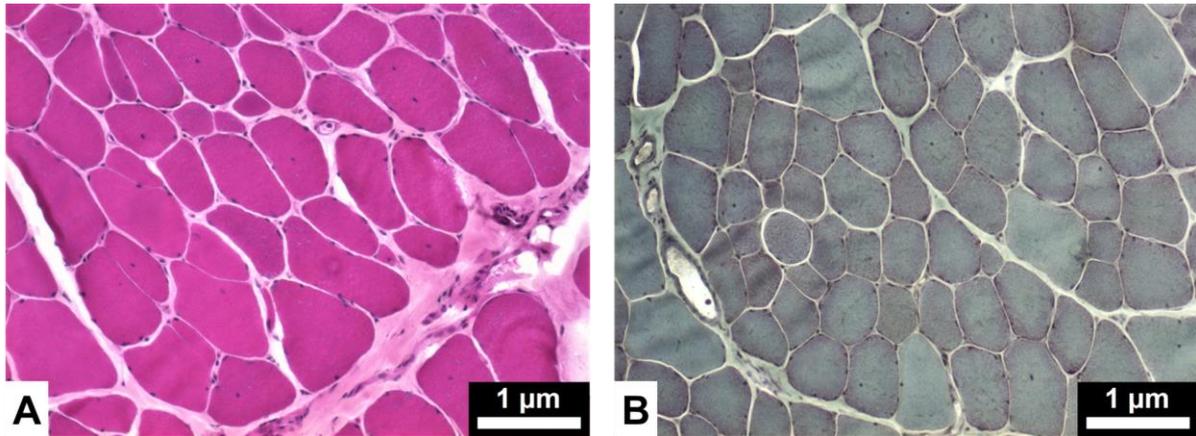


Figura 12. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Se observan los fascículos conservados con mayor cantidad de tejido conectivo intrafascicular y interfascicular y tejido fibro-adiposo. Hay diferencia en tamaño y forma de la fibra muscular. También se observan algunas fibras en regeneración (abalonadas) y fibras en fusión. De igual forma, se observa internalización y centralización nuclear. En B se observa que el fascículo presenta características miopáticas. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

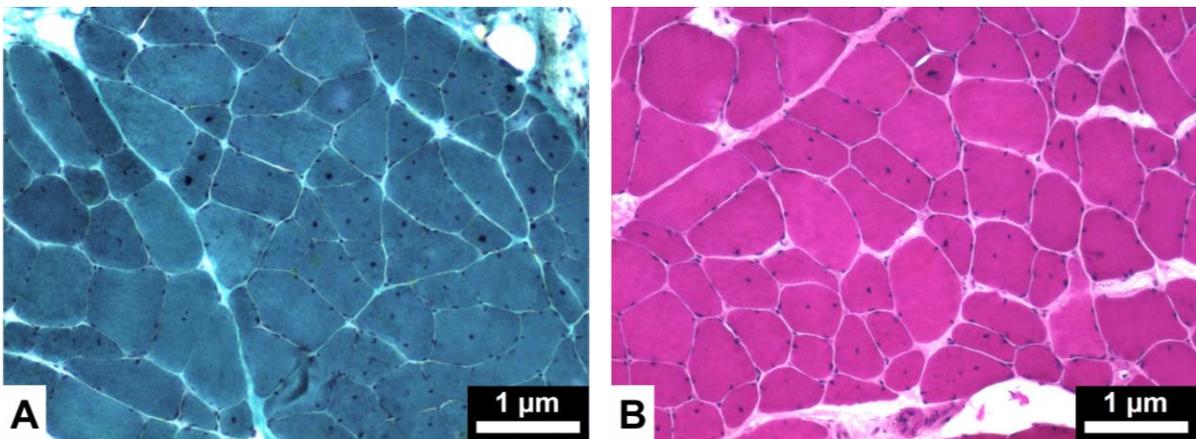


Figura 13 Corte transversal de músculo estriado esquelético. Hay un aumento del tejido conectivo interfascicular pero los fascículos siguen conservados. Se observa una diferencia en la forma y tamaño de las fibras musculares. Lo que resalta en esta figura es el aumento de fibras con internalización y centralización nuclear. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

7.1.2. Migración Nuclear

La migración de uno o varios núcleos de la fibra muscular hacia el centro, es un hallazgo común dentro de las distrofias musculares. De manera más detallada, 45 de los 57 pacientes presentaron internalización nuclear, mientras que en 41 muestras se observó centralización nuclear en la fibra muscular.

La fibra muscular posee múltiples núcleos que se encuentran en la periferia. Tendrán forma esférica y con un tamaño uniforme. Tras la observación de las laminillas, el núcleo de las fibras musculares distróficas no se encontraba en su posición original (figura 14).

Algunas fibras presentaban centralización nuclear, esto ocurre cuando solo un núcleo migra (figura 15). En cambio, la internalización nuclear es cuando todos los núcleos lo hacen (figura 16). En los dos casos, los núcleos se alejan de la periferia y migran hacia el centro de la fibra muscular. También se puede observar que algunas veces, los núcleos pierden su forma esférica y son picnóticos.

En algunas ocasiones, las muestras presentan una gran cantidad de tejido inflamatorio y en una vista panorámica no se alcanzan a diferenciar. Cuando se observan a más aumento, los núcleos se diferencian de las células inflamatorias por su tamaño, forma y la mayoría de las veces, las células inflamatorias son laxas y se logra visualizar la forma de su núcleo. (figura 17).

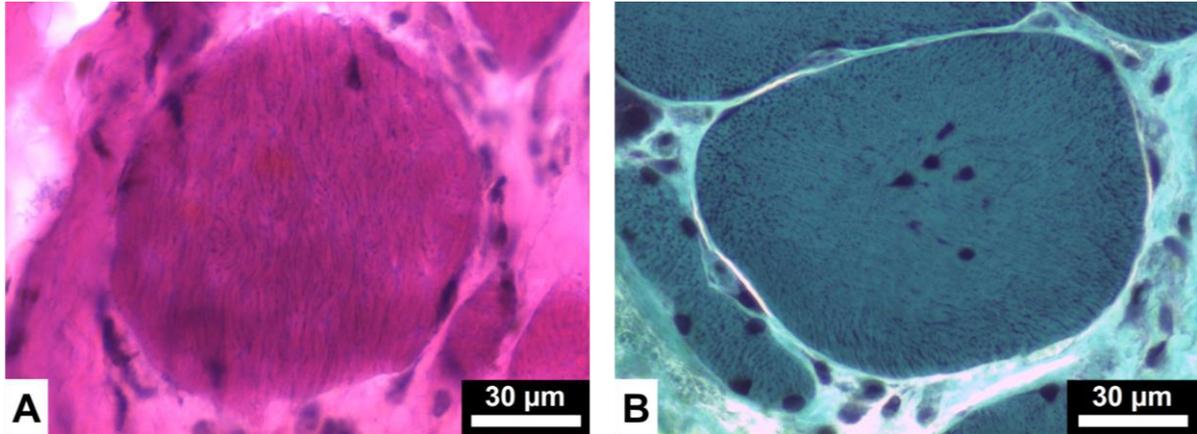


Figura 14. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Fibras abalonadas o en regeneración. En el apartado A se observa una fibra abalonada rodeada por tejido inflamatorio. Los núcleos con apariencia irregular y picnóticos van migrando de la periferia hacia el centro. En B, la fibra abalonada tiene sus núcleos en el centro de la fibra. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (400x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

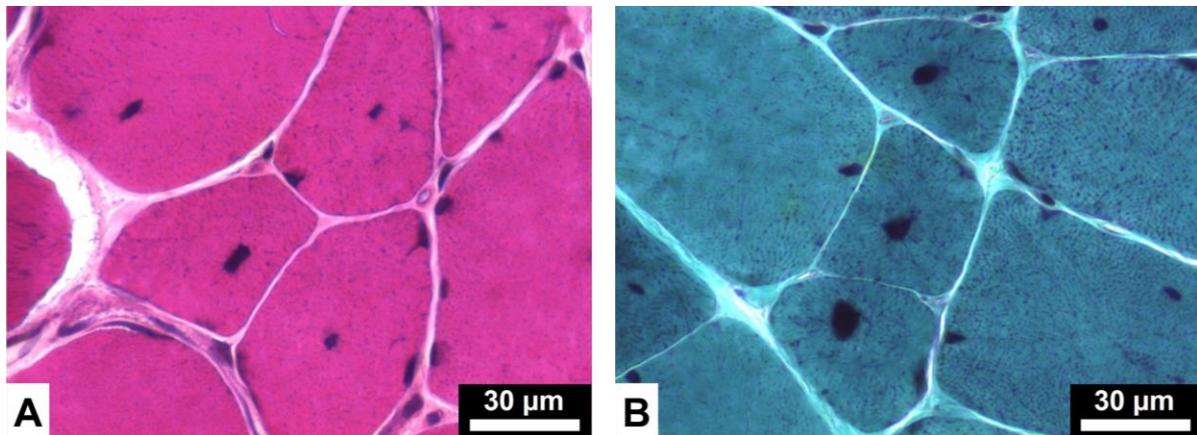


Figura 15. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Centralización nuclear. En los dos apartados se observan tres fibras musculares que perdieron su forma poliédrica, sus núcleos son picnóticos y algunos no poseen la forma esférica original. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (400x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

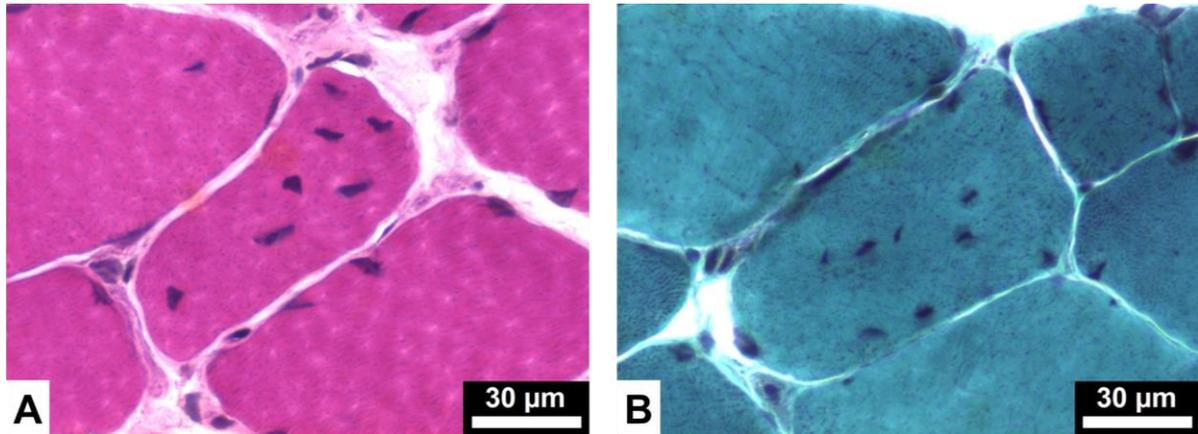


Figura 16. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Internalización nuclear. Las fibras distróficas presentan núcleos centrales. La mayoría poseen una forma alargada y son picnóticos. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (400x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

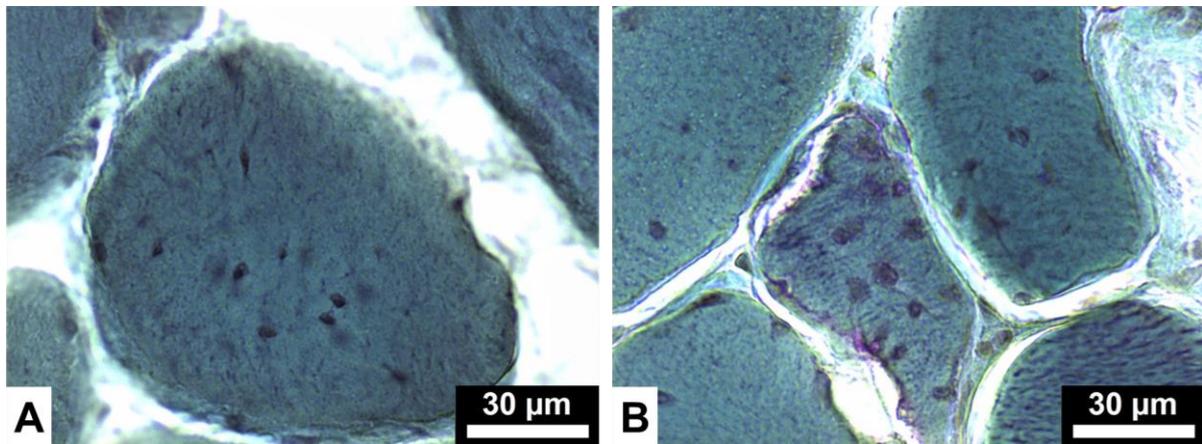


Figura 17. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Diferencia entre los núcleos de la fibra muscular y células inflamatorias. En A podemos observar internalización nuclear, los núcleos de la fibra muscular perdieron su forma esférica y son picnóticos. En B se observan células inflamatorias sobre la fibra muscular, su tamaño es más grande y se visualiza el nucleolo. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (400x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

7.1.3. Aumento de Tejido Conectivo

El tejido conectivo es un indicativo de que tan grave y avanzada está la enfermedad. Suele aumentar en el endomisio (figura 18) y/o en el perimisio (figura 19) y normalmente está acompañado de fibras en necrosis e inflamación. Por la presencia anormal de este tejido, la arquitectura del fascículo va perdiendo su forma original.

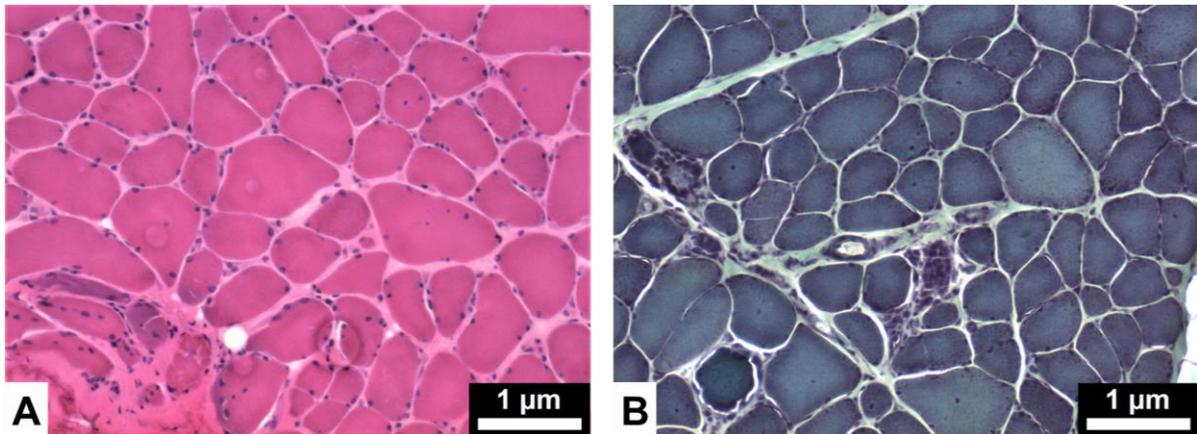


Figura 18. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Se observa mayor cantidad de tejido conectivo interfascicular. Hay cambio en la forma y tamaño de la fibra predominando las fibras hipertróficas. También se aprecian algunas fibras en fusión. En el apartado B se pueden observar las fibras en necrosis con presencia de tejido inflamatorio. Las fibras presentan centralización e internalización nuclear. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

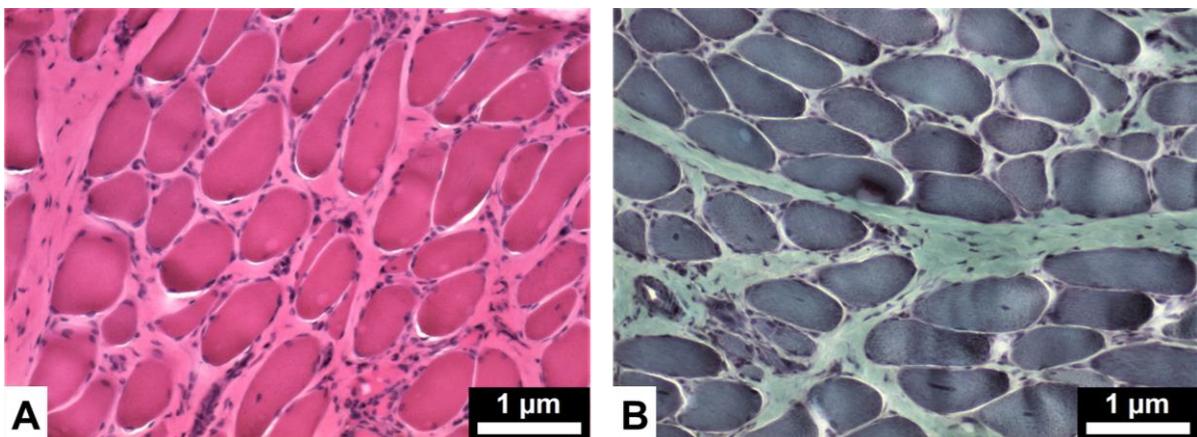


Figura 19. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En la figura el tejido conectivo intra e interfascicular es abundante en la muestra. Hay diferencia en forma y tamaño de las fibras y algunas fibras en necrosis. Además, se aprecia centralización e internalización nuclear y tejido inflamatorio. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

7.1.4. Fibras en Regeneración

El músculo esquelético tiene la capacidad de regenerarse gracias a las células satélite. En las distrofias musculares, las fibras musculares tratarán de recuperar el tejido muscular dañado y aumentará la presencia de fibras en regeneración. Estas fibras tendrán forma de balón, y en algunas ocasiones se observan más teñidas que las demás fibras (figura 20). La arquitectura fascicular puede conservarse, pero el tejido fibro-adiposo va a deformarlo y lo sustituirá impidiendo la recuperación del tejido dañado.

