

27  
20j



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ANALISIS ULTRAESTRUCTURAL EN LA DISTROFIA  
MUSCULAR DE CINTURAS ESTUDIO  
RETROSPECTIVO EN 10 PACIENTES DEL I.N.N.N.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**B I O L O G A**  
P R E S E N T A :  
**GEORGINA CIPRIANA COETO BARONA**



DIRECTOR DE TESIS: ~~MATEOS~~ VIKTOR JAVIER ROMERO DIAZ



MEXICO, D. F.

1997

FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Baulé  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

ANÁLISIS ULTRAESTRUCTURAL EN LA DISTROFIA MUSCULAR DE CINTURAS.  
ESTUDIO RETROSPECTIVO EN 10 PACIENTES DEL I.N.N.N.

realizado por COETO BARONA GEORGINA CIPRIANA.

con número de cuenta 8413868-4, pasante de la carrera de BIOLOGÍA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	
Propietario	M.en C. VIKTOR JAVIER ROMERO DÍAZ.
Propietario	DR. LUIS FELIPE JIMENEZ GARCÍA.
Propietario	DRA. CLARA ESQUIVEL HUESCA.
Suplente	M.en C. MARIO SEGURA ALMARAZ
Suplente	BIOL. MARCO ANTONIO GONZALEZ JIMENEZ

*[Firma]*  
*[Firma]*  
*[Firma]*

*[Firma]*  
Consejo Departamental de Biología  
M. en C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA



## **DEDICATORIA:**

**A mis padres por su gran amor. El amor es sufrido, es benigno, el amor no tiene envidia, el amor no es jactancioso, no se envanece, no hace nada indebido, no busca lo suyo, no se irrita, no guarda rencor, no se goza de la injusticia, más se goza de la verdad. Todo lo sufre, todo lo cree, todo lo espera y todo lo soporta.**

## **AGRADECIMIENTOS:**

- ❖ **A mis Hermanos por ayudarme en los momentos difíciles y saber que tengo una hermosa familia: Gabriel, Ernillo y Yolanda.**
- ❖ **A la Dra. Fernanda Teixeira por su confianza, apoyo y ejemplo de superación.**
- ❖ **A mis amigos del Departamento de Neuropatología Experimental: Concepción, Viktor, Alma.**
- ❖ **A Araceli Miranda por su confianza para enseñarme a trabajar las técnicas del músculo.**
- ❖ **A Aida.**
- ❖ **A mi amiga Anabel por su tiempo apoyo y confianza**
- ❖ **A Alberto**
- ❖ **Al Departamento de Microscopía Electrónica del INPer por ser un equipo unido y bello, donde uno se siente a gusto: Rebeca, Ernestina, Yuri, Raquel, Perla, Josefina, Arturo y Marco, el orden de las personas no altera el producto.**
- ❖ **A la Dra. Hilda Villegas por su apoyo.**
- ❖ **A Arturo Soto, mi agradecimiento infinito que ni con todo el oro del mundo podría pagarle.**
- ❖ **A Minerva Vazquez.**
- ❖ **A mis hermosos, bellos e Inigualables sobrinos Gabriel y Emilio.**

**Esta tesis se elaboró en la parte experimental en el Departamento de Neuropatología Experimental del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suarez " de la Secretaría de Salud.**

## INDICE

<b>Resumen</b>	
<b>I.- Introduccion</b>	
a).- Descripción de los aspectos generales de las Distrofias Musculares	1
<b>II.- Antecedentes clínicos de la enfermedad y conceptos de la Distrofia Muscular de Cinturas</b>	4
<b>III.- Objetivos</b>	8
<b>IV.- Generalidades sobre Músculo Esquelético Normal</b>	9
a).- Mitocondrias	10
b).- Reticulo Sarcoplásmico	11
c).- Maquinaria Contráctil de los Miofilamentos	13
d).- Fuentes de Energía	19
e).- Glucógeno	21
<b>V.- Material y Método.</b>	23
<b>VI.- Resultados</b>	25
<b>VII.- Discusión y Conclusiones</b>	44
<b>VIII.- Apéndice</b>	47
<b>IX.- Bibliografía Consultada</b>	49

## RESUMEN

La Distrofia Muscular de Cinturas (DMC) fue definida en 1954 por Walton y Nattrass. Considerando las características clínicas y genéticas de la enfermedad. Actualmente, se consideran 3 categorías según los síntomas o afección y la edad de inicio:

- 1.- Distrofia Severa de la Niñez. Autosómica recesiva en el locus del cromosoma 13q.
- 2.- Distrofia Leve. Autosómica recesiva en el locus del cromosoma 15q.
- 3.- Distrofia de Inicio Tardío. Autosómica dominante en el locus del cromosoma 5q.

La DMC puede presentarse en cualquier etapa de la vida, los pacientes presentan dificultad en la marcha, para subir escaleras, hay posición lórdica, incapacidad para incorporarse del suelo y saltar. La debilidad es variable, ya que su progresión puede ser lenta o tener un curso muy rápido. La finalidad del presente trabajo ha sido conocer y determinar las alteraciones ultraestructurales del tejido muscular de 10 pacientes con diferentes edades y de ambos sexos. Se obtuvieron 10 muestras de tejido muscular provenientes del cuádriceps de los cuales 2 fueron pacientes masculinos y 8 pacientes femeninos, con un rango de edad de 8 a 58 años y con una media de 27 años. El material se dividió en 3 partes. En la primera y segunda parte se realizaron estudios de rutina e histoquímicos enzimáticos para determinar el diagnóstico. La tercera parte del material se fijó y procesó siguiendo los métodos habituales para realizar el análisis por microscopía electrónica, tanto en secciones transversales como en secciones longitudinales. Las alteraciones observadas comúnmente fueron la desorganización focal de las miofibrillas, causado por la bifurcación de ellas y la constricción de la línea Z, quedando en desfazamiento el sarcómero. También se observó la desintegración de los miofilamentos de actina y miosina. Particularmente en algunos casos los miofilamentos gruesos estaban ausentes, además se presenta una dilatación de las cisternas del retículo sarcoplásmico. El depósito de glucógeno suele ser variable pero tiende a aumentar y se presenta de forma difusa y en algunos casos las mitocondrias muestran formas irregulares. Estos cambios se relacionan con la severidad o con el tiempo de evolución de la enfermedad.



## I.- INTRODUCCIÓN

### a). -DESCRIPCIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES QUE DEFINEN A LAS DISTROFIAS MUSCULARES.

Las distrofias musculares son un grupo de enfermedades determinadas genéticamente que cursan con la debilidad muscular progresiva y degeneración del tejido muscular. Estas pueden dividirse en varios tipos, con base en la clínica y severidad de la debilidad muscular:

- \*Distrofia Muscular de Duchenne
- \*Distrofia Muscular de Becker
- \*Distrofia Muscular de Cinturas
- \*Distrofia Muscular Facio-Escapulo-Humeral
- \*Distrofia Miótica
- \*Miopatía Ocular
- \*Distrofia Oculofaríngea
- \*Distrofia Muscular Congénita

La Distrofia Muscular de Cinturas es una entidad autosómica recesiva, de efectos variables, que se puede presentar en cualquier etapa de la vida. Los pacientes presentan dificultad en la marcha para subir escaleras, su marcha es anormal, presentan postura lórdica, hay incapacidad para incorporarse del suelo (Gowers positivo). La debilidad es variable y éstos pacientes pueden ocasionalmente presentar hipertrofia de las pantorrillas, la evolución de esta entidad puede ser variable, ya que su progresión puede ser lenta o tener un desarrollo rápido. Los estudios clínicos muestran un suero con fosfocreatina quinasa (CPK) elevado y una electromiografía (EMG) con patrón miopático. En la Distrofia Muscular de Cinturas, aparece debilidad muscular, atrofia y pérdida de reflejos tendinosos en las siguientes situaciones:

- 1) Alteraciones Primarias de las Fibras Musculares
- 2) Lesiones de los Cordones Espinales
- 3) Lesiones Nerviosas Periféricas

**Las Distrofias Musculares se diferencian por:**

**1) La edad de inicio de la enfermedad**

**2) La forma de transmisión genética**

**3) El patrón clínico y la secuencia de aparición de la debilidad muscular**

**4) El grado de evolución y la gravedad final. Aunque todas las distrofias se consideran enfermedades hereditarias, en muchos casos no puede identificarse afectación familiar. Esto puede explicarse por la presencia de un rasgo recesivo latente en la familia o por la aparición de mutaciones espontáneas. (Tabla 1), (Robbins. *et al.*, 1989; Arikawa *et al.*, 1991; Allamand *et al.* 1995; Chiannikulchai *et al.* 1995).**

Tabla 1. Tipos de Distrofias Musculares.

Tipo	Herencia	Edad de comienzo	Datos clínicos
Duchenne	Recesiva ligada al sexo	Primera década	Debilidad simétrica, inicialmente pelvifemoral, posteriormente debilidad de piernas, cintura escapular y músculos del tronco, disminución de la inteligencia y afectación cardíaca.
Becker	Recesiva ligada al sexo	Segunda década	Variante leve del tipo Duchenne.
Facioescápulo-humeral	Autosómica dominante	Infancia a senectud	Generalmente debilidad facial inicial, escapular y humeral.
Cinturas	Autosómica recesiva	Variable desde la primera hasta la sexta década	Dos variantes: Debilidad pelvifemoral y escapular.
Miotónica	Autosómica dominante	Infancia a edad variable	Dificultad en la relajación de los músculos distales, manos o pies y calvicie frontal.
Miopatía ocular	Autosómica dominante	Variable	Debilidad de los músculos extraoculares inicialmente, a veces afectando cara, cuello y miembros.

## **II.- ANTECEDENTES CLÍNICOS DE LA ENFERMEDAD Y CONCEPTO DE LA DISTROFIA MUSCULAR DE CINTURAS.**

El músculo esquelético es muy importante ya que nos proporciona el sostén del cuerpo, por lo cual es necesario conocer como se producen los cambios a nivel estructural de la enfermedad de cinturas.

El concepto de Distrofia Muscular de Cinturas era basado en la clínica no específica y características genéticas, por lo cual se incluía en varias de las enfermedades neuromusculares, pero con el desarrollo de la morfología, epidemiología y la genética molecular se evidencia que la Distrofia Muscular de Cinturas es una entidad heterogénea compuesta de una amplia variedad de enfermedades. Se pueden separar en tres categorías.

1.- Distinción genética, mapeada en el locus del cromosoma 13q distrofia autosómica recesiva de la niñez severa; el cromosoma 15q distrofia autosómica recesiva leve y cromosoma 5q distrofia autosómica dominante de comienzo tardío. (Chutkow *et al* 1986).

2.- Enfermedades asociadas con un patrón bien definido, de inherencia en pacientes, pero no especificando características morfológicas y clínicas.

3.- Enfermedades que no pueden ser identificadas en las enfermedades neuromusculares discretas se les designa como Distrofias Musculares de Cinturas.

Referencias de la Distrofia Muscular de Cinturas pueden ser encontradas en algunas descripciones en 1884; Erb describe una forma juvenil de distrofia muscular que primariamente involucra la musculatura de los hombros, sin afectar los músculos faciales, esta es más benigna que la forma pseudohipertrofia. Las formas Erb de distrofia llegan a ser conocidas como distrofia Escapulo-Humeral Atrófica Juvenil.