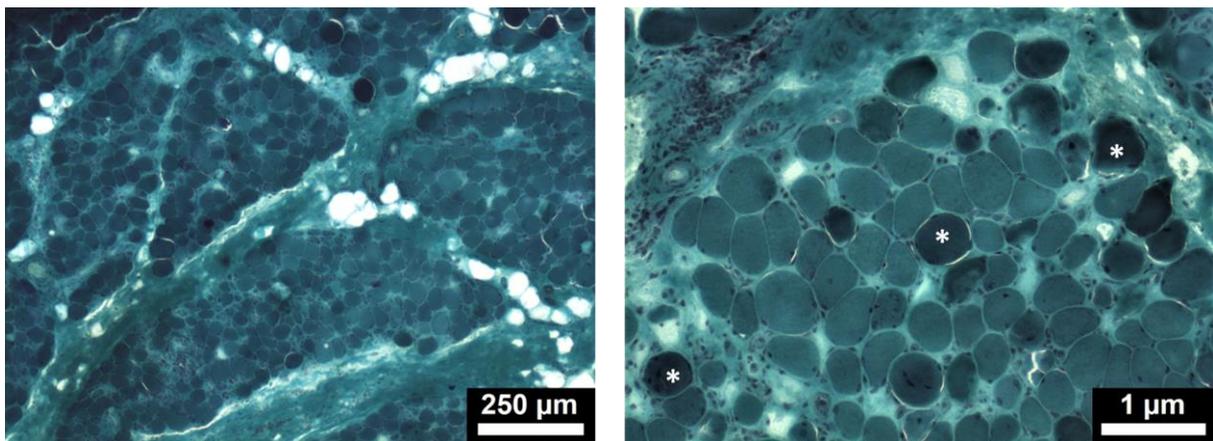


Figura 20. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En A se observan varios fascículos miopáticos y hay tejido fibro-adiposo rodeandolos. En B el tejido inflamatorio se encuentra en el perimysio. La mayoría de las fibras son hipertróficas pero se observa la presencia de fibras en regeneración (asterisco). También se observan fibras en necrosis y fibras con vacuolas. Hay centralización e internalización nuclear. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (40x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

7.1.5. Necrosis, Inflamación y Vacuolas

Una de las características del deterioro del tejido muscular esquelético será la presencia de fibras en necrosis. A diferencia de las fibras musculares afectadas, regularmente, estas fibras se observan menos teñidas que las demás (figura 21, 22). Cuando la fibra lleva mucho tiempo deteriorándose, sólo se alcanzará a ver un remanente de su contorno y habrá presencia de células inflamatorias alrededor o sobre ella.

En algunos pacientes se encontraron anomalías poco comunes como los son las fibras en fusión y las fibras rojas rasgadas. En algunos tipos de distrofias musculares las fibras se acercan dejando un pequeño espacio entre ellas, el hallazgo se denomina fibras en fusión (figura 21:C,D). Dependiendo el daño en las fibras musculare y el avance de la enfermedad, se han observado fibras rojas rasgadas, estas se caracterizan por tener un contorno rojizo que se nota más en el T-G (figura 21 E,F) .

Mientras el tejido conectivo aumenta, en algunos tipos de distrofia se puede observar el aumento de células inflamatorias. En una vista panorámica, se podrá observar si la inflamación está focalizada (figura 23, 24) o difusa entre el tejido conectivo perimisial y endomisial (figura 27).

Aún sí la inflamación se encontraba en el endomisio y/o perimisisio, era muy común ver tejido inflamatorio en las fibras musculares comprometidas (con ruptura, vacuolas o necrosadas). También se observó células inflamatorias presentes durante la necrosis de la fibras. En ocasiones solo se encuentra rodeando la fibra (figura 25: C, D), si la fibra muscular se encuentra en un grado más alto de deterioro, las células inflamatorias invadirán la célula muscular, observándose fibras rotas, con huecos o fragmentadas (figura 26). En un estado final se apreciará solo la sombra de las fibras ya que estarán totalmente cubiertas por tejido inflamatorio (figura 26: E, F).

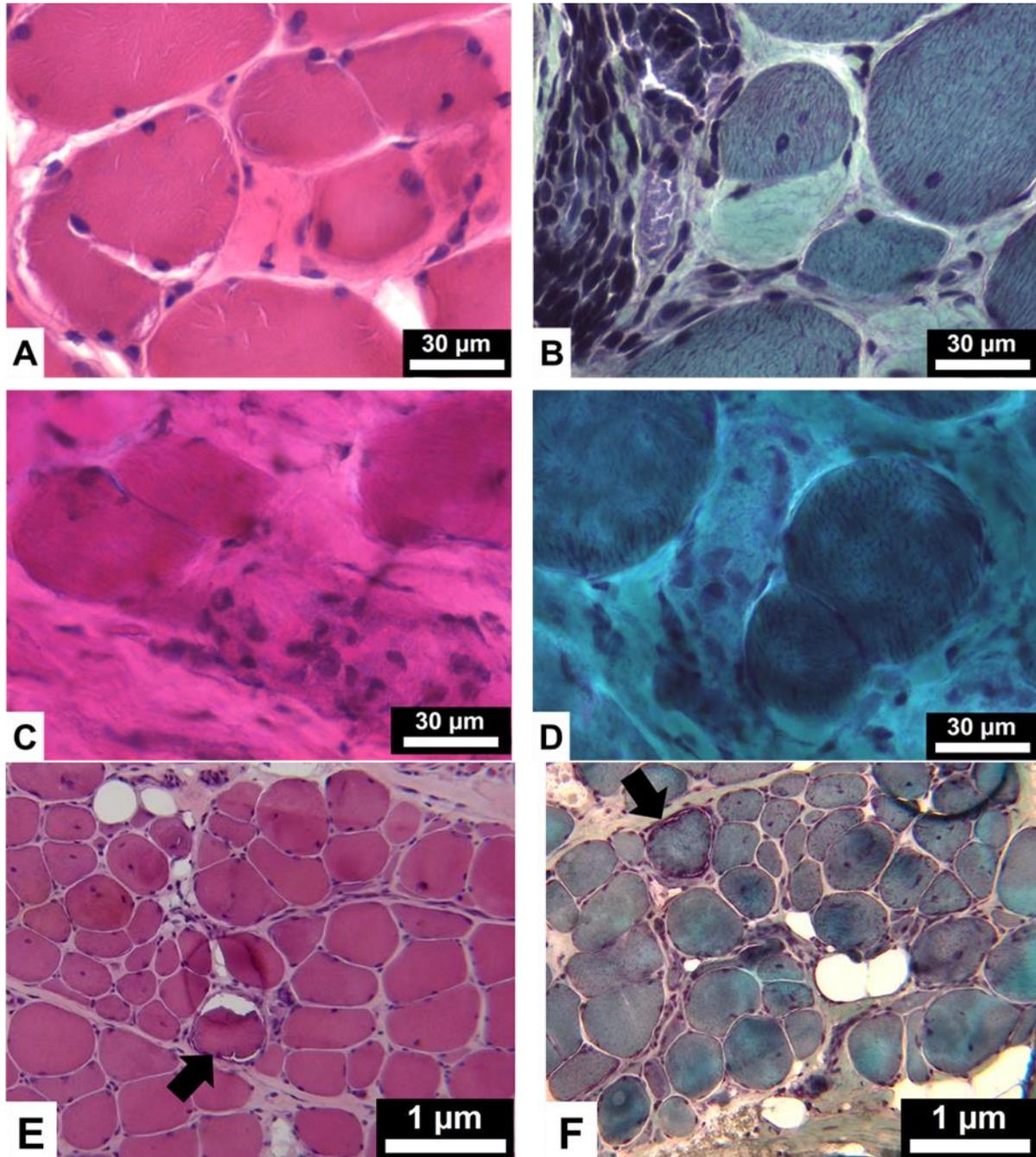


Figura 21. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En el apartado A también se puede observar que la fibra en necrosis ya no tiene un contorno definido, se observan algunas células inflamatorias rodeándola y las células que se encuentran alrededor de ella están atróficas e hipertróficas, esta última se observa fragmentada. En el apartado B la fibra en necrosis se ve de un azul más tenue que las demás fibras, no se le observan núcleos y está rodeada por tejido inflamatorio. Las fibras cercanas son atróficas e hipertróficas con centralización nuclear. En C se observan dos fibras en fusión y a lado de ellas la sombra de una fibra muscular invadida por tejido inflamatorio. En D la fibra en necrosis se aprecia mejor, de igual forma, a un lado hay dos fibras fusionándose. En ambos apartados se observa la presencia de tejido conectivo. En los apartados E y F se observan fibras rojas rasgadas, en el tricrómico se puede observar el borde de la fibra con una coloración rojiza. Tinciones: A, C, E Hematoxilina-Eosina (400x Y 100X), B, C, F Tricrómico Modificado de Gomori (400x Y 100X).

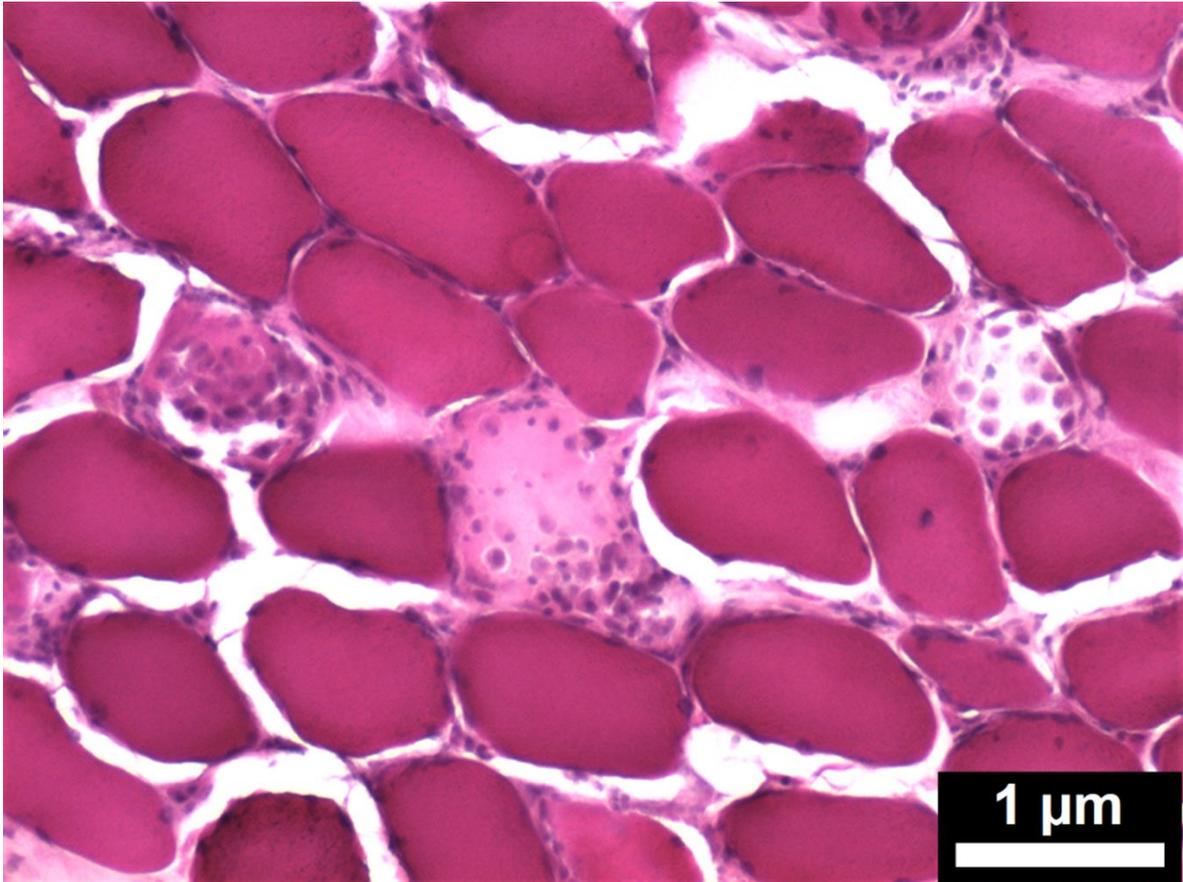


Figura 22. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En esta figura podemos observar tres fibras musculares en diferentes etapas de la necrosis. De izquierda a derecha, la primera fibra muscular está fragmentada, invadida por tejido inflamatorio. La fibra de en medio está menos teñida, con tejido inflamatorio y se observa ligeramente fragmentada en algunas partes. En la última fibra se aprecia solo el sarcolema y se observan algunos cuantos macrófagos en el centro de esta. Tinción: Hematoxilina-Eosina (100x).

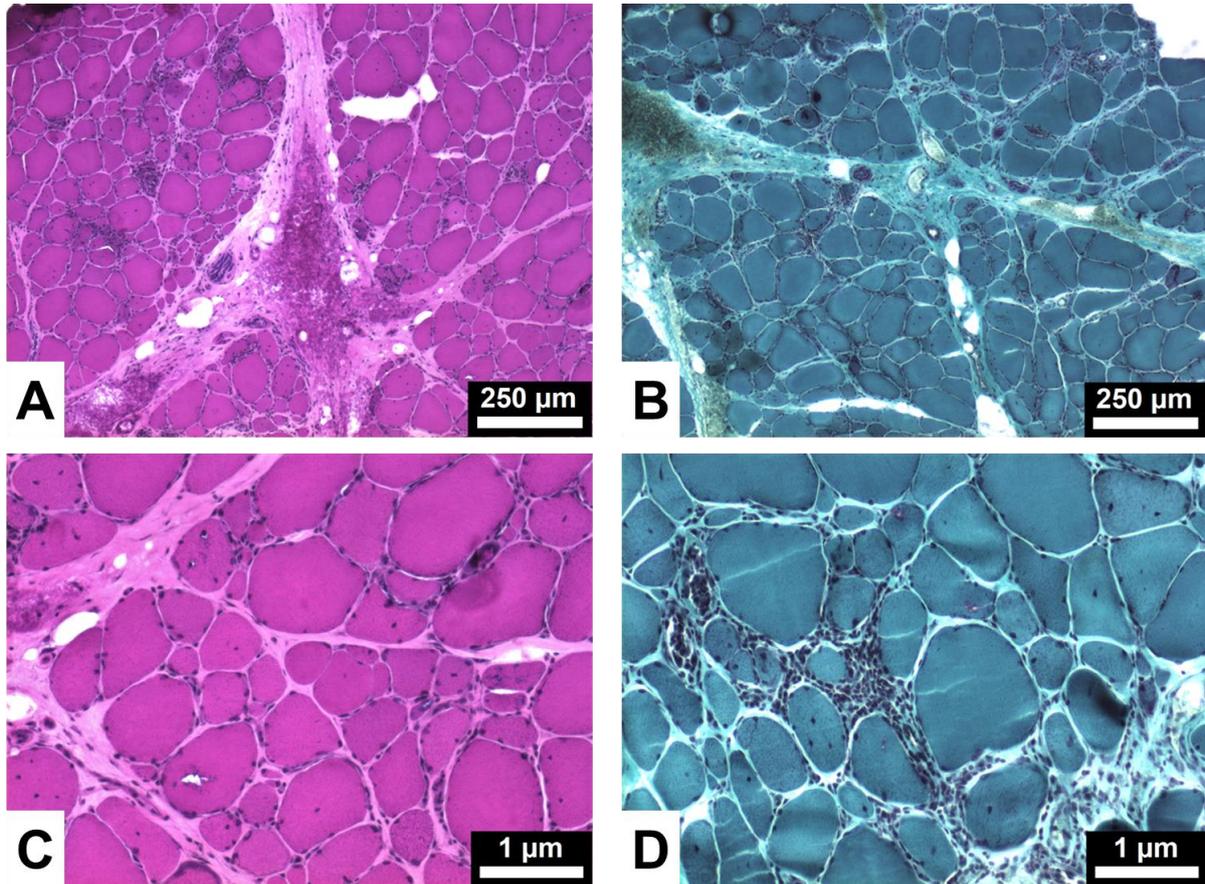


Figura 23. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En los apartados A y B se observa abundante tejido conectivo intra e interfascicular y tejido inflamatorio focalizado. También podemos observar fascículos miopáticos, estos tendrán una terminación curva. Empieza a formarse el tejido fibro-adiposo. En los acercamientos C y D se logra ver la diferencia en forma y tamaño de las fibras musculares, la centralización e internalización nuclear, fibras en necrosis y vacuolas. En D se observa qué tan concentrado puede estar el tejido inflamatorio en ciertas zonas del fascículo. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (40x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (40x). C. Hematoxilina-Eosina (100x). D. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

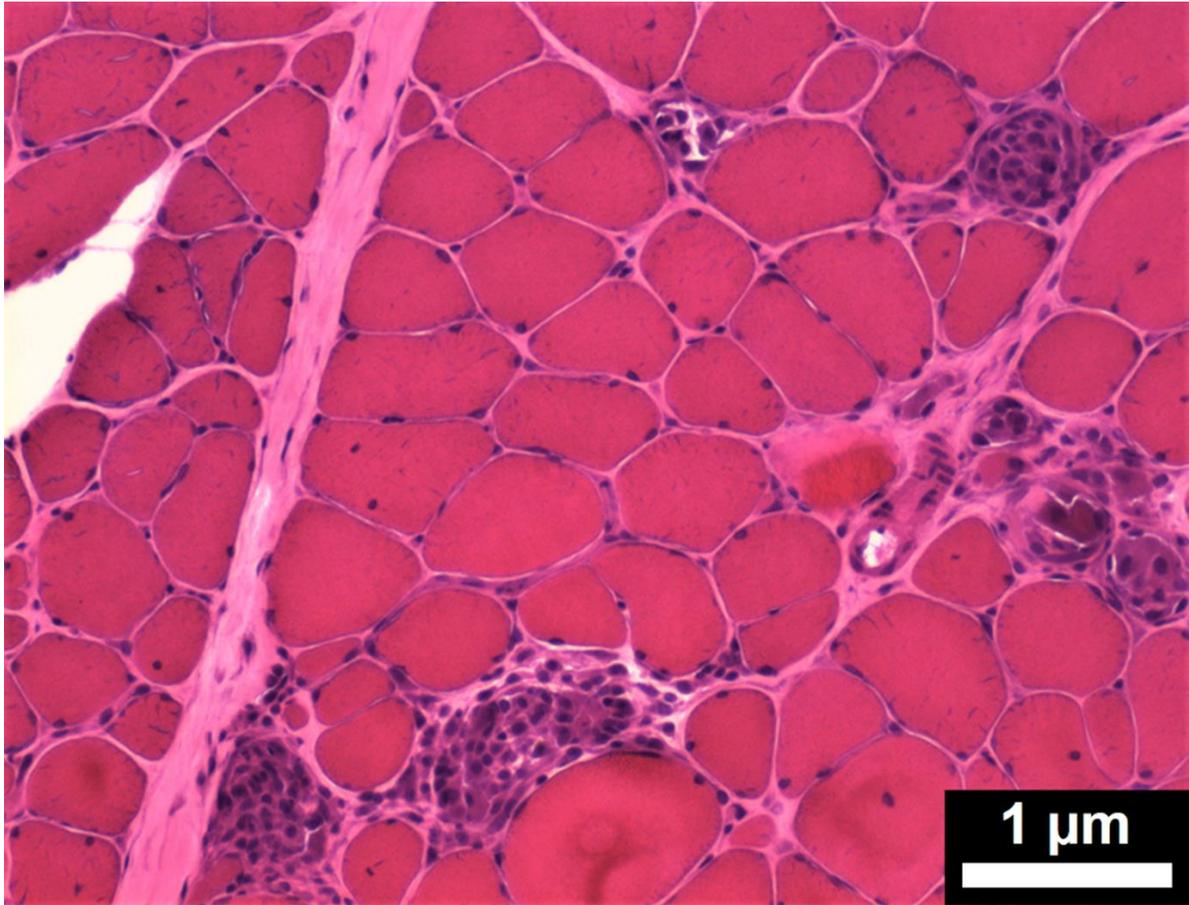


Figura 24. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En esta figura podemos observar como el tejido inflamatorio está invadiendo varias fibras musculares del fascículo para empezar con el proceso de necrosis. Además, observamos algunas fibras en fusión. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x).