Las descripciones tempranas de Distrofia Muscular por Leyden y Mobius se parecen a las descritas por Erb excepto que involucran una afectación en la cintura pélvica y era referido como Distrofia Muscular Pelvifemoral Atrofia de Leyden y Mobius. La DMC era confundida con Atrofia Muscular Espinal y otras enfermedades del sistema nervioso central y periférico. En 1891 Erb fue el primero en introducir el término de Distrofia Muscular Progresiva, que da el concepto de Distrofia Muscular como una enfermedad degenerativa hereditaria del músculo. En 1909 Batten divide las Distrofias en 7 tipos:

- 1.- Atrofia Simple (Leyden-Mobius)
- 2.- Pseudohipertrofia (Duchenne)
- 3.- Juvenil (Erb)
- 4.- Facio-Escapulo-Humeral (Landouzy-Dejérine)
- 5.- Distal (Gowers-Spiller)
- 6.- Miotonia Atrofica
- 7.- Tipos de Transición

Esta clasificación fue usada en 1930 (Shields, 1994; Fardeau *et al* 1996). La Distrofia Muscular de Cinturas una de las formas menos comunes de DMC con una incidencia de 6.5 por 100.000 individuos que no la tienen, Esta Distrofia puede ser confundida con Distrofia de Becker. La Distrofia Muscular de Cinturas fue definida en 1954 por Walton y Nattras y clasificada por las siguientes características:

- 1.- Expresión en hombres y mujeres
- 2.- Comienzo usualmente tardío en los primeros años, pero también en la segunda y tercera etapa y sobre todo a la mitad de la edad adulta.
- 3.- Transmisión usualmente en un autosoma recesivo, pero ocasionalmente como un rasgo dominante.
- 4.- Involucra primariamente los músculos de la cintura escapular ó músculos de la cintura pélvica, es frecuentemente asimétrica cuando los miembros superiores son primariamente involucrados.

- 5.- Se extiende de los miembros superiores a los inferiores o viceversa.
- 6.- Etapa variable de progresión
- 7.- Incapacidad para caminar dentro de los 20 a 30 años de edad.
- 8.- Las contracturas musculares no son comunes, excepto en las etapas avanzadas.
- 9.- Puede presentarse pseudohipertrofia muscular. (Gilchrist et al/ 1988; Lim Leland , 1995).

En 1988 un grupo de Investigación en Enfermedades Neuromusculares, nombrado por la Federación Mundial de Neurología subdivide la Distrofia Muscular de Cinturas en tres subtipos:

- 1.- Autosómica recesiva o tipos esporádicos
- 2.- Miopatía limitada a cuádriceps
- 3.- Autosómica dominante de comienzo tardío

La falta de uniformidad de las distintas clasificaciones tiende ha aumentar las clasificación de la Distrofia Muscular de Cinturas, por lo cual las nuevas clasificaciones se basan en el locus del gene identificado en:

- 1.- Distrofia Muscular Autosómica Recesiva de la Niñez de Forma Severa. Que es similar a la Distrofia Muscular de Duchenne, marcada en el cromosoma 13q.
- 2.- Distrofia Autosómica Recesiva Leve, marcada en el cromosoma 15q
- 3.- Distrofia Autosómica Dominante de Comienzo Tardío, marcada en el cromosoma 5q. (Jackson 1968; Shields , 1994).

La llegada de la genética molecular y el descubrimiento de la Distrofia y de los genes que causan la Distrofia de tipo Duchenne y Distrofia tipo Becker se debe gracias a la clasificación de las Distrofias basadas en el locus del cromosoma afectado. La razón de la similitud fenotípica a la Distrofia de Duchenne se aclara con el descubrimiento de que en la Distrofia Muscular de Cinturas hay una deficiencia selectiva de un componente glicoprotéico de 50-kDa asociado a la Distrofina, porque la Distrofia Muscular Autosómica Recesiva de la Niñez Severa prevalece en los países del Norte de Africa; el 50-kDa, es también llamado adhalina. El complejo proteína asociada a la distrofina (PAD) consiste en 6 proteínas de 59,25, 50, 43, 35, y 156 kDa en peso molecular, probablemente la vía es la 59-kDa la cual es una proteína de la membrana, la 59-kDa está ligada a 4 proteínas transmembranales PAD 25, 50, 43 y 35 kDa respectivamente, la cual se asocia con la 156-kDa de la proteína de la membrana periférica extracelular. La Distrofina es una proteína del citoesqueleto subsarcolemal de la fibra del músculo a la matriz extracelular. La realidad es que la deficiencia de adhalina resulta en una Distrofia de Duchenne, el complejo PAD juega un papel crucial en el establecimiento del sarcolema y protege en contra de los mecanismos de estrés, sin embargo la deficiencia de Distrofina Primaria de la Distrofia Muscular de Duchenne resulta de una deficiencia secundaria del complejo PAD, esto sugiere que el deterioro es consecuencia de la mutación de Distrofina en Distrofia de Duchenne por las combinaciones deficientes de la Distrofina y las proteínas PAD (Matsumura *et al* 1992; Shields, 1994).

La adhalina es una glicoproteína de 50- KDa que era originalmente caracterizada como una proteína membranal específica del sarcolema y subsecuentemente se demostró que es un componente integral del complejo glicoproteína-distrofina en el músculo esquelético. El complejo distrofina-glicoproteína es un complejo oligomérico largo consistente de las proteínas del sarcolema y componentes glicoprotéicos llamados proteínas asociadas a la distrofina (PADs) o glicoproteínas asociadas a la distrofina. Estudios bioquímicos y moleculares de los componentes del complejo, en particular dextróglicos, pueden demostrar que éste complejo provee un importante eslabón entre el citoesqueleto y la matriz extracelular del músculo esquelético. Esta probable estabilidad de la membrana del sarcolema lo protege del estrés durante la contracción (Ervasti *et al*; 1990; Campbell , 1995).

### **III.-OBJETIVOS**

**\* Analizar los cambios ultraestructurales que se presentan en la fibra muscular de pacientes con Distrofia Muscular de Cinturas (Escapular y Pelvica).**

**\*\* Correlacionar las alteraciones ultraestructurales con la edad de inicio y tiempo de evolución de la enfermedad y el sexo del paciente.**



#### **IV.-GENERALIDADES SOBRE EL MÚSCULO ESQUELÉTICO NORMAL**

El músculo embriológicamente se forma de los somitas del mesodermo, cuando el embrión es de solo 2 ó 3 semanas y las masas celulares (somitas) se encuentran en ambos lados de la línea axial. Algunos de estos somitas llegan a formar los músculos lisos y varias estructuras mesenquimales, otras partes de la porción media dorsal de los somitas dan lugar a células musculares primitivas, que más adelante formarán las fibras musculares (Kakulas, 1985). Por su estructura el músculo se puede dividir en 2 clases:

- Músculo Estriado

- Músculo Liso

El músculo esquelético se compone de fibras alargadas, fusiformes que se pueden insertar en septos, trabéculas, fascias, tendones, periosteo o hueso. El músculo presenta dos movimientos básicos, que son el de acortamiento y el de relajación. El músculo esquelético se encuentra rodeado por tejido conectivo denso, que lo envuelve completamente y se llama epimisio. Cada músculo se encuentra compuesto de fascículos, que son paquetes de fibras musculares separados entre sí por trabéculas conjuntivas que forman el perimisio, finalmente las fibras musculares de cada fascículo están sostenidas por una red conectiva delicada, que se llama endomisio.

Para la fibra muscular humana y de todos los mamíferos es característica no sólo la presencia de los elementos contráctiles, miofibrillas y del aparato nucleosarcoplasmático que asegura la actividad de trabajo de las miofibrillas, sino también la relación con los nervios en forma de placas motoras a través de las cuales la fibra muscular recibe los impulsos de trabajo. En la fibra muscular existen tres componentes citoplásmicos altamente diferenciados que son:

## a).- MITOCONDRIAS

Consta de núcleos y sarcoplasma, mitocondrias llamadas sarcosomas, complejo laminoso y reticulo endoplasmático rugoso débilmente desarrollado, reticulo sarcoplasmático y elemento tubular que constituye el llamado sistema T. Aparato de sostén que incluye la bolsa conjuntiva de la fibra muscular y de los septos transversales líneas o estrias Z y línea M. Está representado por toda la masa del sarcoplasma junto con los organelos citoplasmáticos y los núcleos. Las estructuras proteicas de trabajo se construyen por la célula, al igual que todas las proteínas estructurales de la misma célula y las estructuras no proteicas mediante la síntesis de las proteínas enzimáticas que aseguran la síntesis de sustancias de naturaleza no proteica.

El complejo mitocondrial (sarcosomas) constituye el componente más desarrollado que asegura las altas necesidades energéticas del músculo que cumplen el trabajo mecánico intenso, una cantidad grande de mitocondrias se concentra en la región perinuclear y bajo el plasmolema (membrana interna) cerca de los capilares, el segundo grupo de mitocondrias se aloja entre las miofibrillas en particular en la región del disco I.

Las llamadas fibras musculares rojas se caracterizan por la abundancia de mitocondrias que forman cadenas casi ininterrumpidas tanto por la periferia de la fibra como entre las miofibrillas, para las fibras blancas es característica la localización de mitocondrias en la región perinuclear y en la zona de los disco I, en contacto directo con las líneas Z. (Eliséiev, 1985).

Se estableció que las fibras rojas se distinguen por la alta actividad de succinato deshidrogenasa y la fosfatasa alcalina y la baja actividad de la fosforitasa en todas las etapas del desarrollo, mientras que para las fibras blancas adultas se caracterizan por su alta actividad de la fosforitasa y la baja actividad del succinato deshidrogenasa, así como la moderada actividad de la fosfatasa alcalina (Geneser, 1994).

## **b).- RETÍCULO SARCOPLÁSMICO**

Las fibras musculares contienen aparatos membranosos específicos relacionados, posiblemente con la realización de la función contráctil. El sistema membranosos intermiofibrilar recibió el nombre de retículo sarcoplasmático. Las fibras musculares de los mamíferos poseen el retículo sarcoplasmático bien desarrollado con cavidades alargadas que van a lo largo de las sarcómeras entre las miofibrillas y las cisternas terminales situadas cerca de las líneas Z. A nivel de las líneas Z se localiza el otro componente que es el sistema T o elemento tubular o sea el complejo de túbulos que van a través del eje de la fibra. Los túbulos del sistema T representan invaginaciones de la membrana externa (sarcolema) situadas perpendicularmente al eje de la fibra. Las cisternas terminales del retículo sarcoplasmático y los canales del sistema T forman las figuras características llamadas tríadas, las tríadas en un corte constan de un extremo contorneado o alargado del canal del sistema T en el centro y dos contornos ovales o esféricos irregulares de las cisternas terminales, a la zona de la tríada llega el impulso nervioso que se propaga por la membrana externa y sus invaginaciones a los túbulos del sistema T en la profundidad de la fibra muscular. A partir del retículo sarcoplasmático cuyas cisternas en la zona de tríadas colindan estrechamente con los túbulos del sistema T, sucede la expulsión de los iones de calcio en el citoplasma que se necesita para la contracción de las miofibrillas.

Los túbulos longitudinales y las cisternas terminales del retículo sarcoplasmático regulan la concentración de iones calcio en el ambiente de las miofibrillas. La membrana limitante del retículo posee un mecanismo para el transporte activo de calcio y éste es almacenado dentro de este organelo.

La despolarización del sarcolema inducido por una descarga nerviosa, es conducida a lo largo de la fibra muscular por los túbulos T. Un mecanismo dependiente de ATP en las zona de contacto de los túbulos T con las cisternas terminales de las tríadas da por resultado el paso del calcio desde el retículo sacoroplásmico y el desencadenamiento de la contracción de las miofibrillas. Cuando termina la polarización del sarcolema por los impulsos nerviosos se transporta activamente calcio hacia la luz del retículo endoplásmico.

Al disminuir la concentración de calcio en las miofibrillas se suspende la contracción (Fawcett, 1993).

#### ULTRAESTRUCTURA DEL SARCOPLASMA (CITOPLASMA)

El complejo de Golgi se encuentra cerca de muchos núcleos, las mitocondrias son abundantes en los polos de los núcleos y por debajo del sarcolema, hay un considerable número de ellas alojadas en los espacios estrechos que quedan entre las miofibrillas, de acuerdo con las elevadas necesidades de energía para la contracción, su asociación íntima con los elementos contráctiles coloca la fuente de energía química (ATP) cerca de los lugares de su utilización en las miofibrillas. El retículo sarcoplásmico, un sistema continuo de sarcotúbulos limitados por membranas que se extienden por todo el sarcoplasma y que forman una red canalicular de maya fina en cercanía a cada miofibrilla (figura 1 ).

El retículo sacoroplásmico está en gran parte desprovisto de ribosomas, muestra un patrón repetitivo y especializado de indiferenciación local y que mantiene una relación constante con las bandas de las miofibrillas estriadas. Los túbulos del retículo que se superponen a las bandas A tienen una orientación logitudinal prevalente pero anastomosada libremente en la banda H (figura 2 ).