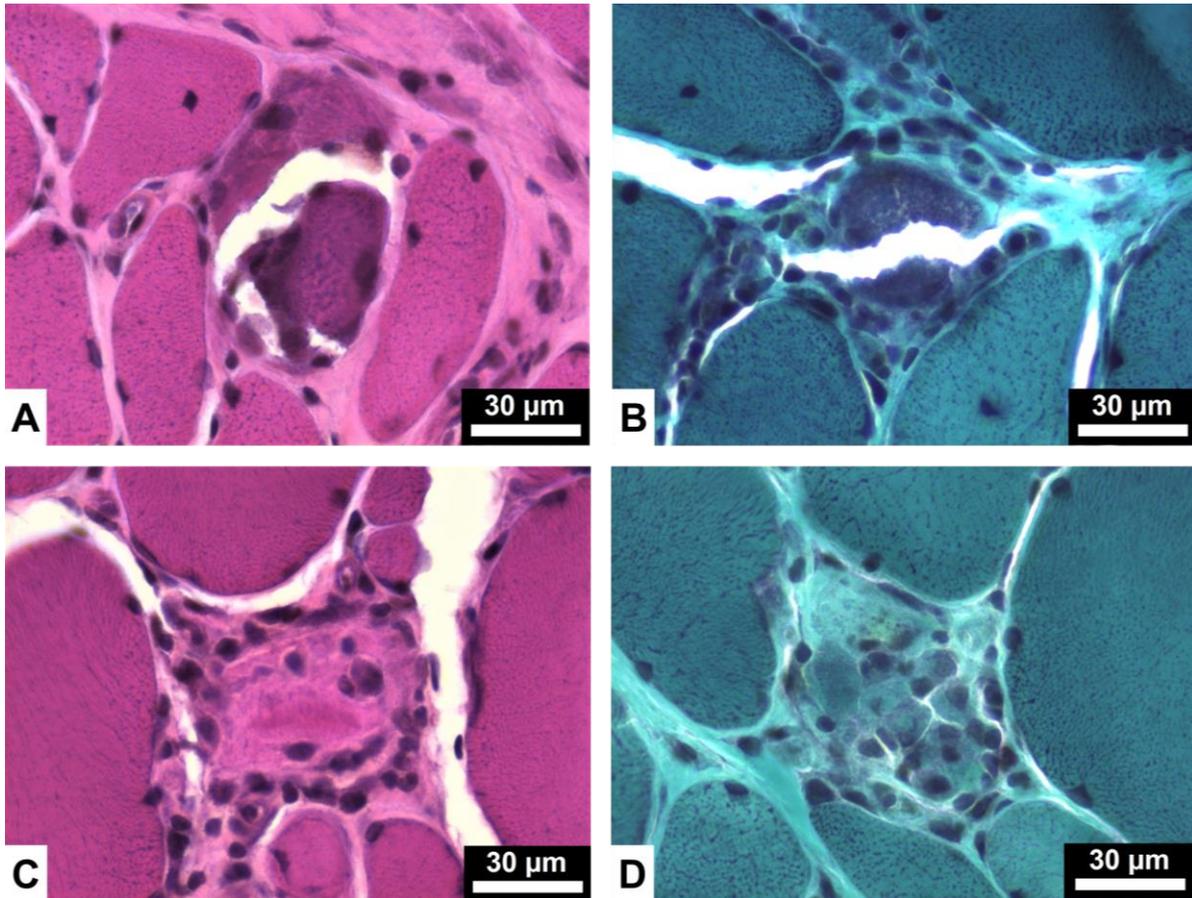


Figura 25. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Diferentes grados de inflamación en fibras musculares distróficas. En A la fibra muscular está rasgada, se encuentra rodeada por tejido conectivo y algunas cuantas células inflamatorias. En B, la fibra muscular tiene un menor tamaño con respecto a las que están a su alrededor, la presencia del tejido inflamatorio es mayor que en A. En el apartado C, ya no se observa el sarcolema de la fibra muscular, se encuentra rodeada por tejido inflamatorio y su color es más tenue con respecto a las fibras a su alrededor. En D, la fibra muscular se observa fragmentada e invadida por tejido inflamatorio. Tinciones: A y C. Hematoxilina-Eosina (400x), B y D. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

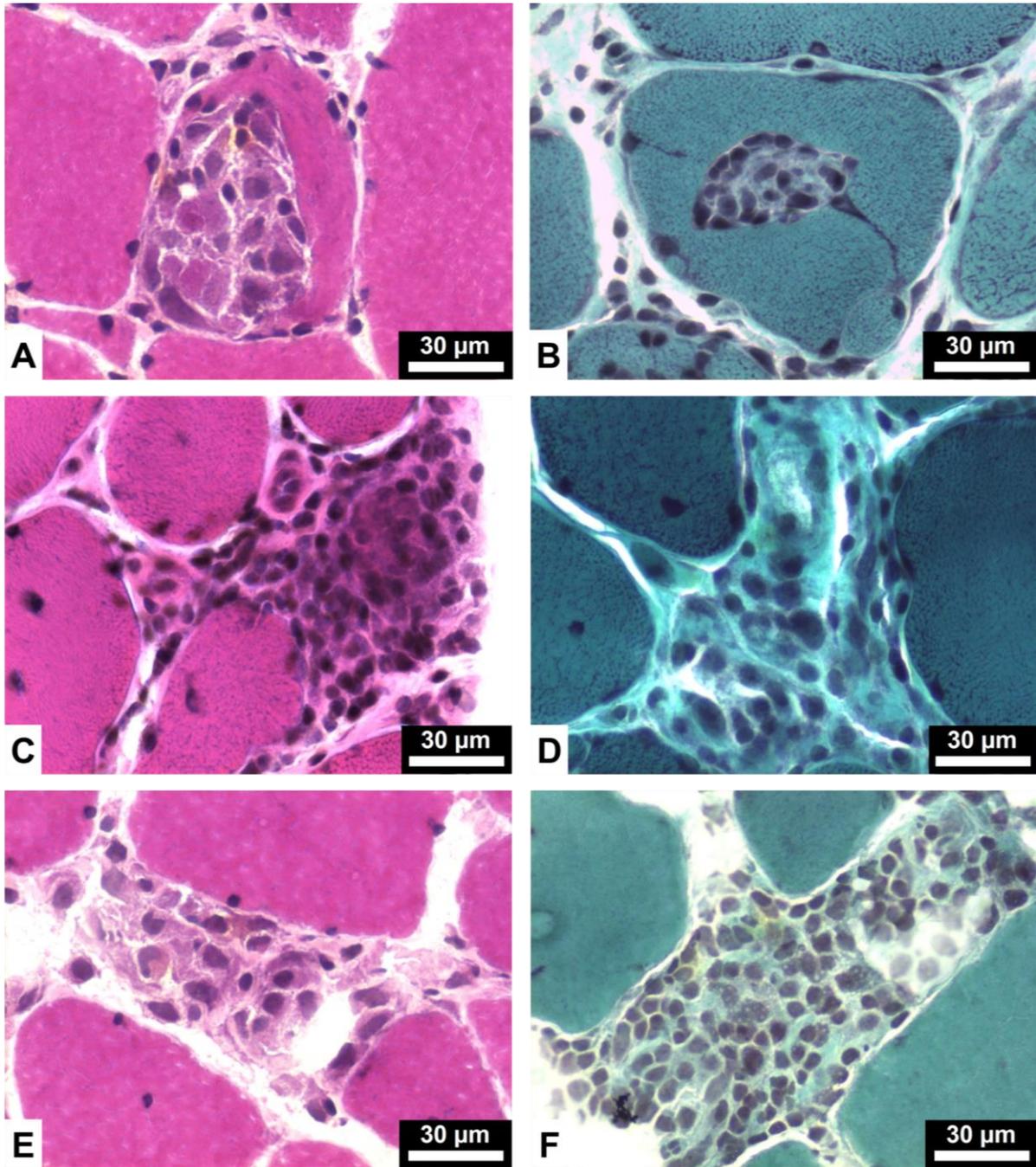


Figura 26. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Presencia de tejido inflamatorio en el proceso de necrosis. En los apartados A y B, el tejido inflamatorio se internó en la fibra muscular rompiéndola en el proceso de necrosis. En C y D, el tejido inflamatorio cubre totalmente la fibra muscular y no se distingue la forma original, incluso se observa menos teñida que las fibras de alrededor. En F y E, la fibra está completamente necrosada, se distingue la forma irregular de la fibra pero ya se encuentra invadida por el tejido inflamatorio. Tinciones: A, C y D. Hematoxilina-Eosina (400x), B, D y F. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

Las vacuolas son huecos que presentan las fibras musculares distróficas en deterioro. Si en el T-G se observa un contorno rojizo, se le denominan vacuolas bordeadas. Es un hallazgo que se formará dependiendo del tipo de distrofia muscular. Conforme la fibra se deteriora, podemos observar que el diámetro de las vacuolas aumenta. De igual forma se observa que a la fibra muscular se le puede formar una o varias vacuolas (figura 28). Las características de las vacuolas (diámetro, si es bordeada y cantidad) dependerá de la gravedad y/o tiempo de la enfermedad.

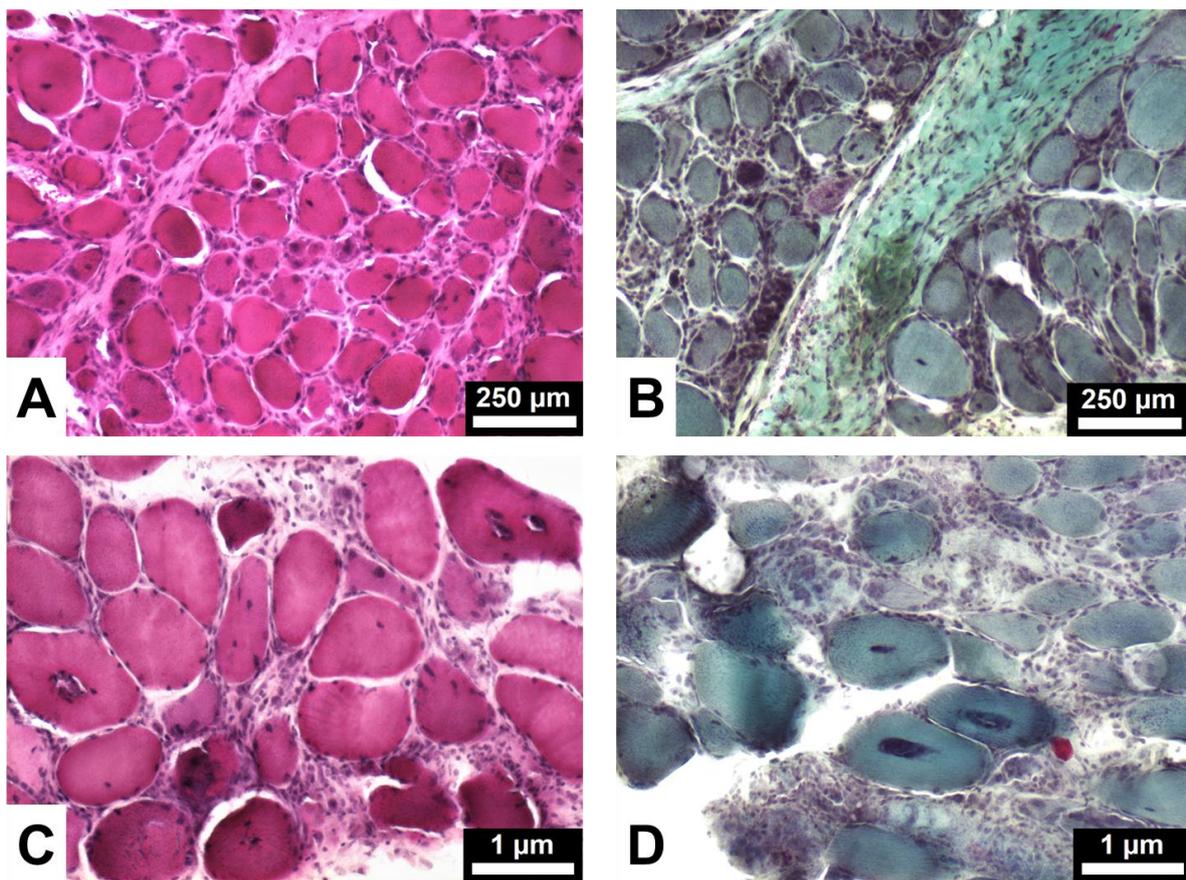


Figura 27. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En A, la diferencia de tamaño y forma de las fibras musculares e infiltrado inflamatorio. En B destaca la presencia del tejido conectivo interfascicular con infiltrado inflamatorio, este último también está rodeando las fibras musculares. En el apartado C se observan fibras con vacuolas, hay internalización y centralización nuclear. En D, se puede definir que las vacuolas observadas en C son bordeadas. También se observan las fibras en necrosis rodeadas por infiltrado inflamatorio. Tinciones: A y C. Hematoxilina-Eosina (100x), B y D Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

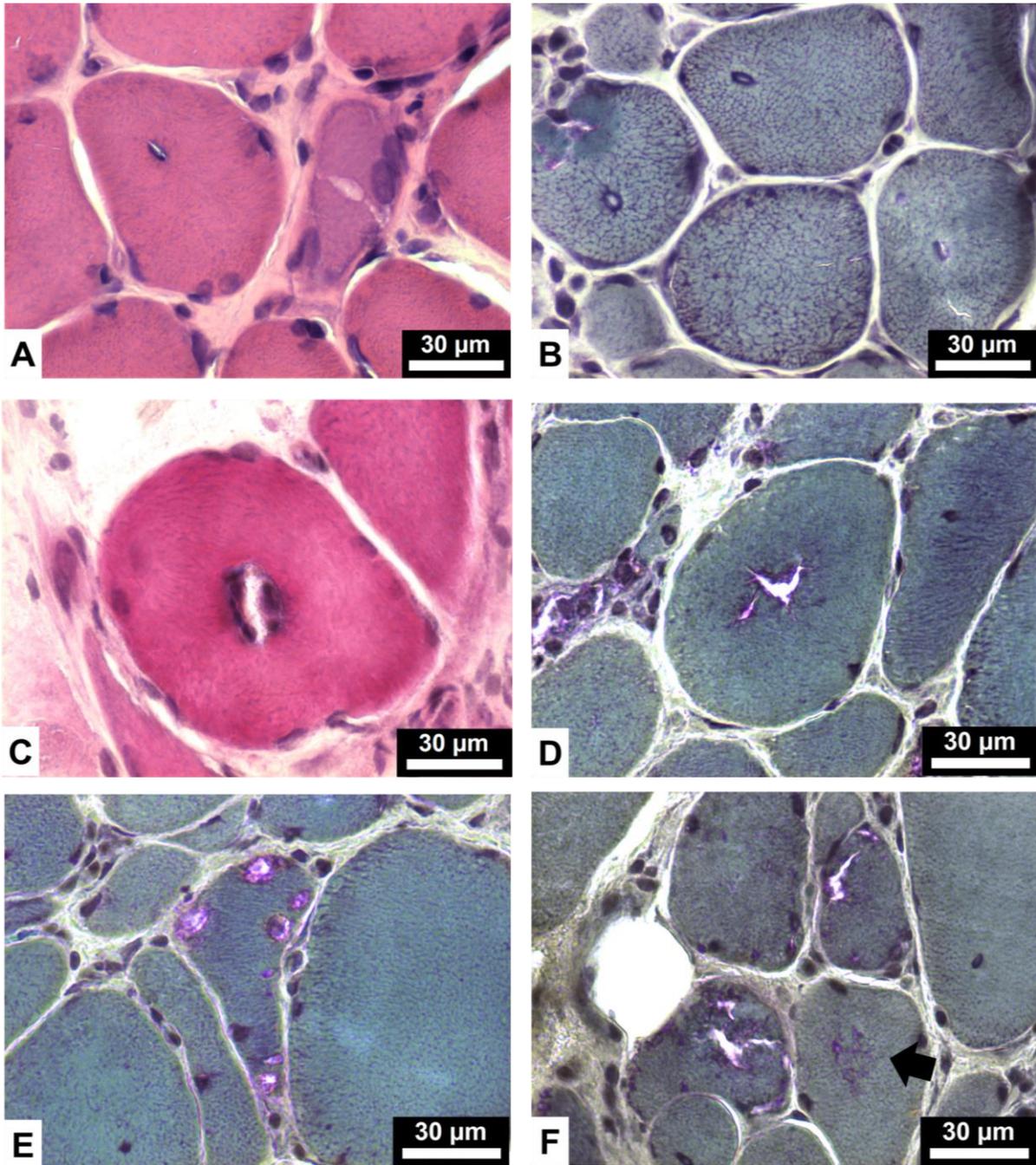


Figura 28. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Formación de vacuolas. En el apartado A y B se observan fibras con una vacuola de pequeño diámetro, además están rodeadas por fibras atroficas y necrosadas. En C un acercamiento de una fibra abalonada con vacuola. En D gracias a la técnica de tinción se observa el borde rojizo de la vacuola bordeada. En E una fibra atrofica con varias vacuolas. En F un grupo de fibras con vacuolas bordeadas. A la fibra señalada con la flecha se le está empezando a formar la vacuola. Tinciones: A y C. Hematoxilina-Eosina (400x), B, D, E y F. Tricrómico Modificado de Gomori (400x).

7.1.6. Tejido Fibro-adiposo

Dentro de las características histológicas que se encuentran en muestras de pacientes que llevan un largo tiempo manifestando la enfermedad, es la sustitución de tejido muscular por tejido fibro-adiposo. En figuras anteriores se observa el aumento del tejido conectivo y algunos adipocitos dentro del tejido conectivo. Conforme la enfermedad avanza, la red de adipocitos se hace más notoria y definida. Está se encontrará en el perimisio y en el endomisio (figura 29).

Después de mucho tiempo transcurrido de la enfermedad, la sustitución de músculo por tejido fibroadiposo será bastante notorio. Las fibras musculares se volverán atrofiadas e insuficientes para formar o mantener los fascículos. Aumentará la cantidad de tejido conectivo y se formará la red de adipocitos, posteriormente, la cantidad de tejido adiposo será igual que la del tejido conectivo y formarán el denominado tejido fibro-adiposo (figura 30).

Las fibras musculares se pueden observar hipertróficas y atróficas, también habrá fibras en regeneración (figura 31). Estas mismas fibras presentan necrosis, están rodeadas por tejido conectivo, tendrán vacuolas y no serán funcionales para el tejido muscular. También habrá presencia de tejido inflamatorio que rodeará la fibra muscular para eliminarla. En pacientes con una enfermedad longeva o grave, el tejido adiposo aumenta y la sustitución de tejido muscular es más evidente (figura 32).

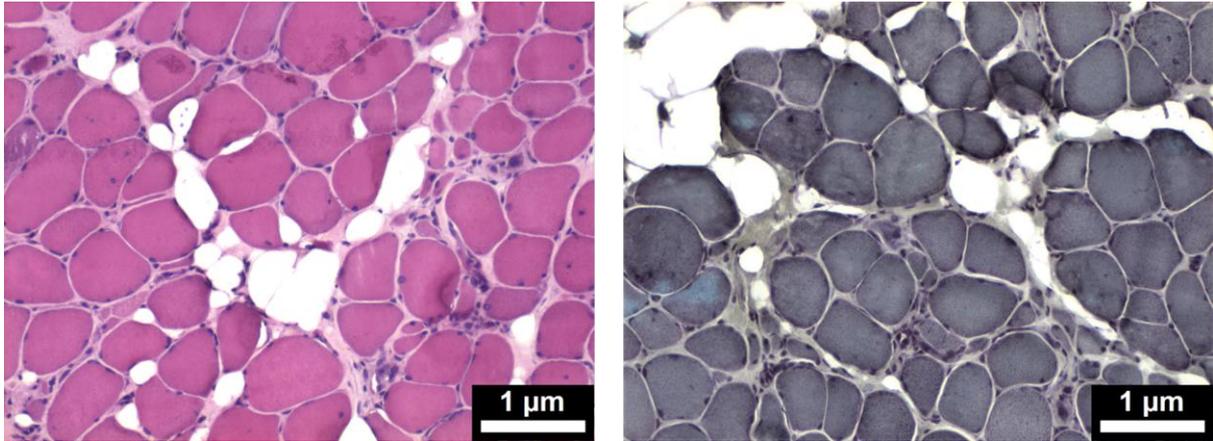


Figura 29. Corte transversal de músculo estriado esquelético. Se puede observar de manera más definida la sustitución de músculo por tejido fibro-adiposo. Hay tejido conectivo interfascicular y diferencia en forma y tamaño de la fibra. También se puede observar la internalización, centralización de núcleos y fibras en necrosis. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (100x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

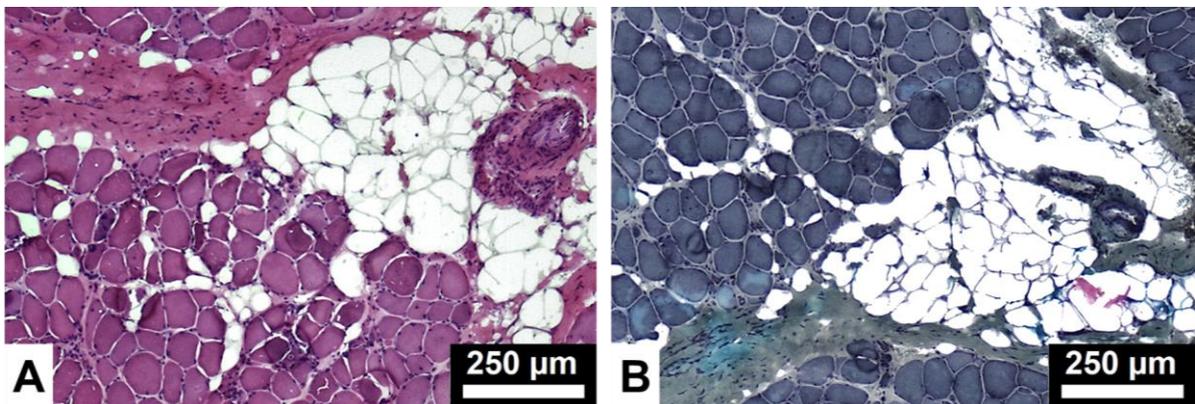


Figura 30. Corte transversal de músculo estriado esquelético. El tejido fibro-adiposo se encuentra sustituyendo el músculo esquelético. De igual forma, se observa pérdida en la arquitectura del fascículo. Las fibras musculares se observan con alteraciones en su forma y tamaño. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (40x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (40x).

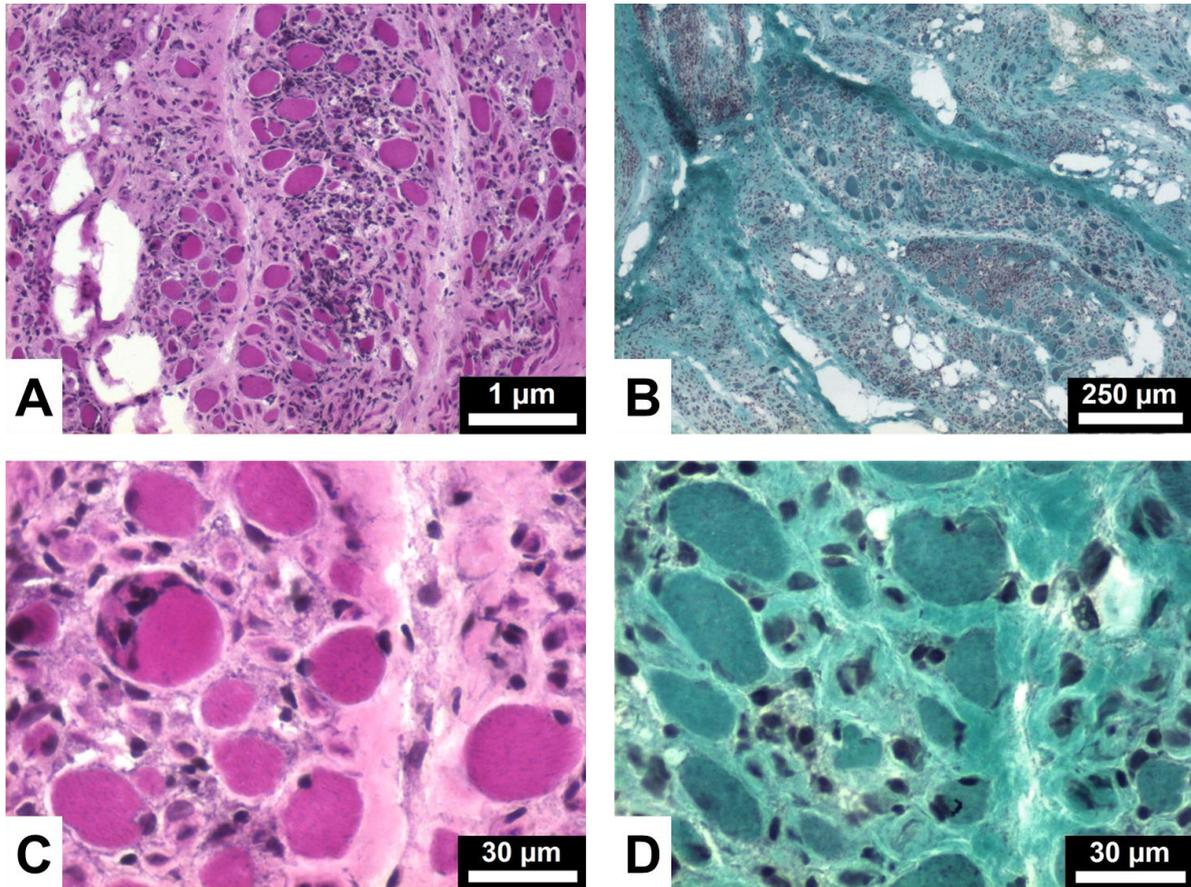


Figura 31. Corte transversal de músculo estriado esquelético. La arquitectura fascicular se ha perdido, hay sustitución de tejido muscular por tejido fibro-adiposo y abundante tejido inflamatorio. Las pocas fibras que se observan tienen una forma abalonada o están en necrosis. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (40x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (40x). C. Hematoxilina-Eosina (100x). D. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

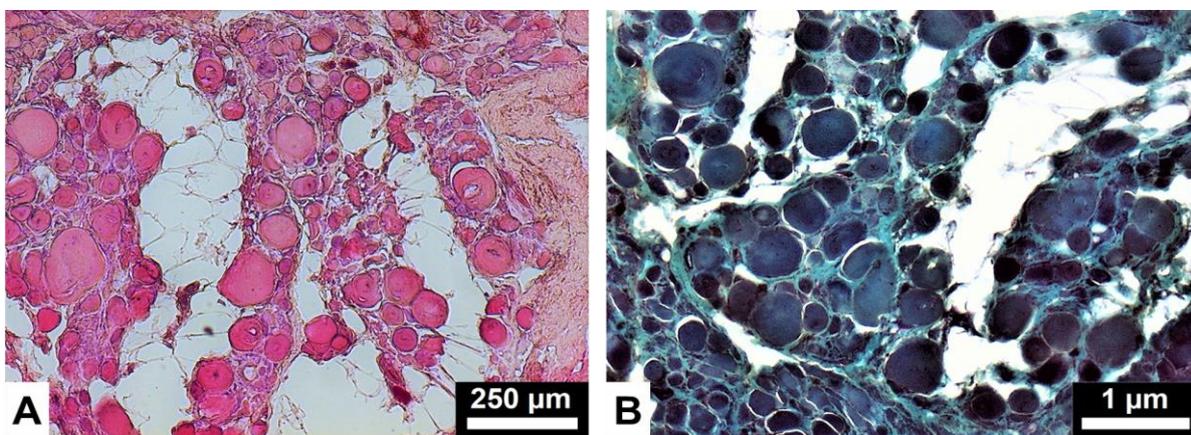


Figura 32. Corte transversal de músculo estriado esquelético. En A podemos observar un segmento de músculo deltoides con un mayor grado de deterioro. Ya no hay arquitectura fascicular y hay sustitución de tejido muscular por tejido fibro-adiposo. Hay diferencia en la forma y tamaño de las fibras y algunas presentan vacuolas. En B, se observan un importante número de fibras en regeneración y tejido conectivo endomisial. Tinciones: A. Hematoxilina-Eosina (40x), B. Tricrómico Modificado de Gomori (100x).

7.2. Cortes Semifinos

Con los cortes semifinos se debe seleccionar una parte más específica de la muestra. El campo visual que obtenemos en la muestra es más corto para la microscopia electrónica. En las muestras procesadas se destaca la diferencia en forma y tamaño de la fibra muscular. La internalización y centralización nuclear además de inflamación y tejido fibro-adiposo.

7.3. Ultraestructura

7.3.1. Sarcolema y Línea Z

Tras la observación de cortes ultrafinos en el microscopio electrónico de transmisión, se encontraron alteraciones en la fibra muscular.

El sarcolema tiene como funciones principales comunicar a la fibra muscular con la matriz extracelular, da protección y las proteínas transmembranales la unen con el aparato contráctil. El sarcolema de las fibras musculares distróficas presenta alteraciones (figura 33), así como posibles rupturas. Además, la lámina basal se encuentra desprendida de este.

En el endomisio de una fibra muscular sana, se observan los diversos organelos que posee la fibra muscular. En la figura 33 resalta la acumulación de tejido conectivo y diversos agregados en el sarcolema. Es difícil distinguir algún otro organelo debido al daño en la fibra. También se observaron células satélite en la periferia de las fibras.

De igual forma, en el sarcoplasma de la fibra muscular se observan espacios con acúmulos moleculares, esto sugiere daño en las miofibrillas.

La línea o disco Z forma parte del sarcómero que es la unidad funcional del músculo esquelético. En las muestras observadas, la línea Z presenta irregularidades, si observamos los acercamientos, podemos distinguir que ya no hay una continuidad de estos. Señalando un daño en el aparato contractil. (figura 34)

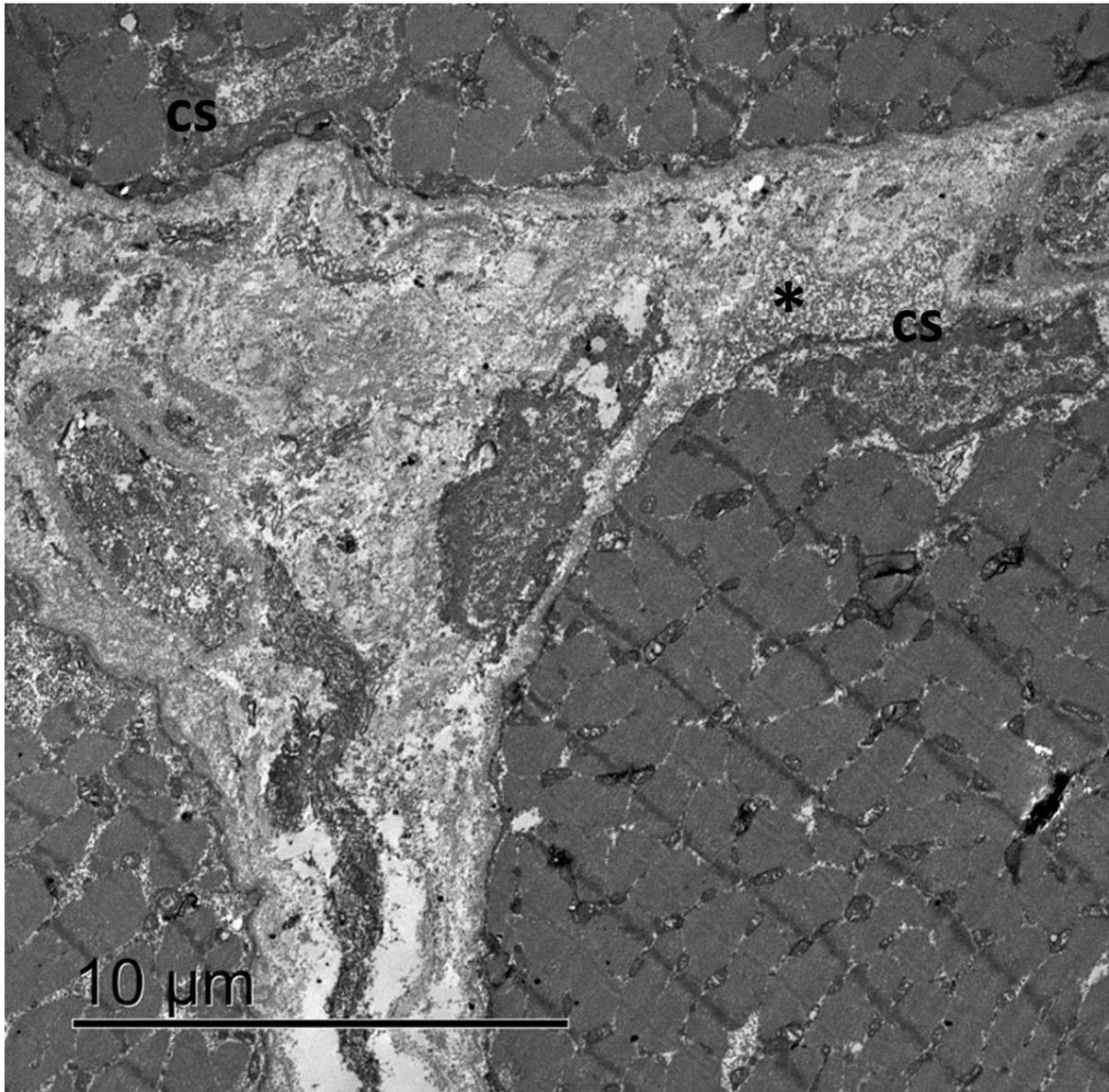


Figura 33. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. Podemos observar fibras musculares y el sarcoplasma con abundante tejido conectivo. El sarcolema se observa con alteraciones (asterisco). Las discos Z pierden su continuidad. Además, se observa la presencia de células satélite (cs) cerca de la lámina basal de la fibra muscular. 800x.

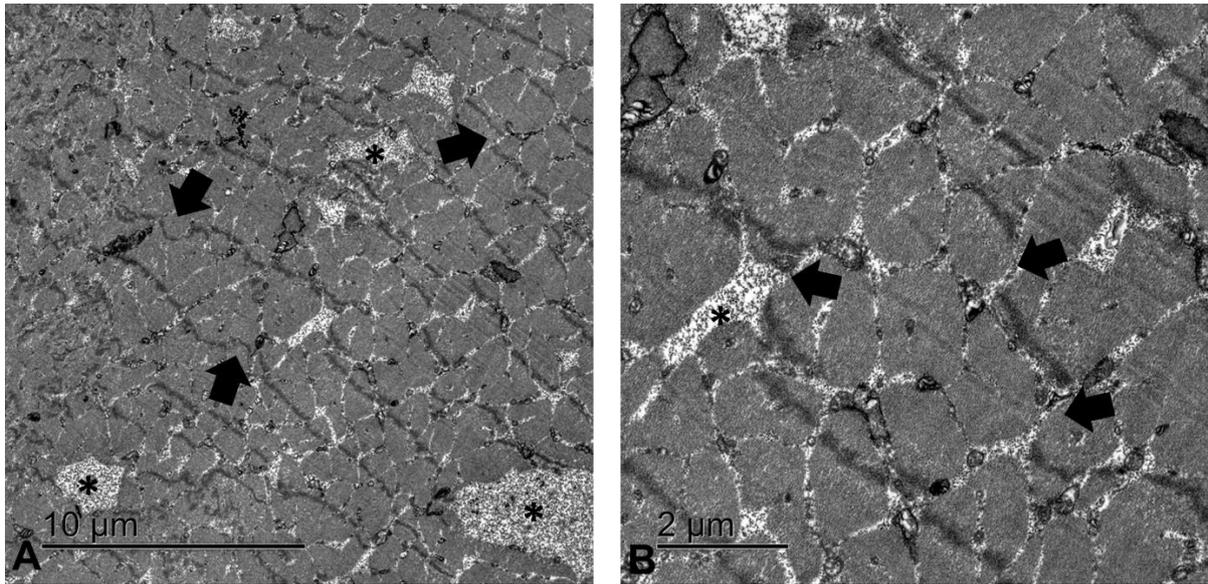


Figura 34. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. A. Los discos Z de la fibra muscular ya no se encuentran en línea recta (flecha) y entre las miofibrillas hay espacios donde se observan acúmulos granulares (asterisco). B. Se puede observar que los discos Z han perdido su continuidad (flecha). A: 800x. B: 2000x.

7.3.2. Mitocondrias y Vacuolas.

La mitocondria es uno de los organelos fundamentales para la función de cualquier célula. En músculo esquelético, las mitocondrias se encuentran rodeando la miofibrilla y tienen una forma ovoide, posee una doble membrana y de una de ellas se forman las crestas.