### c).- MAQUINARIA CONTRÁCTIL DE LOS MIOFILAMENTOS.

Esta constituida de manera fundamental por proteínas. Los miofilamentos se disponen en paralelo para formar estructuras fibrilares, las miofibrillas. La disposición de los miofilamentos determinamos diferentes tipos de músculo, en el músculo esquelético, los filamentos están orientados longitudinalmente y existe una organización transversal que se repite de modo regular. Las miofibrillas son estructuras cilíndricas alargadas de alrededor de 1 micra de diámetro, cuyas estriaciones resultan de la repetición de una unidad fundamental, el sarcómero, limitada por una línea densa, la línea Z. Esta línea se localiza en el centro de una zona menos densa conocida como banda I, que corresponde al disco relativamente isotrópico. La banda A, anisotrópica a la luz polarizada, tiene una densidad mayor que la banda I. En ciertas condiciones se distingue una zona menos densa en el centro de la banda A, que se divide en 2 semidiscos oscuros. Esta zona constituye el disco H (disco de Hensen), en cuyo centro puede observarse la línea M. Morfológicamente se distinguen 2 clases de miofilamentos los gruesos formados por miosina, de 100 A de espesor y 1.5 micras de largo, separados por un espacio de 400 A y los filamentos finos que tienen una composición más compleja, con varias proteínas (actina, tropomiosina y las troponinas), de las cuales la actina es la más importante que tiene 50 A de espesor y 1.0 micras de largo. Ambos tipos de filamentos se encuentran al mismo nivel y se superponen en una extensión que depende del grado de contracción del sarcómero. En el estado de relajación, la banda I contiene únicamente filamentos finos, la banda H solo filamentos gruesos, y la banda A filamentos finos y gruesos que se superponen. En un corte transversal de la banda A, se observa mejor la disposición regular de las 2 clases de filamentos. En el músculo de los vertebrados, cada filamento grueso está rodeado de 6 filamentos finos, y cada filamento fino se halla situado simétricamente entre 3 gruesos, como consecuencia de esa disposición, el número de filamentos delgados duplica a los filamentos gruesos.



Fig 1. Micrografía de un corte longitudinal de músculo esquelético que pasa tangencialmente a una miofibrilla. Los túbulos longitudinales del retículo sarcoplásmico y dos triadas orientadas transversalmente a nivel de las uniones A-I. Las partículas del glucógeno aparecen entre los sarcotúbulos. B. Corte longitudinal del músculo que ha sido sumergido en peroxidasa. El producto denso de reacción de la peroxidasa aparece en la luz de los túbulos, se demuestra así la continuidad de la luz tubular con el espacio extracelular. (tomado de: Fawcett, 1996).

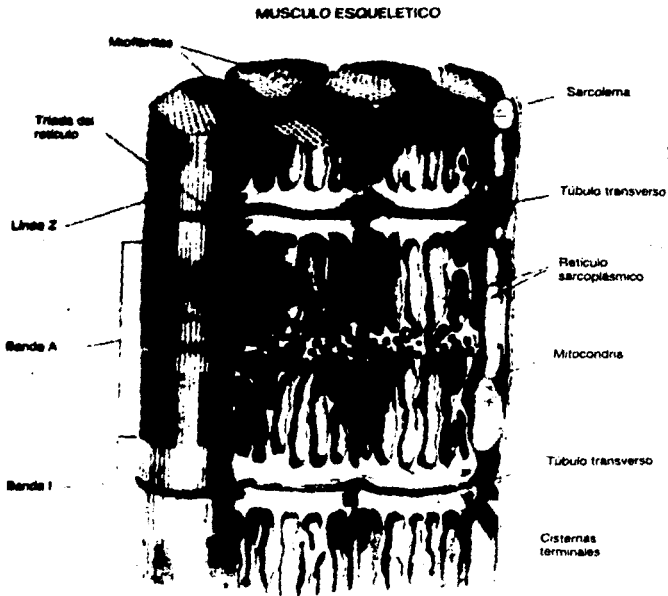


Fig 2. Dibujo esquemático de la distribución del retículo sarcoplásmico en torno a las miofibrillas del músculo esquelético de anfibio. Los sarcotúbulos longitudinalmente reúnen en unas cisternas terminales transversales. El túbulo T, transversal delgado, penetra desde el sarcolema y está flanqueado por dos cisternas terminales. Se constituyen así las "triadas" del retículo. En el músculo de anfibios las triadas están a la altura de las líneas Z. En el músculo de los mamíferos hay 2 por cada sarcómero, localizadas en las uniones A-I (tomado de Fawcett, 1996)

## ULTRAESTRUCTURA DE LAS MIOFIBRILLAS

La miofibrilla es la unidad más pequeña del material contráctil al microscopio electrónico y está compuesta por unidades menores: los miofilamentos, éstos son de dos clases diferentes por sus dimensiones y por su composición química. El patrón de bandas transversales del músculo estriado reflejan la disposición de estos dos conjuntos de filamentos. Los miofilamentos de miosina, más gruesos de 15 nm de diámetro y de  $1.5\mu\text{m}$  de largo son paralelos y están separados entre sí 45 nm. Los conjuntos paralelos de miosina son el componente principal de las bandas A y determinan su longitud, los filamentos son algo más gruesos en su porción media y se adelgazan hacia sus extremos, se mantienen en registro por medio de una delgadas conexiones transversales que están alineadas en el punto medio de la banda y dan origen a la línea M. En los cortes transversales, a nivel de la banda H, los filamentos están dispuestos con una ordenación extremadamente regular. Los filamentos de actina de  $5\mu\text{m}$  de diámetro, se extienden a lo largo de  $1\mu\text{m}$  en ambas direcciones a partir de la línea Z y constituyen así la banda, no se limitan a esta banda, sino que se extienden a la banda A, donde ocupan los intersticios entre los filamentos gruesos ordenados hexagonalmente. En los cortes transversales cerca de los extremos de la banda A, los perfiles puntiformes de 6 filamentos de actina quedan regularmente espaciados en torno a cada filamento de miosina, la profundidad a la cuál los extremos de los filamentos de actina penetran dentro de la banda A varía con el grado de contracción en la relajación, los filamentos delgados que se extienden en el interior de la banda desde los extremos opuestos no llegan a contar. La distancia entre sus extremos determina la anchura de la banda H, la cuál se define como una región central de la banda A en la que no penetran los filamentos de actina, en las miofibrillas estiradas la banda H es por ello más ancha, mientras que en estado de contracción es muy estrecha o está completamente ausente (figura 3).