Las mitocondrias que se observaron en pacientes con distrofia muscular presentan deformidad y se distingue desde una vista panorámica (figura 34). Al hacer una acercamiento, podemos observar que este organelo ha perdido su forma original. Algunas son más alargadas, redondas y varían en tamaño. También hay algunas que han perdido sus crestas (figura 35).

Las vacuolas bordeadas y no bordeadas que se observaron en la microscopía óptica se pueden observar dentro de la fibra muscular como pequeños huecos con filamentos dentro de la miofibrilla (figura 35).

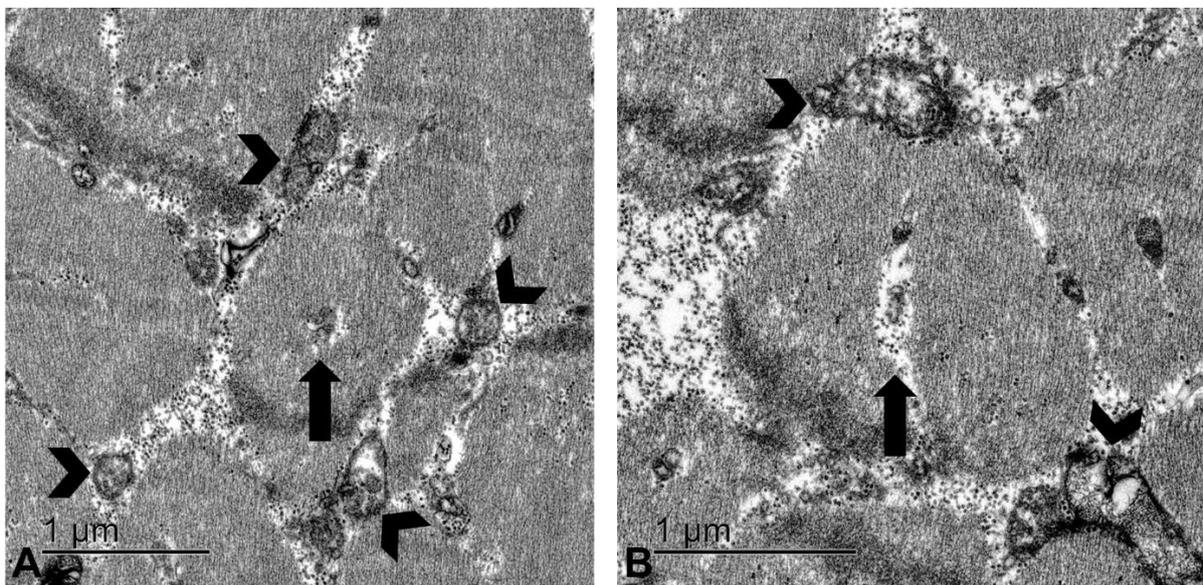


Figura 35. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. En A y B podemos observar las miofibrillas rodeadas por mitocondrias que han perdido su forma normal y algunas de ellas han perdido sus crestas (punta de flecha). En el centro de la miofibrillas observamos las vacuolas bordeadas (flecha). A: 5000x B: 6000x.

7.3.3. Células Satélite y Macrófagos.

Las células satélite tienen una gran importancia dentro de la fisiología y regeneración del músculo esquelético. Se pueden identificar por la posición entre la membrana y lamina basal, su escaso citoplasma y la forma que poseen.

En las figuras 36 se logra capturar la presencia de las células satélite en estrecha unión con la fibra muscular. Algunas se encontraban alteradas y su citoplasma presenta muy electrodensos. En otras se lograba distinguir el citoplasma y su núcleo (figura 38).

Como mencionamos anteriormente, es difícil distinguir otros organelos debido al daño en la fibra muscular. En los acercamientos, se distinguen células que participan en la respuesta inflamatoria como los macrófagos. De igual forma, algunas huellas de mitocondrias y retículo sarcoplasmático (figura 38).

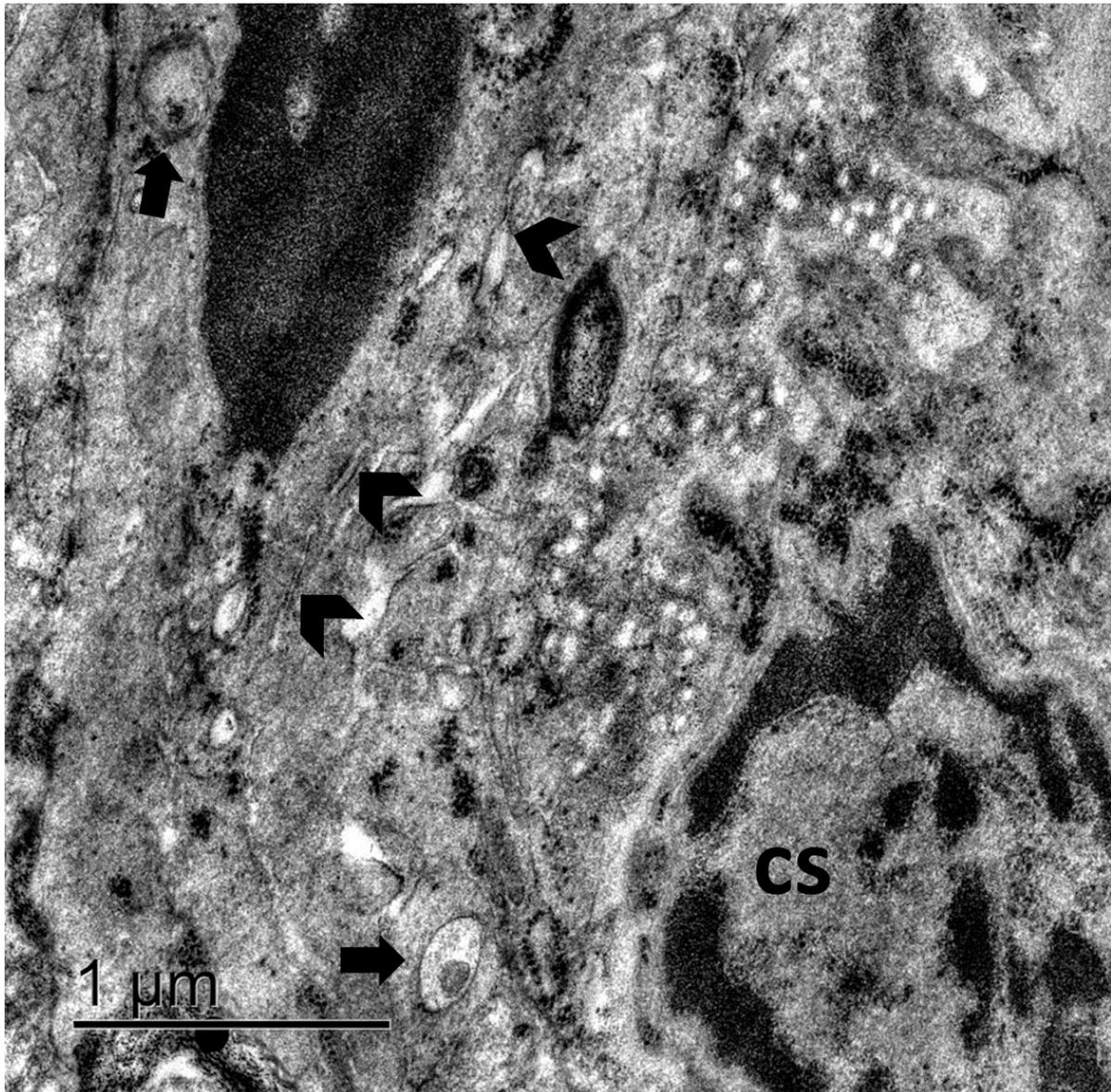


Figura 36. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. En el sarcoplasma de la fibra muscular se pueden observar diversas células y vestigios de algunos organelos como el retículo sarcoplasmático (punta de flecha). También observan algunos macrófagos (flecha) y parte de una célula satélite (cs). 5000x.

7.3.4. Lisosomas y Gránulos de Lipofuscina.

Los lisosomas son organelos membranosos esféricos que participan en la digestión celular. En las muestras, se pudieron observar la presencia de lisosomas. En algunos casos, los lisosomas se observaban electrodensos y en otras ocasiones se encontraban vacíos. Estos se encontraban rodeados de fibras de colágeno (figura 37).

Junto a los lisosomas, se observaron gránulos electrodensos (figura 38), al hacer un acercamiento se observaron acúmulos de lipofuscina en la periferia de la fibra muscular (figura39).

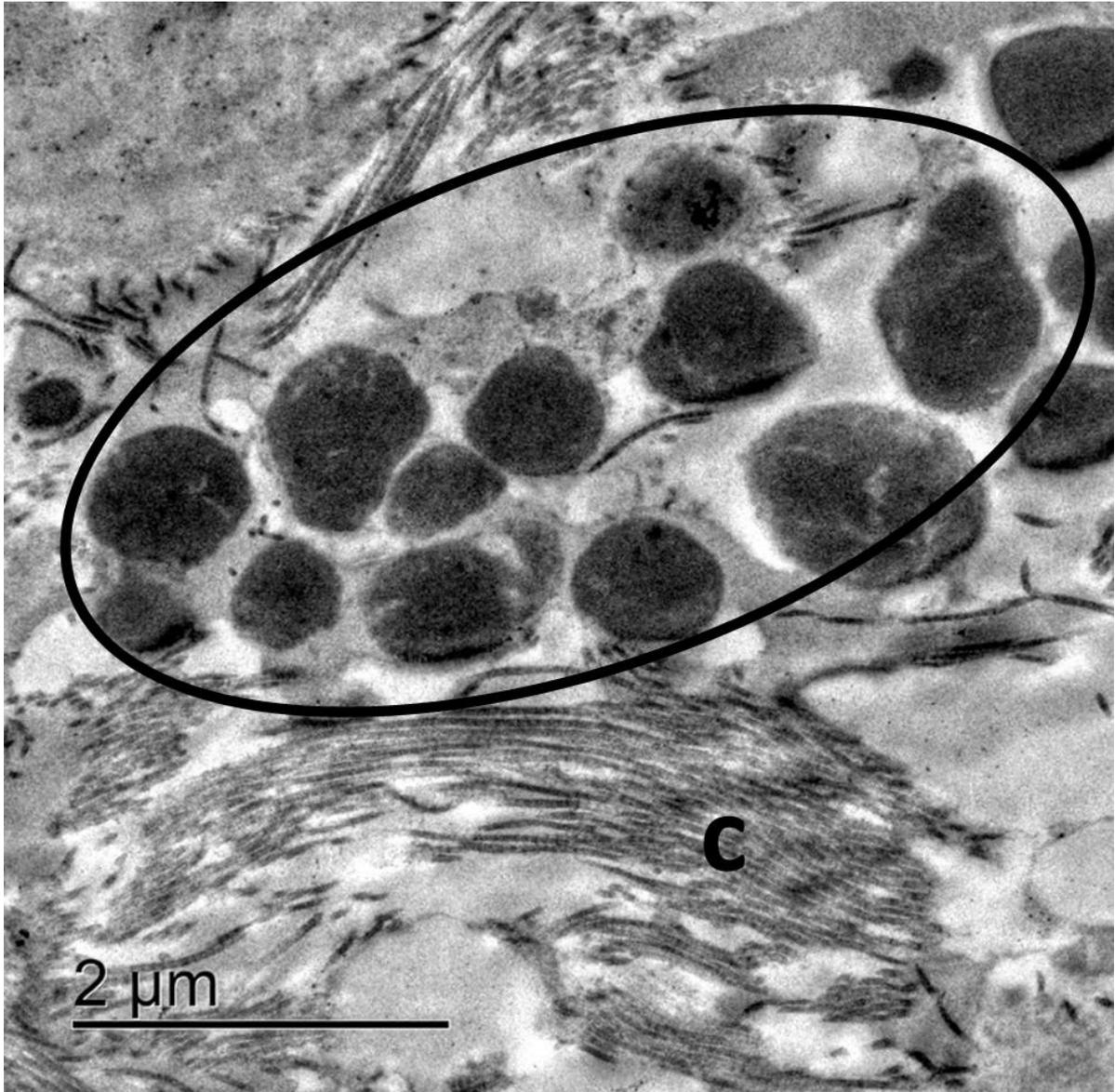


Figura 37. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. En esta imagen podemos observar que en el sarcoplasma de la fibra muscular hay un grupo de lisosomas electrodensos (óvalo) y fibras de colágeno (c). 3000x.

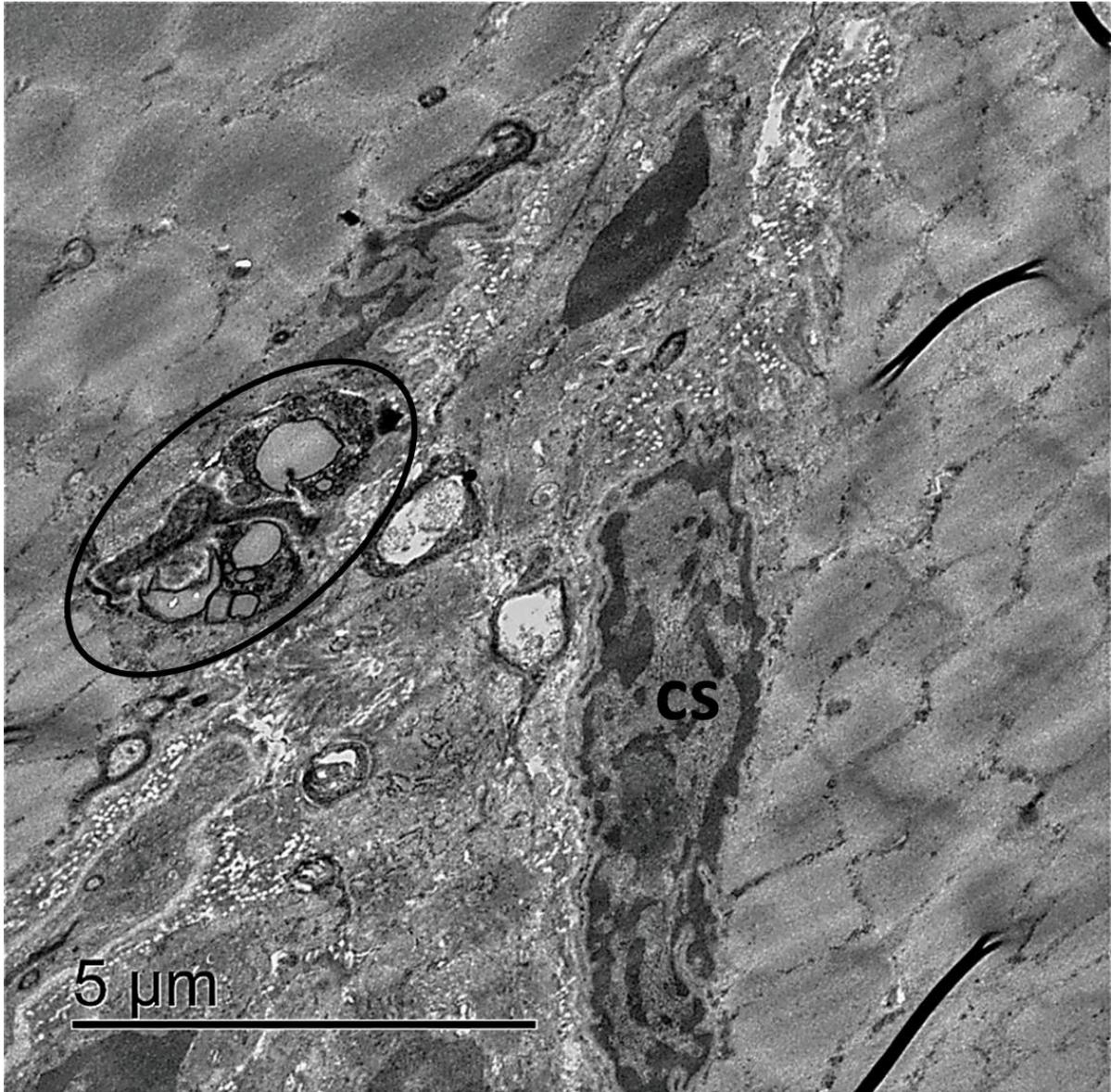


Figura 38. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. Cerca de las fibras musculares, se encontraron lisosomas (óvalo), los cuales estaban en grupo o separados a lo largo del sarcoplasma. En esta imagen también se pudo observar una célula satélite (cs). 1500x.

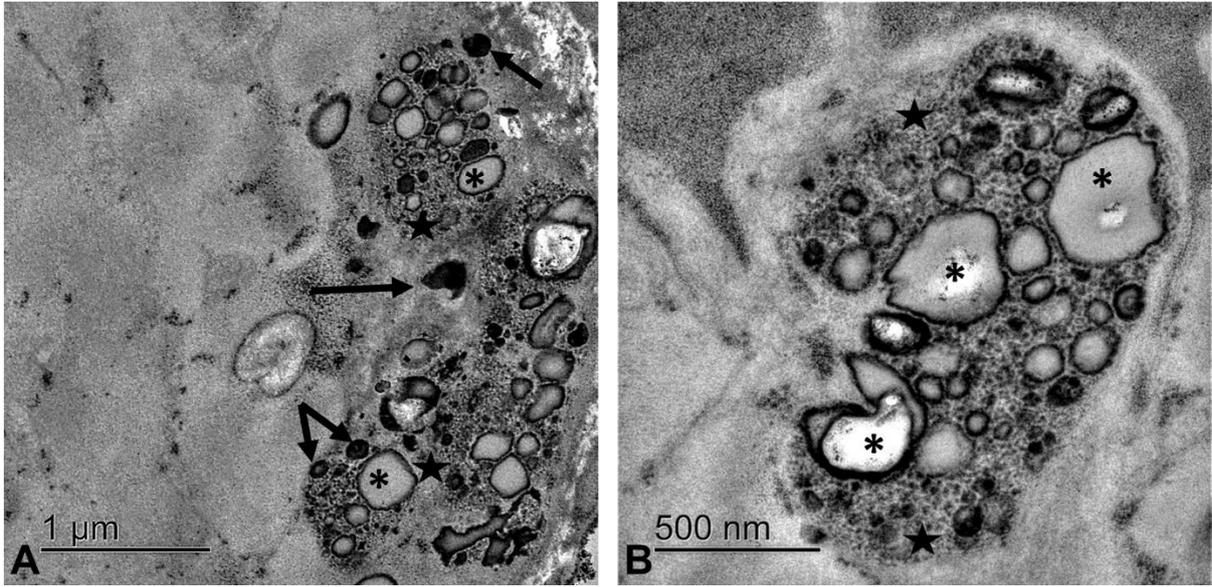


Figura 39. Micrografía electrónica de corte transversal de músculo esquelético. Cerca de las miofibrillas se observó un acumulo de lisosomas (asterisco) y gránulos de lipofuscina (estrella). Algunos lisosomas son más electrodensos que otros (flecha). A: 5000x. B: 10000x.