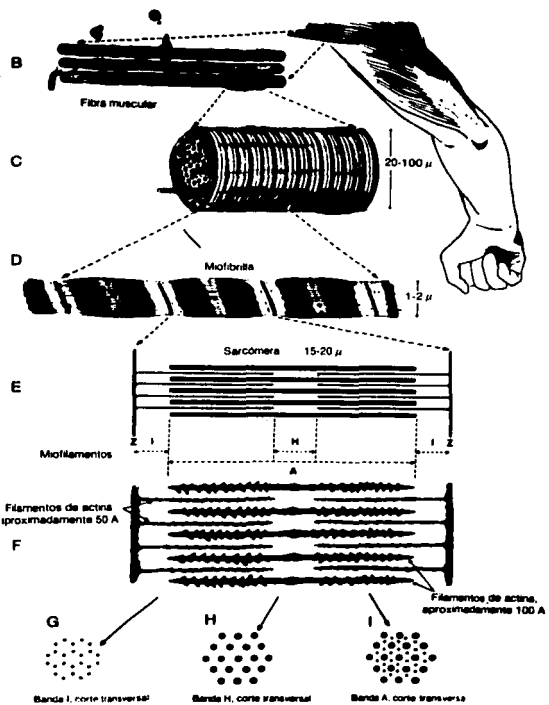


Fig 3. Esquema de la organización del músculo esquelético desde el nivel macroscópico al molecular, F, G, H e I muestran la disposición de los filamentos en los cortes transversales a los niveles indicados en E. ( tomado de: Fawcett, 1996).

En la región de su interdigitación en los extremos de la banda A, los filamentos paralelos gruesos y finos están separados por sólo 10 a 20 nm, esta estrecha distancia es atravesada por puentes transversales que se extienden radialmente desde cada filamento de miosina hacia los filamentos de actina que los rodean, cada filamento de actina, al acercarse a la línea Z, parece continuarse con 4 finas hebras divergentes llamados filamentos Z, cada uno de ellos corre oblicuamente a través del disco Z, hacia un filamento de actina del otro lado. Los filamentos de actina al acercarse a la línea Z desde lados opuestos, no coinciden en un mismo punto, por ello en los cortes longitudinales los filamentos Z que los interconectan presentan un característico patrón de zig-zag. Además de los filamentos Z parece que existe un componente amorfo, simplemente llamado "material del disco Z" o "matriz del disco Z". La naturaleza química exacta de los filamentos Z no está clara. Además de los complejos de filamentos de actina, la banda Z contiene la proteína alfa-actinina, que contribuye a su densidad electrónica y que juega probablemente algún papel en la unión de los filamentos de actina.

Los filamentos gruesos aislados miden 1.5  $\mu\text{m}$  de largo, tienen una región central lisa, pero hacia cada extremo presentan proyecciones laterales cortas, que corresponden a los puentes transversales que se ven entre los filamentos gruesos y finos en las miofibrillas intactas, cuando se lleva adelante la disociación de estos filamentos se obtienen moléculas de miosina. Estas son estructuras en bastoncillo de unos 200 nm de largo por 2 a 3 nm de diámetro, constituidas por 2 polipéptidos trenzados helicoidalmente, cada uno de los cuales termina en una cabeza globular que se desvía lateralmente con relación al cuerpo de la molécula, las cabezas de la molécula forman los puentes transversales del filamento de miosina y son el asiento de la actividad ATPásica de la miosina y el lugar de enlace con el ATP.

Los filamentos finos aislados son de alrededor de 1  $\mu\text{m}$  de longitud y se identifican bioquímicamente como actina filamentososa (actina F). Aumentos muy grandes tienen un aspecto arrosariado y se ha demostrado que están constituidos por subunidades globulares de 5.6 nm de diámetro, polimerizadas para formar 2 cordones entrelazados helicoidalmente, cuyas vueltas son de una longitud de 36 nm. Unidas a la doble hélice de actina hay un filamento de tropomiosina que corre a lo largo del surco entre 2 cordones entrelazados de actina. La molécula de Tropomiosina es de unos 40 nm de longitud y está formada por 2 cadenas polipeptídicas en una configuración helicoidal (Fawcett D. W., 1993).

#### d).- FUENTES DE ENERGÍA

Cuando el músculo realiza poca actividad, los requerimientos energéticos son cubiertos preferentemente por la degradación oxidativa de ácidos grasos y cuerpos cetónicos, pero durante la actividad intensiva se consume una gran cantidad de ATP, por lo cual ese tejido debe contar con un sistema que le garantice el abasto de energía, y de hecho, cuenta con dos sistemas eficientes: por un lado obtendrá energía al oxidar glucosa por vía anaerobia, con producción de lactato, tomando la hexosa directamente del torrente sanguíneo y/o degradando sus depósitos de glucógeno: en relación con esta actividad metabólica, es importante considerar que el producto terminal de la glucogenólisis es la glucosa-6-fosfato, que no podrá salir de la célula hacia el torrente circulatorio, ya que el músculo carece de glucosa-6-fosfatasa, por lo que toda la glucosa producida en estos momentos será utilizada exclusivamente por la célula muscular.

Por otro lado, cuenta con un verdadero "almacén de ATP", pues es capaz de acumular una gran cantidad de creatinina fosfato, metabolito de alto valor energético que es sintetizado por la creatinina fosfoquinasa (CPK) por transferencia de un fosfato del ATP a la creatinina; ésta a su vez es sintetizada en el hígado a partir de aminoácidos (arg, glic y met). En el momento en que la concentración de ADP aumenta como consecuencia del ejercicio, la reacción opera en sentido contrario y el ADP se fosforila. La creatinina fosfato al perder su fosfato se transforma en creatinina que se difunde libremente al exterior celular y se elimina por orina (Figura 4).

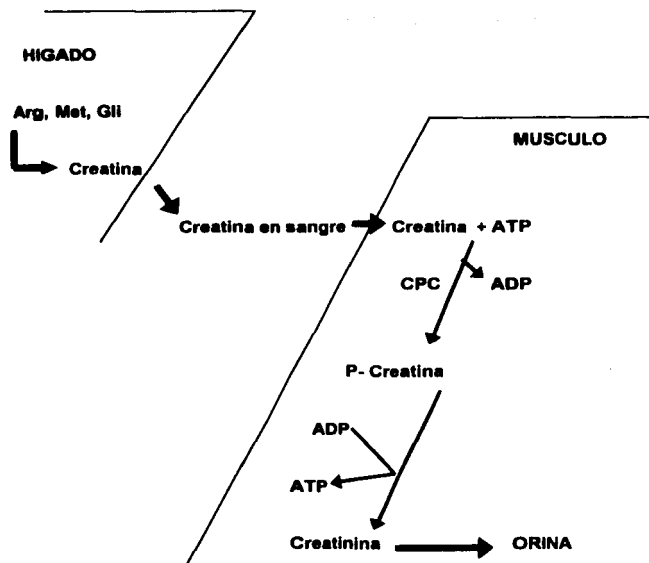


Fig 4. La fosfocreatina es utilizada por el músculo como reserva energética. Este compuesto es sintetizado a partir de ATP y creatina por la enzima creatina fosfoquinasa (CPK). (Tomado de: Vadillo, 1988).

Todas las células musculares son capaces para utilizar los sistemas mencionados para obtener energía en forma de ATP, sin embargo, existe heterogeneidad entre ellas, pues algunas la obtienen preferentemente usando una de las vías metabólicas. En la estructura tisular del músculo esquelético es posible distinguir por medios histoquímicos dos tipos de fibras; las llamadas fibras tipo I, que son células que llevan a cabo preferentemente procesos oxidativos aerobios como medio para obtener su aporte energético, son inervadas por neuronas motoras de descarga lenta y participan en el mantenimiento del tono postural; por otro lado, las fibras del tipo II son ricas en enzimas glucolíticas, inervadas por neuronas de descarga rápida y participan en actividades musculares de reacción (Vadillo y González 1990).

#### g).- GLUCÓGENO

Las células de los animales almacenan los carbohidratos en forma de un polímero de la D-glucosa, según las necesidades de la propia célula, es despolimerizado dando lugar a glucosa, que a su vez constituye una de las principales fuentes energéticas para los procesos metabólicos y cadenas carbonadas cortas, que son utilizadas de nuevo en las síntesis constituyentes del protoplasma. Los principales órganos de almacenamiento de carbohidratos en el organismo son el hígado y el músculo esquelético, aunque en las células del resto de los órganos existen también pequeñas cantidades de éstos compuestos. El glucógeno no es visible en las preparaciones histológicas habituales, sin embargo cuando es muy abundante se puede teñir mediante la reacción del ácido peryódico de Schiff. Con el microscopio electrónico el glucógeno se observa en forma de gránulos densos de 20 a 30 nm, con un contorno irregular que se denominan partículas beta. En el hígado éstas partículas se agrupan formando agregados de mayor tamaño, las partículas alfa que se pueden localizar en cualquier parte del citoplasma pero que pueden estar más concentradas en las zonas con abundante retículo endoplasmático liso. Se ha señalado que las membranas de éste organelo contienen las enzimas glucógeno fosforilasa que convierten el glucógeno en glucosa, y glucosa 6-fosfatasa que está implicada en la degradación de la glucosa ó glucólisis (Fawcett, 1996).

El glucógeno y lípidos ambos son depósitos del músculo normal en varias cantidades según el tipo de fibra, pero en ciertas enfermedades cantidades excesivas pueden acumularse en áreas donde los filamentos tienden a degenerar. También pueden encontrarse en la membrana ligados a sacos, los cuales son considerados de origen lisosomal (Dubowitz 1973).

## V.- MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron las biopsias practicadas en 10 pacientes que fueron enviados al Laboratorio de Neuropatología Experimental del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez". Y que provenían de diferentes instituciones hospitalarias con Diagnóstico de Distrofia Muscular Progresiva. Los pacientes fueron hombres y mujeres de edades diferentes, incluyendo niños. La biopsia fue tomada del músculo cuádriceps por tener valores normales conocidos de este músculo. Para tomar la biopsia se anestesió localmente la parte donde se toma la muestra, infiltrando la piel con Xilocalina al 2 % y se procede a hacer una incisión de 1.5 a 2.5 cm en dirección de las fibras musculares, la piel se retrae y se expone la fascia muscular, el músculo se remueve y se sujeta con las pinzas y se procede a aislar un cilindro muscular de 1.5 cm de longitud por 0.5 cm de ancho, el cuál se sujeta con hilo de sutura. El fragmento de músculo se recibe en una gasa humedecida en solución fisiológica y se deja reposar 30 minutos a una temperatura de 5 °C para evitar la contracción de las fibras, posteriormente la muestra de tejido se divide en tres partes. La primera se congeló en Nitrógeno líquido y se cortó en el criostato realizándose secciones de 5 micrómetros de espesor y se tiñeron con hematoxilina y eosina, tricrómico modificado de Gomori, y se sometieron a las siguientes reacciones histoquímicas: ATPasa pH 9.4, 4.6 y 4.3, NADH- tetrazolium reductasa. La segunda porción de músculo se fijó en formalina e incluyó en parafina. La tercera porción se utilizó para la parte experimental de ésta tesis, como se describe a continuación:

Para Microscopía Electrónica se cortó la muestra en pequeños fragmentos de 1 mm<sup>3</sup> aproximadamente en dirección de las fibras y se fija en glutaraldehído al 2.5 % en buffer de cacodilato 0.1 M a pH 7.2 durante 1 hora a temperatura ambiente.

2.- Se enjuagó la muestra en amortiguador de cacodilatos durante 10 minutos.