8. DISCUSIÓN

8.1. Biopsia Muscular

En los últimos años, la genética y la inmunohistoquímica han construido las bases para mejorar el entendimiento y diagnóstico de las enfermedades neuromusculares. Gracias al avance en el conocimiento de estas enfermedades, se ha podido definir características histopatológicas lo cual precisa, orienta o modifica el diagnóstico de las distrofias musculares. El diagnóstico de las enfermedades neuromusculares es multidisciplinario y la biopsia muscular forma parte del grupo de técnicas para hacer más preciso el diagnóstico (Quijano-Roy & Gómez-García De La Banda, 2018; Suárez & Araya, 2018).

En el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, la biopsia muscular se realiza para confirmar la sospecha clínica y determinar el tipo de distrofia muscular que presenta el paciente. Los médicos realizan una exploración física, examinan los niveles de creatinfosfoquinasa (CK o CPK) y el electromiograma para así ordenar la biopsia muscular. Esto concuerda con la revisión realizada por Ridaura-Sanz en el 2008 donde menciona el uso de la biopsia muscular en el diagnóstico pediátrico de distrofias musculares se sugiere la exploración física, los estudios clínicos y el electromiograma. De igual forma, utilizan las mismas técnicas, tanto de procesamiento como de tinción para reportar los hallazgos histopatológicos. Con base en los resultados de los estudios antes citados, se define que tipo de distrofia muscular presenta el infante.

8.2. Diagnóstico de las Distrofias Musculares

Como se mencionó anteriormente, la biopsia muscular por sí sola no puede utilizarse para dar un diagnóstico completo de la enfermedad, existen otros métodos para sustentar los hallazgos histopatológicos. En el INNN se realizan técnicas de inmunofluorescencia y pruebas genéticas para determinar qué tipo de proteína es la deficiente o ausente. En este estudio no se realizaron estas técnicas, sin embargo, se espera que en un futuro este trabajo se pueda complementar.

De acuerdo con los trabajos donde se realizó la identificación de DM, a nivel histológico se realizaron técnicas de inmunohistoquímica para observar la ausencia o deficiencia de la proteína afectada y para realizar un análisis mutacional más específico se realiza el estudio genético Western-Blot (Mhatre et al., 2021; Larson et al., 2018). Resaltando la importancia de estas dos técnicas; con un cuadro clínico que indica la sospecha de alguna DM y las pruebas genéticas negativas, la inmunohistoquímica y el Western-Blot confirman la sospecha de distrofia muscular (Xu C y colaboradores en el 2018).

En este trabajo sólo se llevó a cabo el análisis histológico y las técnicas de rutina. Al respecto, diversos autores han señalado que, para el diagnóstico final de las enfermedades neuromusculares, la histología es de suma importancia. Por otra parte, se debe tener un amplio conocimiento de dichos padecimientos además de contar con un grupo de especialistas en el manejo de las técnicas e interpretación de los resultados. De lo contrario, el diagnóstico de las enfermedades neuromusculares puede ser complicado y/o erróneo (Grenho-Rodrigues et al., 2021).

Se han reportado casos en el INNN de varias distrofias musculares que presentan un curso clínico similar entre ellas, incluso al de otras enfermedades neuromusculares. Por otra parte, existen pacientes con sospecha de DM que han sido erróneamente diagnosticados debido al amplio espectro clínico y a las manifestaciones inespecíficas que presentan las DM. Teniendo en cuenta lo anterior, las alteraciones histopatológicas proporcionan información útil para el diagnóstico de los casos con diagnósticos diferenciales

amplios. Esto es señalado por Nilipour en el 2019 en su revisión bibliográfica sobre la importancia de la biopsia muscular en el diagnóstico de las enfermedades neuromusculares. Menciona que estas enfermedades cuentan con un amplio espectro ya que la mutación en un gen puede expresar diferentes formas de enfermedad. Igualmente, existen mutaciones en diferentes genes que muestran diferentes patrones de herencia. Las pruebas genéticas como único método para el diagnóstico de las enfermedades neuromusculares no cubre algunos factores como los son las nuevas enfermedades, nuevos genes y los casos esporádicos. También enfatiza la importancia de contar con un buen equipo de especialistas, neuropatólogos, miopatólogos y neurocirujanos para un diagnóstico certero.

Dentro de este trabajo se encuentran pacientes pediátricos que presentaban características clínicas claras referentes a DM. Una de las distrofias más comunes en infantes es la Duchenne-Becker y normalmente el diagnóstico es mediante pruebas genéticas (Nascimento-Osorio et al., 2019). Los hallazgos encontrados en la biopsia muscular fueron distróficos como: diferencia en forma y tamaño de la fibra, tejido conectivo perimisial y endomisial, entre otros. Esto ayudó al diagnóstico de estos pacientes con sospecha de distrofia muscular que presentaban pruebas genéticas negativas mientras que la muestra muscular arrojaba patrones miopáticos. Se han detectado nuevas mutaciones en los genes que no son detectadas en las pruebas genéticas. Comúnmente se analizan 79 exones del gen distrofina para Duchenne, pero en ocasiones las pruebas genéticas no son lo suficientemente sensibles para la detección de nuevas alteraciones en el gen (Cabezudo-García et al., 2015).

En el caso de los pacientes adultos con resultado genético negativo o sin pruebas genéticas, se les realizó la biopsia muscular y la técnica histológica encontrando en las muestras un patrón distrófico en el músculo esquelético. En el trabajo realizado por Siddiqui y colaboradores en el 2019, mencionan que al existir una fuerte sospecha clínica tras la evaluación física del paciente y tomando en cuenta los resultados de los estudios de gabinete, los resultados histopatológicos e inmunohistoquímicos, se puede confirmar el diagnóstico inicial. Posteriormente, se realizan los estudios genéticos específicos dado que

los resultados de la biopsia muscular ayudaron a determinar y orientar el tipo de estudio genético que se necesita para confirmar la enfermedad.

Ahora bien, el diagnóstico de las distrofias musculares puede llegar a ser complicado si no se toma en cuenta que estas enfermedades pueden llegar a ser impredecibles a nivel genético y de igual forma, si de primera instancia no se cuenta con el respaldo histopatológico. En el estudio realizado por Lawlor-Sclavo y colaboradores en el 2022 mencionan que cuando se encuentran nuevas mutaciones, el fenotipo de la enfermedad es similar al de otras o cuando en la familia existe la misma enfermedad, pero las mutaciones son diferentes se puede asociar con la heterogeneidad de las distrofias musculares y el diagnóstico debe ser respaldado por la histopatología de la biopsia muscular.

8.3. Técnica Histológica

Los cortes realizados de manera transversal del músculo deltoides y la fijación en fresco ayudaron a visualizar la afectación en la morfología del músculo, encontrando hallazgos histopatológicos específicos de las distrofias musculares. Esto concuerda con Dubowitz, 2013 quien menciona que para conservar la arquitectura del músculo esquelético y realizar las técnicas histológicas, enzimáticas y de inmunofluorescencia es ideal congelar la muestra en isopentano. Además, la orientación transversal del músculo esquelético proporcionará más información en cuanto a la morfología y estado de las fibras que una orientación longitudinal.

Para la evaluación histológica, las tinciones fueron Hematoxilina-Eosina y Tricrómico modificado de Gomori. Dichas técnicas son ideales para la observación de la morfología en el caso del H-E y observar si hay presencia de vacuolas bordeadas, tejido conectivo y diferenciar fibras tipo I y tipo II con el T-G (Poza et al., 2017).

8.4. Hallazgos Histopatológicos

En las 57 muestras observadas se encontró pérdida de la arquitectura de la fibra muscular, presencia de necrosis en las fibras musculares, fagocitosis y fibras en regeneración que son ligadas al aumento de tejido fibro-adiposo que reemplaza al tejido muscular (figura 9). La afectación a la morfología de los músculos esqueléticos distróficos se asocia a la falta de presencia de la proteína y se manifiesta con los hallazgos encontrados en las muestras. Esto se debe al déficit o la ausencia de proteínas fundamentales para el buen funcionamiento de la fibra muscular, afectando la integridad y conservación de esta (Quesada-Vargas et al., 2019).

En las 57 muestras se observa cambios en la forma y tamaño de la fibra. Las fibras musculares pueden verse ligeramente alteradas (figura 10 y 12) o completamente distroficas y atroficas (figuras 31, 32). Este hallazgo es uno de los más comunes encontrados en las distrofias musculares (Pellegrino, 2018). El crecimiento anormal y disminución del tamaño de la fibra muscular se encuentran relacionadas con vías de señalizaciones que se activan tras un estímulo externo o alguna enfermedad. Están involucradas una serie de enzimas, proteínas y genes que juegan un papel importante en procesos degenerativos relacionados con las distrofias musculares como son la hipertrofia y atrofia en la fibra muscular. (Latres et al., 2005).

En la atrofia muscular se ha observado un aumento en la degradación de proteínas y disminución en la síntesis de estas. En el caso de la hipertrofia muscular, hay un aumento de síntesis de proteínas y una escasa degradación de las mismas. Los receptores musculares IGF1 (Factor de crecimiento insulínico tipo 1) que se encuentran inactivos, provocan una reducción del número y tamaño de las fibras musculares afectando el crecimiento muscular. Por lo contrario, la sobreexpresión de receptores musculares del mismo tipo favorece el crecimiento de las fibras musculares. Igualmente, se han estudiado las diversas vías de señalización que controlan el crecimiento muscular (Schiaffino et al., 2013).

La internalización nuclear se presentó en 50 pacientes y la centralización nuclear en 48. La migración nuclear estaba presente en la mayoría de las fibras musculares distróficas. En la fibra muscular distrófica se observa un aumento en el número de núcleos (figura 13). La migración nuclear hacia el centro de la fibra ya sea de uno (figura 15) o varios núcleos (figura 16) es una anomalía recurrente en distrofias musculares. Para enfermedades como la distrofia miotónica tipo 1 o enfermedad de Steiner son características específicas para la detección de este tipo de distrofias (Benedikt et al., 2004).

El cómo se posicionan los núcleos de manera normal y correctamente todavía no se conoce completamente. Este proceso se realiza durante la diferenciación, maduración y regeneración. Varias proteínas como la actina y desmina dirigen el núcleo a la periferia de la fibra. Cuando los núcleos se acomodan en una localización incorrecta se puede asociar a las enfermedades musculares ya que se ve afectado el rendimiento muscular. Aún no se sabe si la internalización y centralización nuclear son una causa o una consecuencia de las enfermedades musculares (Jabre et al., 2021).

La presencia anormal de tejido conectivo perimisial estaba presente en todas las muestras y en 54 también se observaba un aumento anormal de tejido conectivo endomisial (figura 18) y/o perimisial (figura 19). A este hallazgo se le denomina fibrosis, fenómeno que desata un aumento de células inflamatorias, colágeno, fibronectina y otras proteínas de la matriz extracelular. En enfermedades crónicas, la fibrosis es un hallazgo común. Las distrofias musculares son enfermedades crónico-degenerativas, por lo que el aumento de tejido conectivo y sustitución de fibras musculares por este tejido es una de sus características. En el músculo esquelético, los factores de crecimiento y citoquinas activan los procesos inducen la fibrosis entre ellos la producción excesiva de matriz extracelular generada por los fibroblastos (Piñol-Jurado, 2019; Ismaeel et al., 2019).

Las fibras en regeneración se encontraban presentes en algunas biopsias musculares. Dichas fibras se podían observar entre las fibras hipertróficas y atroficas (figura

12) o en gran cantidad dentro del fascículo (figura 20). La presencia de fibras en regeneración en un músculo dañado es común ya que existe un grupo de células encargadas en la regeneración muscular, entre ellas las células satélite. Dichas células activan factores de crecimiento, producción de enzimas y demás procesos para reconstruir el tejido muscular dañado (Judson et al., 2013; Klimczak et al., 2018).

Sin embargo, en las distrofias musculares, la integridad de las fibras musculares se encuentra comprometida por el defecto molecular, causando la degeneración de estas. Los ciclos de regeneración y degeneración se repiten indefinidamente ocasionando una sobreproducción de tejido conectivo. Asimismo, la plasticidad de las células de regeneración se ve afectada por la expresión de factores de crecimiento que en estos casos no ayuda a la mejora del músculo esquelético, sino que contribuye al aumento de tejido conectivo como se observa en la figura 31. Esto a su vez, provoca la disminución de masa y las fibras musculares comienzan a degenerarse. Finalmente, la recuperación del músculo esquelético dañado no se logra concluir, aunque exista un grupo significativo de células musculares en regeneración (Piñol-Jurado, 2019; Pessina et al., 2015).

La cantidad de fibras en regeneración variaba en las muestras observadas. Como se mencionó anteriormente, en ocasiones se observan pocas fibras en regeneración y en otras ocasiones eran muy abundantes dentro del fascículo muscular. Se ha comparado el nivel de regeneración en distrofias facioescapulohumeral, miotónica tipo 2 y la Duchenne teniendo fisiopatologías, progresión e inicio de enfermedad diferentes entre sí. En los tres tipos de distrofia hay expresiones génicas relacionadas con la miogénesis. Sin embargo, dependerá del fenotipo de la enfermedad, la cantidad de fibras en regeneración que se formen en el músculo afectado y de igual forma, el cómo se va dando el desgaste del músculo esquelético (Banerji et al., 2020).

En las muestras de deltoides más afectadas se observa una severa necrosis en una cantidad significativa de fibras musculares. Se caracterizaban por estar rodeadas de tejido inflamatorio (figura 22) o estar menos teñidas que las otras fibras (figura 21). De igual forma,

se observan fibras fracturadas (figura 25) con presencia de células inflamatorias. A lo largo de los años se han realizado diversas investigaciones en torno al cuál es el factor inicial de la necrosis en las distrofias musculares. Se han expuesto diferentes hipótesis para explicar este fenómeno como el daño en el aparato contráctil por la deficiencia de distrofina, la homeostasis de calcio, la respuesta inmune e inflamación y los factores de regeneración; finalmente, cualquiera de las hipótesis menciona un desequilibrio en la fisiología de la fibra muscular ocasionando muerte celular (Deconinck & Dan, 2007).

Se ha observado que citocinas y factores de necrosis tumoral se encuentran en cantidades significativas en pacientes con distrofia muscular de Duchenne. Las células inflamatorias son la fuente principal de los componentes mencionados para hacer crónica la respuesta inflamatoria. Además, el factor de crecimiento tumoral participa en procesos apoptóticos activando diferentes vías de señalización para este evento (De Paepe & De Bleecker, 2013).

En el caso de la relación entre la necrosis y el calcio, se han observado varias opciones para la explicación de la necrosis en músculos distróficos. Ya sea por un defecto en los receptores de rianopiridina, la bomba SERCA o en los poros de la membrana mitocondrial. También se mencionan posibles alteraciones en el acople excitación-contracción y en la recaptura de calcio por el retículo sarcoplasmático. Ya sea por una sobrecarga o una mala captura de calcio en las fibras musculares, se logra explicar la serie de eventos que producen necrosis en la distrofia muscular (Burr & Molkentin, 2015).

En muestras con mayor afectación muscular, la inflamación era notoria observándose en el perimisio, endomisio y rodeando las fibras musculares comprometidas o en necrosis, podría estar focalizada (figuras 23, 24) o difusa (figura 27). Los macrófagos predominaban dentro de las células inflamatorias como lo observamos en la figura 17. Esto concuerda con lo analizado por Sewry, los macrófagos son las células que predominan en esta respuesta inflamatoria en las DM, también pueden estar presentes otros tipos de células inflamatorias, pero dependerá del tipo de distrofia muscular.

Añadiendo a lo anterior, la aparición de células inflamatorias es una respuesta iniciada por la necrosis en el músculo distrófico. La inestabilidad del sarcolema de la célula muscular en degeneración permite la entrada excesiva de calcio a la célula e induce la muerte celular. Esto activa la respuesta inflamatoria que es regulada por proteínas, enzimas y receptores y llega a través de los vasos sanguíneos hasta las células musculares dañadas (De Paepe & De Bleecker, 2013).

En 20 muestras se observaron vacuolas en las fibras musculares (figura 28). El T-G nos ayudó a visualizar si las vacuolas observadas eran bordeadas ya que se el borde de esta se tiñe de rojo como se observa en el apartado E de la figura 28. El diámetro de la vacuola variaba dependiendo del grado de deterioro de la fibra muscular. La coloración rojiza que adquiere el borde de la vacuola se debe a los verticilos membranosos que son basófilos. La aparición de vacuolas en diversos grados se ven en diversos tipos de distrofias musculares como la distrofia muscular oculofaríngea, de cinturas (LGMD), la facioescapulohumeral, la de Duchenne, Emery-Dreifuss (Sewry, 2010; Dubrovsky et al., 2009; Serrano, 2015).

La presencia de tejido fibro-adiposo se observó en pocas muestras. En algunas ocasiones se encontraba en menor cantidad entre los fascículos musculares (figura 29, 30). En los casos más severos, el tejido fibro-adiposo remplazaba al tejido muscular y no se observaba la arquitectura fascicular (figura 31, 32). Esto concuerda con los resultados del estudio realizado por Ripolone y colaboradores, tras el análisis de 45 pacientes con sospecha de distrofia muscular se observaron patrones distróficos, en casos más severos la sustitución de tejido conectivo. De igual forma, se cuantificó el tejido adiposo y el tejido conectivo en las muestras encontrando una diferencia entre los controles y los pacientes con DM.

Se ha estudiado cómo se activan las células que aumentan el tejido fibro-adiposo en el músculo esquelético tanto de humano como en ratón. En condiciones favorables, las

células progenitoras fibroadipogénicas se pueden diferenciar en células adiposas y si está en contacto con factor de crecimiento, se pueden diferenciar en células fibrogénicas. Los encargados de regular estas células progenitoras son un conjunto de vías de señalización, factores de crecimiento y genes. En pacientes con distrofia muscular, estos componentes provocan una acumulación excesiva de tejido fibro-adiposo que le traerá problemas al músculo esquelético en su función, locomoción e integridad (Moratal et al., 2019).

No se encontró un solo tipo de hallazgo en las biopsias musculares, dependía de la severidad de la enfermedad para que la presencia de un hallazgo predomina más que otro, pero siempre se observaba un conjunto de hallazgos en el tejido muscular. Esto ayudó a diferenciar la distrofia muscular de otras enfermedades neuromusculares. Como se menciona en el trabajo de Kolbel y colaboradores, existe una relación entre la respuesta inflamatoria, la fibrosis y la regeneración. En pacientes con distrofia muscular LGMDR9, ciertos macrófagos son productores de factores de crecimiento que contribuyen al aumento de tejido conectivo. También se observó que un grupo específico de macrófagos se encontraba rodeando a las fibras en regeneración creando un microambiente hostil, por lo tanto, comprometía el resultado regenerativo. Con respecto a la respuesta inmune entre la distrofia muscular de Duchenne y la LGMDR9 se observaron que tienen una misma composición celular de los infiltrados inflamatorios pero diferentes proteínas expresadas. Esto puede ser la razón por la que vemos distintos grados de inflamación y fibrosis entre los diferentes tipos de distrofia muscular.

8.5. Hallazgos Ultraestructurales

Cómo se menciona anteriormente, el diagnóstico de las distrofias musculares es una tarea multidisciplinaria. Las principales técnicas que se realizan son: tinciones histológicas, inmunofluorescencia, pruebas genéticas. La microscopía electrónica de transmisión no es necesaria para dar un diagnóstico final, sin embargo, para la investigación y fines educativos podemos ilustrar de mejor manera el daño a nivel ultraestructural en la fibra muscular.

En el caso del sarcolema de las fibras musculares distróficas podemos observar algunas alteraciones en su forma (figura 33). En las imágenes se puede observar que la membrana se encuentra separada de la lámina basal. De igual forma, se observa que pegado al sarcolema, hay infiltraciones o daño en las miofibrillas. Diversas investigaciones recalcan la importancia de las proteínas de membrana y estructurales que se ven afectadas por las mutaciones que provocan la ausencia o deficiencia de dichas proteínas.

El complejo distrofina-glicoproteína (DGC) son las comúnmente afectadas en las distrofias musculares. Una de las proteínas del DGC son los distroglicanos. Su función no sólo se limita a conectar la matriz extracelular con el citoesqueleto; conecta el sarcolema con el citoesqueleto de la actina, se han descrito diversas asociaciones con otras proteínas, lo cual le da la característica de un receptor. También, se encuentra involucrado en el ensamblaje y mantenimiento de las membranas basales, participan en las vías de transducción de señales y en el mantenimiento de la unión neuromuscular.

Las aberraciones en la vía O-glicosilación de los distroglicanos provocan la deficiencia o ausencia de estos en la fibra muscular. Esto ha sido estudiado en músculos de humanos y modelos murinos asociándose a enfermedades neuromusculares como la distrofia muscular de Duchenne y las distrofias de cinturas; en estas investigaciones se ha visto comprometida la estabilidad de la membrana y el aparato contráctil. (Cohn, 2005; Barresi & Campbell, 2006).

En investigaciones sobre la distrofina, además de ser una proteína esencial en el sarcolema, se le ha asociado con otras proteínas e involucrado en el mantenimiento de la arquitectura de la unión neuromuscular y en la homeostasis muscular. Los defectos genéticos al codificar dicha proteína provocan los tipos de distrofias más comunes entre infantes, distrofia muscular de Duchenne-Becker. La ausencia o deficiencia de distrofina conduce a la desestabilización del sarcolema y la activación de numerosos procesos fisiopatológicos. Uno de ellos se ha observado al momento de la contracción muscular, donde la fragilidad de la membrana facilita la ruptura e inicia la degradación de la fibra muscular como lo vemos en la figura (Blake et al., 2002; Dubrovsky et al., 2009).

El musculo esquelético tiene varias opciones para reparar algún daño en las fibras musculares. La disferlina es una proteína con dominios sensibles al calcio que se le asocia a la reparación del sarcolema. Sin embargo, se ha comprobado su participación después del estrés celular regulando la entrada de calcio. En investigaciones sobre esta proteína, por medio de inmunofluorescencia y mediciones de pH, demuestran la relación que tiene la disferlina con los túbulos transversos y la homeostasis de calcio. Cuando existe un déficit de dicha proteína, no hay reparación en el sarcolema, ya que modula las proteínas de reparación de membrana. De igual forma, cuando hay estrés mecánico agudo se interrumpe la homeostasis del calcio lo que provoca daño en la membrana del túbulo t y desequilibrio en los niveles de este (Kerr et al., 2014; Waddell et al., 2011).

Los discos Z de las muestras analizadas se observaban deformes y con discontinuidad (figura 34). Las alteraciones en las diferentes bandas del aparato contráctil se han asociado a la deficiencia de proteínas como las del complejo distrofina-glicoproteína y las integrinas. En el caso de la distrofina, se ha planteado que la disfunción de la distrofina, afecta la capacidad de amortiguación de la fuerza que viene de la contracción muscular y se ve reflejado principalmente en las miofibrillas y en el sarcolema. Por otro lado, las integrinas, junto con otras proteínas de la fibra muscular, intervienen en la señalización y transmisión de señales al momento de la contracción muscular. En pacientes con

enfermedades neuromusculares se ha observado una disminución de estas proteínas, lo que explica el desgaste de las miofibrillas (Lynch, 2004; Anastasi et al., 2008).

Las mitocondrias que se observaron rodeando las miofibrillas (figuras 34), han perdido su forma original, su tamaño es variable y algunas han perdido sus crestas (figura 35). Esto concuerda con los resultados de Turki y colaboradores en el 2012, en donde obtuvieron biopsias musculares de pacientes con distrofia facioescapulohumeral y se sometieron a técnicas histológicas, enzimáticas y ultraestructurales. Se observó mitocondrias en grupos, deformaciones en las crestas y separación de las membranas. Las reacciones enzimáticas indicaron una disminución de la actividad citocromo c oxidasa y síntesis de ATP.

De igual forma, en el caso de otro tipo de miopatías se observa daño mitocondrial se han realizado cortes histológicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales a pacientes con miopatías relacionadas con colágeno IV se encontró disfunción mitocondrial y alteraciones en su estructura (Tagliavini et al., 2014).

Por otro lado, se sugiere que el daño mitocondrial en enfermedades neuromusculares se ha descrito como un algo secundario, consecuencia del daño en la fibra muscular. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son parte de alto consumo mitocondrial que realiza el músculo esquelético. Los músculos normales tienen capacidad amortiguadora para equilibrar estas especies reactivas; en músculos distróficos, la deficiencia de proteínas lo hace más susceptible a los daños causados por ROS y puede acelerar la progresión de diversas enfermedades neuromusculares (Mosca et al., 2021).

En la electrónica se pudieron observar las vacuolas bordeadas que caracterizan a algunos tipos de distrofias (figura 35). Dependerá del tipo de distrofia muscular si la vacuola es bordeada o lineal, son de carácter autofágico y se relacionan con diversos trastornos neuromusculares. En el caso de las vacuolas bordeadas, son vacuolas autofagocíticas con proteína amiloide y una alta actividad de fosfatasa ácida. En la distrofia oculofaríngea se

pueden encontrar este tipo de vacuolas y el diámetro de sus filamentos medirán aproximadamente 8.5 nm, a diferencia de los que se ven en las miositis por cuerpos de inclusión que son de 16 a 18 nm de diámetro (Dubrovsky et al, 2009; Tomé & Fardeu, 1994).

En las imágenes panorámicas (figura 33) y acercamientos (figura 36: 37) pudimos observar células satélite alrededor de las fibras musculares. Se podía observar en la periferia o muy cerca de las miofibrillas. Por la diferente localización de las células satélite, se sugiere que dichas células se pueden mover dentro de la fibra muscular para llevar a cabo la regeneración. Esto concuerda con lo mencionado por Bischoff en 1994 donde se describe que las células satélite se activan durante la regeneración causada por alguna lesión y pueden migrar grandes distancias dentro del músculo. Sin embargo, también se observó en la figura que había células satélite alteradas. Esta anomalía coincide con los resultados de Ganassi y colaboradores, donde mencionan que en la distrofia de cinturas LGMDR1, el defecto en el gen CAPN3 causa una deficiencia de calpaína 3 provocando una alteración en la función de las células satélite en la regeneración del músculo esquelético.

Entre las fibras musculares se logró localizar algunas células inflamatorias que se vieron en la microscopía óptica (figura 36). Se observaron macrófagos que encontraban entre las fibras musculares dañadas cerca del sarcolema. Si bien los macrófagos juegan un papel importante en la regeneración muscular, en el caso de las distrofias musculares ha sido contraproducente ya que se ve afectada la función de estas células cuando se padece algún tipo de distrofia (Theret et al., 2022).

Una de las posibles causas de la acumulación de células inflamatorias en las distrofias musculares son las especies reactivas de oxígeno. Al encontrarse en desequilibrio la homeostasis de ROS, la vía directa que desencadena la inflamación (NF- κ B) se enciende y las células inmunitarias y/o los tejidos musculares dañados producen citocinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Mosca et al, 2021).

Entre las fibras musculares, destacó la presencia de lisosomas. Estos se encontraban entre las fibras musculares (figura). Algunos se encontraban en grupos, otros asociados a los gránulos de lipofuscina (figura). La presencia de estos organelos se asocia al daño en el músculo provocado por las distrofias musculares. Los lisosomas pueden secretar sus enzimas cuando hay una respuesta inflamatoria o daño en el tejido. En el tejido muscular normal, no se encuentran regularmente ya que sus enzimas podrían provocar daño en la fibra muscular (Bischoff, 1994).

Por otra parte, los lisosomas son fundamentales para mantener la homeostasis de la célula. En condiciones normales, debe existir un equilibrio en la degradación y síntesis de proteínas, el cual se pierde en las distrofias musculares. Se ha observado que el aumento de la autofagia induce a la atrofia muscular, mientras que la disminución de esta provoca la degeneración y la debilidad muscular. Las ROS, también forman parte de este proceso ya que se ha visto su participación en la regulación de la autofagia y según su equilibrio será beneficioso o perjudicial para el músculo esquelético (Triolo & Hood, 2021; Rodney et al., 2016).

Además de observar lisosomas en grupos, se observó que se encontraban rodeados por un grupo de gránulos de lipofuscina y cerca del sarcolema. Se ha descrito que la lipofuscina es un grupo de residuos de lípidos y proteínas peroxidados y polimerizados, en la microscopía electrónica se observa como material granular altamente electrodensos. Los gránulos de lipofuscina se asocian a las ROS, estos acúmulos se forman debido a la degradación incompleta de material heterofagocitario y/o autofagocitario. Este fenómeno se encuentra relacionado con el estrés oxidativo probado por el envejecimiento muscular. La acumulación de lipofuscina se le ha considerado como un marcador de estrés oxidativo grave, y sea resultado de los daños observado en la mitocondria (Hütter et al, 2007; Alroy & Kolodny, 1994).

9. CONCLUSIONES

Los hallazgos encontrados en las muestras de los 57 pacientes tienen una correlación clínico-patológica dependiendo de la severidad del cuadro clínico.

Se observó que, para el análisis del músculo esquelético distrófico, se debe emplear una fijación en fresco ya que no provoca alteraciones en el músculo por la técnica de procesamiento. El análisis histopatológico realizado en este trabajo ayuda a resaltar la importancia de esta técnica para un diagnóstico completo de las DM. Además, ayuda a dirigir el diagnóstico diferencial y optimiza el diagnóstico molecular para realizar la secuenciación de la proteína afectada. También ayuda a resolver el diagnóstico de casos esporádicos en pacientes con pruebas genéticas negativas.

Para fines diagnósticos, la ultraestructura en distrofias musculares no es necesaria. Sin embargo, con los resultados obtenidos, se observa que hay mucho campo que cubrir, ya que no conocemos a fondo que tipo de alteraciones pueda presentar la fibra muscular. Esto puede variar debido a la heterogeneidad que presentan las distrofias musculares.

De igual forma, ayuda a relacionar y a entender visualmente los eventos moleculares que han sido estudiados en estos últimos años con respecto a los eventos en cadena que provocan el deterioro de la fibra muscular. Las alteraciones observadas tanto a nivel histológico y ultraestructural son reflejo de la deficiencia o ausencia de proteínas.

Se sugiere complementar el estudio con técnicas de inmunofluorescencia y con análisis estadístico para tener un estudio más completo sobre el comportamiento de estas enfermedades raras.

10. REFERENCIAS

- Al-Qusairi, L., & Laporte, J. (2011). T-tubule biogenesis and triad formation in skeletal muscle and implication in human diseases. *Skeletal Muscle*, 1(1), 26.
- Alroy F. & Kolodny A, (1994). Ultrastructural Changes in Diseased Muscle. En *Myology* (2.a ed., Vol. 1, pp. 832–888). McGraw-Hill.
- Anastasi, G., Cutroneo, G., Santoro, G., Arco, A., Rizzo, G., Bramanti, P., Rinaldi, C., Sidoti, A., Amato, A., & Favaloro, A. (2008). Costameric proteins in human skeletal muscle during muscular inactivity. *Journal of Anatomy*, 213(3), 284-295.
- Banerji, C., Henderson, D., Tawil, RN., Zammit, PS. (2020). Skeletal muscle regeneration in facioscapulohumeral muscular dystrophy is correlated with pathological severity, *Human Molecular Genetics*, 29, (16), 2746–2760.
- Banker, B. & Engel, A. (1994). Basic reactions of muscle. En *Myology* (2.a ed., Vol. 1, pp. 832–888). McGraw-Hill.
- Becker, P. E., & Kiener, F. (1955). Eine neue x-chromosomale Muskeldystrophie. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten Vereinigt mit Zeitschrift für die Gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 193(4), 427-448.
- Benedikt, GH., Schoser, MD., Schneider-Gold, C., Wolfram, K., Hans-Hilmar, G., Peter, R., Koch, MC., Pongratz, DE., Toyka, KV., Lochmüller, H., Kenneth, R. (2004). Muscle pathology in 57 patients with myotonic dystrophy type 2. *Muscle Nerve*, 29: 275–281.
- Berger, J., & Tarakci, H. (2016). The sarcoglycan complex in skeletal muscle. *Frontiers in Bioscience*, 21(4), 744–756.
- Blake, DJ., Weir, A., Newey, SE., Davies, KE. (2002). Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol Rev*, 82(2), 291-329.
- Barresi, R., Campbell K. (2006). Dystroglycan: from biosynthesis to pathogenesis of human disease. *J Cell Sci*, 119, 199-207. doi: 10.1242/jcs.02814.
- Billeter, R., Weber, H., Lutz, H., Howald, H., Eppenberger, H. M., & Jenny, E. (1980). Myosin types in human skeletal muscle fibers. *Histochemistry*, 65(3), 249–259.
- Bischoff, R. (1994). The satellite cell and muscle regeneration. En *Myology* (2.a ed., Vol. 1, pp. 97–118). McGraw-Hill.
- Brais, B. (2011). Oculopharyngeal muscular dystrophy. *Handbook of Clinical Neurology*, 181-192.
- Bönnemann, C. G., Wang, C. H., Quijano-Roy, S., Deconinck, N., Bertini, E., Ferreira, A., Muntoni, F., Sewry, C., Bérout, C., Mathews, K. D., Moore, S. A., Bellini, J., Rutkowski, A. y North, K. N. (2014). Diagnostic approach to the congenital muscular dystrophies. *Neuromuscular Disorders*, 24(4), 289-311.

- Burr, A., Molckentin, J. (2015). Genetic evidence in the mouse solidifies the calcium hypothesis of myofiber death in muscular dystrophy. *Cell Death Differ*, 22, 1402–1412.
- Cabezudo-García, P., Moreno-Medinilla, E., Calvo-Medina, R., Mora-Ramírez, M., Martínez-Antón, J. (2015). Distrofia muscular de Duchenne. Presentación atípica y diagnóstico precoz. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 113(3), 149-152.
- Camaño González, P., Fernández-Torrón, R., Lemmers, R., Sacconi, S., Sistiaga Berrondo, A., & López De Manain, A. (2017). Distrofia facioescapulohumeral y síndromes relacionados. En *Manual de enfermedades neuromusculares* (1.a ed., pp. 403–410). Ergon.
- Chen, L., Tang, F., Gao, H., Zhang, X., Li, X., & Xiao, D. (2021). CAPN3: A muscle-specific calpain with an important role in the pathogenesis of diseases (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 48, 203.
- Coral Vázquez, R. M., López Hernández, L. B., Ruano Calderón, L. A., Gómez Díaz, B., Fernández Valverde, F., & Bahena Martínez, E. (2010). Distrofias musculares en México: un enfoque clínico, bioquímico y molecular. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 15(3), 152–160.
- Deconinck, N., Dan, B. (2007). Pathophysiology of Duchenne muscular dystrophy: Current hypotheses. *Pediatr Neurol*, 36,1-7.
- De Freitas, C. E. A.; Freitas, S. B. Z.; Lopes, F. S.; Pai-silva, M. D. & Piçarro, I. C. (2009). Skeletal muscles with antagonistic muscular actions: morphological, contractile and metabolic characteristics. *Int. J. Morphol.*, 27(4):1173-1178.
- De Paepe, B., De Bleecker, J L. (2013). Cytokines and Chemokines as Regulators of Skeletal Muscle Inflammation: Presenting the Case of Duchenne Muscular Dystrophy. *Mediators of Inflammation*. 2013, 1-10.
- Díaz-Manera, J. (2017). Distrofinopatías. En E. Gallardo Vigo (Ed.), *Manual de enfermedades neuromusculares* (1.a ed., pp. 375–386). Ergon.
- Dubrovsky, A., Pirra, L., Mesa, L. (2009). Distrofias Musculares. *Neurología Argentina*, 2, 111-125.
- Dubowitz, V. (2013). Muscular dystrophies and allied disorders V: Facioscapulohumeral, myotonic and oculopharyngeal muscular dystrophy. En *Muscle Biopsy* (4.a ed., pp. 395–405). Saunders Elsevier.
- Dubowitz, V. (2007). Muscular dystrophies and allied disorders II: Limb-girdle muscular dystrophies. En *Muscle Biopsy* (3.a ed., pp. 325–347). Saunders Elsevier.
- Dudek, R. W. (2015). Sistema Muscular. En *Embriología: Serie Revisión de Temas* (6.a ed., pp. 220–225). Lippincott Williams & Wilkins.

- Earle, N. y Bevilacqua, J. A. (2018). Distrofias musculares en el paciente adulto. *Rev. Méd Clínica Las Condes*, 29(6), 599-610.
- Emery, A. E., y Dreifuss, F. E. (1966). Unusual type of benign x-linked muscular dystrophy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 29(4), 338-342.
- Ervasti, J. M., Ohlendieck, K., Kahl, S. D., Gaver, M. G., & Campbell, K. P. (1990). Deficiency of a glycoprotein component of the dystrophin complex in dystrophic muscle. *Nature*, 345(6273), 315–319.
- Forcina, L., Miano, C., Pelosi, L., & Musarò, A. (2019). An Overview About the Biology of Skeletal Muscle Satellite Cells. *Current Genomics*, 20(1), 24–37.
- Franzini-Armstrong, C., & Fischman, D. (1994). Morphogenesis of skeletal muscle fibers. En *Myology* (2.a ed., Vol. 1, pp. 74–96). McGraw-Hill.
- Frontera, W. R. y Ochala, J. (2014). Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Calcified Tissue International*, 96(3), 183-195.
- Fulizio, L., Chiara Nascimbeni, A., Fanin, M., Piluso, G., Politano, L., Nigro, V., & Angelini, C. (2004). Molecular and muscle pathology in a series of caveolinopathy patients. *Human Mutation*, 25(1), 82–89.
- Ganassi M, Zammit PS. (2022). Involvement of muscle satellite cell dysfunction in neuromuscular disorders: Expanding the portfolio of satellite cell-opathies. *Eur J Transl Myol*, 32(1), 10064.
- Gene [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004 – [citado el 22 de noviembre del 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>.
- Gómez-Díaz, B., Rosas-Vargas, H., Roque-Ramírez, B., Meza-Espinoza, P., Ruano-Calderón, L. A., Fernández-Valverde, F., Escalante-Bautista, D., Escobar-Cedillo, R. E., Sánchez-Chapul, L., Vargas-Cañas, S., López-Hernández, L. B., Bahena-Martínez, E., Luna-Angulo, A. B., Canto, P., y Coral-Vázquez, R. M. (2012). Immunodetection analysis of muscular dystrophies in Mexico. *Muscle & Nerve*, 45(3), 338-345.
- Grenho-Rodrigues, S., Silva D., Machado M., Roque R., Pimentel J. (2021). Rendimiento diagnóstico de las biopsias musculares en la población pediátrica: experiencia de un centro terciario. *Rev Neurol*, 72(08), 283-287.
- Guerra-Torres, M., Suárez-Obando, F., García-Roblesa, R., & Ayala-Ramírez, P. (2019). Distrofia Muscular de Duchenne/Becker. *Pediatría*, 52(1), 8-14. <https://doi.org/10.14295/p.v52i1.112>
- Gutiérrez Gutiérrez, G., Díaz-Manera, J., Almendrote, M., Azriel, S., Eulalio Bárcena, J., Cabezudo García, P., Camacho Salas, A., Casanova Rodríguez, C., Cobo, A. M., Díaz Guardiola, P., Fernández-Torrón, R., Gallano Petit, M. P., García Pavía, P.,

- Gómez Gallego, M., Gutiérrez Martínez, A. J., Jericó, I., Kapetanovic García, S., López de Munaín Arregui, A., Martorell, L., ... Gutiérrez-Rivas, E. (2020). Guía clínica para el diagnóstico y seguimiento de la distrofia miotónica tipo 1, DM1 o enfermedad de Steinert. *Neurología*, 35(3), 185-206.
- Heller, S. A., Shih, R., Kalra, R. y Kang, P. B. (2019). Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Muscle & Nerve*. 61:436–448.
- Heymsfield SB, Adamek M, Gonzalez MC, Jia G, Thomas DM. (2014). Assessing skeletal muscle mass: historical overview and state of the art. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*; 5(1):9-18.
- Hütter E, Skovbro M, Lener B, Prats C, Rabøl R, Dela F, Jansen-Dürr P. (2007). Oxidative stress and mitochondrial impairment can be separated from lipofuscin accumulation in aged human skeletal muscle. *Aging Cell*. 6(2), 245-56.
- Ismaeel A, Kim JS, Kirk JS, Smith RS, Bohannon WT, Koutakis P. (2019). Role of Transforming Growth Factor- β in Skeletal Muscle Fibrosis. *Int J Mol Sci*. 20(10): 2446.
- Jabre S, Hleihel W, Coirault C. (2021). Nuclear Mechanotransduction in Skeletal Muscle. *Cells*. 10(2):318.
- Jayasinghe, I. D., & Launikonis, B. S. (2013). Three-dimensional reconstruction and analysis of the tubular system of vertebrate skeletal muscle. *Journal of Cell Science*. Published.
- Jiménez Cardoso, J. M., Ambrosius Diener, K., Cisnero Sotelo, L., Martínez de Velasco, J., & Mravko Maldonado, E. (1972). Microscopia de luz y electrónica en la distrofia muscular congénita. *Rev. Fac. Med.*, 15, 325-333.
- Judson, R.N., Zhang, R.-H., Rossi, F.M.A. (2013). Tissue-resident mesenchymal stem/progenitor cells in skeletal muscle: collaborators or saboteurs?. *FEBS J*, 280, 4100-4108
- Juvier Riesgo, T., Maimó Gallego, Y., Farias Piñeiro, D., Zaldivar Vaillant, T., Arias Morales, A., & Santiesteban Freixas, R. (2021). Manifestaciones neurooftalmológicas en la enfermedad de Steinert. *Revista Cubana de Neurología y Neurocirugía*, 11(1).
- Keire P, Shearer A, Shefer G, Yablonka-Reuveni Z. (2013). Isolation and culture of skeletal muscle myofibers as a means to analyze satellite cells. *Methods Mol Biol*. 946:431-68.
- Kerr, JP., Ward, CW., Bloch, RJ. (2014). Dysferlin at transverse tubules regulates Ca(2+) homeostasis in skeletal muscle. *Front Physiol*, 5, 89.
- Klimczak, A., Kozłowska, U. & Kurpisz, M. (2018). Muscle Stem/Progenitor Cells and Mesenchymal Stem Cells of Bone Marrow Origin for Skeletal Muscle Regeneration in Muscular Dystrophies. *Arch. Immunol. Ther. Exp*. 66, 341–354.

- Kölbel, H, Preuße, C, Brand, L, et al. (2021). Inflammation, fibrosis and skeletal muscle regeneration in LGMDR9 are orchestrated by macrophages. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 47: 856– 866.
- Lamboley, C. R., Murphy, R. M., McKenna, M. J., & Lamb, G. D. (2014). Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake and leak properties, and SERCA isoform expression, in type I and type II fibres of human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 592(6), 1381–1395. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.269373>.
- Larson, A.A., Baker, P.R., Milev, M.P. et al. (2018). TRAPPC11 and GOSR2 mutations associate with hypoglycosylation of α -dystroglycan and muscular dystrophy. *Skeletal Muscle* 8, 17. <https://doi.org/10.1186/s13395-018-0163-0>.
- Latres E, Amini AR, Amini AA, Griffiths J, Martin FJ, Wei Y, Lin HC, Yancopoulos GD, Glass DJ. (2005). Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) inversely regulates atrophy-induced genes via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) pathway. *J Biol Chem.* 280(4), 2737-44.
- Lawlor-Sclavo, B., Tapié-Nicolini, A., Rodríguez-Masobrio, S., Bottaro, S., Fiol, V., Bianchi, A., Raggio-Risso, V. (2022). Distrofia muscular congénita por déficit de merosina: presentación de un caso evaluado en etapa prenatal. *Archivos de Ginecología y Obstetricia*, 60(1), 71-76.
- León-Moreno, C. (2017). Estudio del efecto de la sobreexpresión de las distrofinas Dp71a y Dp71c en las células PC12. [Tesis de maestría, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio CINVESTAV.
- Liewluck, T., & Milone, M. (2018). Untangling the complexity of limb-girdle muscular dystrophies. *Muscle & Nerve*, 58(2), 167–177.
- Lynch, G. S. (2004). Role of contraction-induced injury in the mechanisms of muscle damage in muscular dystrophy. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 31(8), 557-561.
- Madej-Pilarczyk, A. (2018). Clinical aspects of Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nucleus*, 9(1), 314–320.
- Marieb, E. N. (2008). *Anatomia Y Fisiología Humana* (9.a ed.). Pearson Educación. <https://bookshelf.vitalsource.com/books/9788478290949>
- McNally-EM. The Sarcoglycans. In: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-2013. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6317/>
- Mercuri E, Bönnemann C, Muntoni F. (2019). Muscular dystrophies. *Lancet*, 394(10213), 2025-2038.
- Mhatre R, Sekar D, Ponmalar J, Nagappa M, Veeramani PK, Polavarapu K, Vengalil S, Atchayaram N, Narayanappa G. (2021). Utility of Immunohistochemistry and Western

- Blot in Profiling Clinically Suspected Cases of Congenital Muscular Dystrophy. *Ann Indian Acad Neurol.* 24(2),198-203.
- Moratal, C., Arrighi, N., Dechesne, CA., Dani, C. (2019). Control of Muscle Fibro-Adipogenic Progenitors by Myogenic Lineage is Altered in Aging and Duchenne Muscular Dystrophy. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 53(6), 1029-1045.
- Mosca N, Petrillo S, Bortolani S, Monforte M, Ricci E, Piemonte F, Tasca G. (2021). Redox Homeostasis in Muscular Dystrophies. *Cells*, 10(6), 1364
- Narayanaswami, P., Weiss, M., Selcen, D., David, W., Raynor, E., Carter, G., Wicklund, M., Barohn, R. J., Ensrud, E., Griggs, R. C., Gronseth, G., Amato, A. A., Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology, & Practice Issues Review Panel of the American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine (2014). Evidence-based guideline summary: diagnosis and treatment of limb-girdle and distal dystrophies: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology and the practice issues review panel of the American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine. *Neurology*, 83(16), 1453–1463.
- Nascimento-Osorio, A., Medina-Cantillo, J., Camacho-Salas, A., Madruga-Garrido, M., y Vilchez-Padilla, J. J. (2018). Consenso para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento del paciente con distrofia muscular de Duchenne. *Neurología*, 34(7), 469-481.
- Navarro Fernández Balbuena, C. (1999). Distrofina y proteínas asociadas a la distrofina. Su evaluación en el laboratorio de patología neuromuscular. *Revista de Neurología*, 28(02), 154.
- Nilipour Y. (2019). The Art of Muscle Biopsy in the New Genetic Era: A Narrative Review. *Iran J Child Neurol.* 13(4), 7-17.
- Pedrosa, E. A. F., Valenzuela, L. P. P., Capote, M. E. R., Rivera, F. J. G., Herrero, I. N., & Paniza, S. A. R. (2021). Enfermedad de Steinert. *Revista Sanitaria de Investigación*, 2(11), 122.
- Pellegrino FC. (2018). Enfermedades musculares congénitas. *Revista Argentina de Neurología Veterinaria*, 6(3), 1-21.
- Perera Canul, R. N., Taylor Martínez, M. A., Villanueva Ayala, D., & Cervera Gaviria, M. (2019). Relación entre gateo y diagnóstico de distrofia muscular de Duchenne. *An Med Asoc Med Hosp ABC*, 64(3), 171–177.
- Pessina, P., Kharraz, Y., Jardí, M., Fukada, S. I., Serrano, A., Perdiguero, E. & Muñoz-Cánoves, P. (2015, junio). Fibrogenic Cell Plasticity Blunts Tissue Regeneration and Aggravates Muscular Dystrophy. *Stem Cell Reports*, 4(6), 1046-1060.

- Piñol-Jurado, P. (2019). Papel del factor de crecimiento derivado de plaquetas bb en la Distrofia Muscular de Duchenne en humanos y estudio de Nintedanib como tratamiento de un modelo murino de déficit de distrofina. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Poza Aldea, J. J., Espinal Valencia, J. B., Sáenz Peña, A., Fernández-Torrón, R., Jericó Pascual, I., López De Munain, A., Andoni Urtizberea, J., Cobo Esteban, A. M., & García Bragado, F. (2017). Distrofias musculares de cinturas. En *Manual de enfermedades neuromusculares* (1.a ed., pp. 391–401). Ergon.
- Quesada-Vargas M, Esquivel-Rodríguez N, Rosales-Gutiérrez JM. (2019). Distrofia muscular de Duchenne: diagnóstico y tratamiento. *Rev.méd.sinerg.* 4(12):e315.
- Quijano-Roy, S., & Gómez-García De La Banda, M. (2018). Distrofias musculares congénitas. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 29, 530–543.
- Quilacio, J. M. S., Rosales, R. L., & Ampil, E. R. (2022). Calpainopathy (Leyden-Mobius Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2A Phenotype) and Dysferlinopathy (Miyoshi Distal Myopathy Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2B Phenotype) of Preadolescent Onset: Case Reports of Two Male Filipinos. *Cureus* 14(1).
- Reyes, L., Villamar, P., & Espinosa, N. (2020). Distrofia muscular de cinturas 2J, revisión bibliográfica y reporte de un caso pediátrico en Ecuador. *Metro Ciencia*, 28(3), 8–13.
- Ridaura, SC. (2008). Biopsia muscular. *Acta Pediatr Mex*; 29(6), 347-54.
- Ripolone, M, Velardo D, Mondello S, Zanotti S, Magri F, Minuti E, Cazzaniga S, Fortunato F, Ciscato, P., Tiberio, F., Sciacco, M., Moggio, M., Bettica, P., Comi, GP. (2022). Muscle histological changes in a large cohort of patients affected with Becker muscular dystrophy. *Acta Neuropathol Commun.* 10(1), 48.
- Rodney, G. G., Pal, R., & Abo-Zahrah, R. (2016b). Redox regulation of autophagy in skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 103-112.
- Rojas-Marcos, I. (2019). Distrofias musculares. *Medicine Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(76), 4486-4496.
- Saladin, Kenneth S. (2013). Anatomía y fisiología: la unidad entre forma y función (6a. ed.), McGraw-Hill Interamericana, ProQuest Ebook Central.
- Sánchez, A. I., Mariño, N., Araujo, A. F., & Espinosa, E. (2019). Distrofia muscular de Becker con duplicación en el exón 5 del gen DMD. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, 28(2), 116–120.
- San Martín P., P., Solis F., F., & Cavada Ch., G. (2018). Sobrevida de pacientes con distrofia muscular de Duchenne. *Revista chilena de pediatría*, 477–483.
- Schiaffino, S., Dyar, K.A., Ciciliot, S., Blaauw, B. and Sandri, M. (2013), Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J*, 280: 4294-4314.

- Schoser. BG., Schneider-Gold, C., Kress, W., Goebel, HH., Reilich, P., Koch, MC., Pongratz, DE., Toyka, KV., Lochmüller, H., Ricker, K. (2004). Muscle pathology in 57 patients with myotonic dystrophy type 2. *Muscle Nerve*. 29(2), 275-81.
- Sepúlveda Saavedra, J. (2012). Atlas Histología. Biología Celular y Tisular. Texto (1.a ed.) [Libro electrónico]. MCGRAW HILL EDUCATION.
- Serrano, M. C. (2015). Distrofias musculares, miopatías metabólicas y tóxicas. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(75), 4516-4527.
- Sewry, CA. (2010). Muscular dystrophies: an update on pathology and diagnosis. *Acta Neuropathologica*, 120(3), 343–358.
- Siddiqui, SH., Ahmed, R., Awan, S., Zain, A., Khan, S. (2019). Yield of Muscle Biopsy in Patients with Findings of Myopathy on Electrodiagnostic Testing. *J Neurosci Rural Pract*. 10(3), 489-493.
- Statland, J., y Tawil, R. (2014). Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy. *Neurologic Clinics*, 32(3), 721-728.
- Suárez, B., & Araya, G. (2018). Síndrome hipotónico como manifestación de enfermedad neuromuscular hereditaria en la infancia. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 29(5), 502–511.
- Tagliavini F, Sardone F, Squarzone S, Maraldi NM, Merlini L, Faldini C, Sabatelli P. (2014). Ultrastructural changes in muscle cells of patients with collagen VI-related myopathies. *Muscles Ligaments Tendons J*, 3(4), 281-6.
- Tedesco, F., Dellavalle, A., Diaz-Manera J. (2010). Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *J Clin Invest*, 120(1), 11-9.
- Theret M, Saclier M, Messina G, Rossi FMV. (2022). Macrophages in Skeletal Muscle Dystrophies, An Entangled Partner. *J Neuromuscul Dis*, 9(1):1-23.
- Tomé, F. & Fardeu M. (1994) Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. En *Myology* (2.a ed., Vol. 1, pp. 1233–1245). McGraw-Hill.
- Triolo, M., & Hood, D. A. (2021). Manifestations of Age on Autophagy, Mitophagy and Lysosomes in Skeletal Muscle. *Cells*, 10(5), 1054.
- Turki, A., Hayot, M., Carnac, G., Pillard, F., Passerieux, E., Bommart, S., de Mauverger, E. R., Hugon, G., Pincemail, J., Pietri, S., Lambert, K., Belayew, A., Vassetzky, Y., Juntas Morales, R., Mercier, J., & Laoudj-Chenivresse, D. (2012). Functional muscle impairment in facioscapulohumeral muscular dystrophy is correlated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(5), 1068-1079.
- Valentine B. A. (2017). Skeletal Muscle. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, 908–953.e1.

- Varland, S., Vandekerckhove, J., & Drazic, A. (2019). Actin Post-translational Modifications: The Cinderella of Cytoskeletal Control. *Trends in Biochemical Sciences*, 44(6), 502–516.
- Vainzof, M., Souza, L. S., Gurgel-Giannetti, J., & Zatz, M. (2021). Sarcoglycanopathies: an update. *Neuromuscular Disorders*, 31(10), 1021–1027.
- Waddell LB, Lemckert FA, Zheng XF, Tran J, Evesson FJ, Hawkes JM, Lek A, Street NE, Lin P, Clarke NF, Landstrom AP, Ackerman MJ, Weisleder N, Ma J, North KN, Cooper ST. (2011). Dysferlin, annexin A1, and mitsugumin 53 are upregulated in muscular dystrophy and localize to longitudinal tubules of the T-system with stretch. *J Neuropathol Exp Neurol*. 70(4), 302-13.
- Wolfe, R. R. (2006). The underappreciated role of muscle in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(3), 475–482.
- Wicklund, M. P. (2013). The Muscular Dystrophies. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 19, 1535–1570.
- Xu C, Chen J, Zhang Y, Li J. (2018). Limb-girdle muscular dystrophy type 2B misdiagnosed as polymyositis at the early stage: Case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 97(21), e10539.
- Yamashita, S. (2021). Recent Progress in Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *Journal of Clinical Medicine*, 10(7), 1375.
- Zammit PS, Partridge TA, Yablonka-Reuveni Z. (2006). The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. *J Histochem Cytochem*. 54(11):1177-91.
- Zubiri, V., Gerardi, O., Medina, N., Taratuto, A. L., Huamanchumo Fiestas, J., Lopez, M., Aldinio, V., Gargiulo, G., González Morón, D., Córdoba, M., Rodríguez Quiroga, S. A., Volman, G., Kauffman, M. A., & Uccelli, A. (2015). Distrofia muscular de Emery-Dreifuss: la importancia de un estudio ordenado a partir de la clínica y una correcta caracterización etiológico-molecular. *Neurología Argentina*, 7(3), 171–175.