- 3.- Se post-fijó la muestra en tetraóxido de osmio al 1 % por una hora.
- 4.- Se enjuagó la muestra en el mismo amortiguador por 10 minutos.
- 5.- Se procedió a la deshidratación con acetonas graduales de 50%, 70%, 90% y dos cambios en acetona de 100%, 10 minutos en cada una.
- 6.- La preinclusión se realizó en acetona al 100%-Epón en partes iguales por 18 horas.
- 7.- Se incluyó la muestra en resina epóxica ( EPON ) y se polimerizó a 60 °C por 18 horas.
- 8.- Se talló la pirámide en los bloques de resina, se realizaron los cortes semifinos de 1 micra de espesor, con un ultramicrotomo Reichert Austria Om U3 y se tiñeron con azul de toluidina para elegir el área de estudio.
- 9.- Luego se realizaron cortes finos de entre 60 y 90 nm de espesor, montados en rejillas de cobre y contrastados con Acetato de Uranilo al 3 % y Citrato de Plomo al 0.3 %, por 15 y 10 minutos cada uno respectivamente.
- 10.- Se observaron las rejillas en el Microscopio Electrónico Zeiss EM-10 y se tomaron las electromicrografías de las áreas seleccionadas a diferentes aumentos desde 4794x hasta 46665x respectivamente.
- 11.- Se realizó la Interpretación de cada una de las imágenes registradas (10 a 12 por caso) .



## VI.- RESULTADOS

De los 10 pacientes diagnosticados con Distrofia Muscular de Cinturas se observó que 6 tenían una edad de inicio que fluctuaba entre 6 a 27 años, con un tiempo de evolución a partir de los primeros síntomas de 2 a 8 años, de estos 4 eran del sexo femenino y 2 del sexo masculino presentándose debilidad en ambas cinturas, iniciándose en la escapular y siendo más marcada en la cintura pélvica.

En el suero la creatinina fosfoquinasa se encuentra elevada de 300 a más, normal para hombres CPK270V/l y para mujeres CPK150V/l (valores de referencia); además también esta ligeramente elevada la concentración del glutámico oxaloacético.

Las Distrofias se consideran enfermedades hereditarias y en muchos casos no puede identificarse patrón familiar. Esto puede explicarse por la presencia de un rasgo recesivo latente en la familia o por la aparición de mutaciones \* de novo\* espontáneas (Robbis, 1989). De los casos estudiados, sólo 2 presentaron antecedentes con patrón autosómico recesivo, en el análisis ultraestructural se observó la pérdida de continuidad de la fibra, desfazamiento y acortamiento de las sarcómeras, con la pérdida de miofibrillas; se identificaron zonas con abundante glucógeno y mitocondrias de forma irregular (Figuras 17 y 18). En los cortes transversales se observó que las miofibrillas se encontraban muy separadas y con abundantes depósitos de glucógeno, mientras que las mitocondrias presentaron forma irregular. En las miofibrillas se pierde la organización de los miofilamentos de miosina y actina. Los 4 pacientes restantes presentaron una edad de inicio de 6 a 15 años con un tiempo de evolución de 10 a 43 años. En el caso del paciente (6) con 43 años de evolución de la distrofia, los cambios fueron pérdida de miofibrillas, desfazamiento y acortamiento de las sarcómeras, abundantes depósitos de glucógeno, desorganización de los miofilamentos y ausencia de miosina (Figuras 5 y 6). En la tabla 2 se muestra un resumen de los cambios morfológicos observados, en cada caso estudiado y el grado de afección o tipo de lesión que se presenta en los dos tipos de fibras.

En la tabla 2a se presentan detalles histopatológicos en contrados en cada caso. Y en la tabla 3 se muestran los aspectos ultraestructurales que se vieron alterados en los casos analizados

**Tabla 2. Resultados obtenidos por microscopia de luz. Cambios morfológicos cualitativos de cada caso.**

No. DE CASO	EVOLUCIÓN (AÑOS)	CINTURA+ AFECTADA	FIBRAS TIPO I	FIBRAS TIPO II
1	10	Pélvica	Atróficas * Hipertroficas**	Atróficas * Hipertroficas **
2	2	Pélvica	Atróficas *** Hipertroficas *	Atróficas *** Hipertroficas***
3	3	Pélvica	Atróficas * Hipertroficas **	Atróficas * Hipertroficas **
4	15	Pélvica	Atróficas ** Hipertroficas **	Atróficas ** Hipertroficas *
5	13	pélvica	Atróficas * Hipertroficas **	Atróficas ** Hipertroficas *
6	43	Pélvica	Atróficas * Hipertroficas***	Atróficas * Hipertroficas***
7	5	Pélvica	Atróficas *** Hipertroficas *	Atróficas *** Hipertroficas *
8	6	Pélvica	Atróficas * Hipertroficas *	Atróficas ** Hipertroficas *
9	6	Pélvica	Atróficas * Hipertroficas *	Atróficas * Hipertroficas *
10	8	Pélvica	Atróficas * Hipertroficas***	Atróficas * Hipertroficas***

Clave Frecuencia : \* escasas, \*\* moderadas, \*\*\* abundantes.

**Tabla 2a. Estudio Histopatológico.**

<b>No. DE CASO</b>	<b>FIBRAS PARTIDAS</b>	<b>CAMBIO INTERSTICIALES</b>	<b>TEJIDO ADIPOSEO</b>	<b>NÚCLEOS INTERIORES</b>	<b>FIBRAS APOLILLADAS</b>
1	Numerosas	No hay	*	Tipo II 16%	Numerosas
2	Numerosas y otras fibras necróticas	Fagocitosis, infiltrado inflamatorio abundante y fibrosis moderada	*	Tipo II 16%	Ocasionales
3	Numerosas	Fibrosis moderada	*	Tipo II 12%	Numerosas y miofibrillas arremolinadas
4	Numerosas	Fibrosis moderada	*	Tipo II 10%	Ocasionales fibras arremolinadas
5	Ocasionales	No hay	*	Tipo II 24%	Numerosas
6	Escasas	Fibrosis leve	*	Tipo II 5%	No hay
7	Numerosas	Fibrosis moderada	*	Tipo II 12%	Numerosas y miofibrillas arremolinadas
8	Ocasionales	Fibras necróticas, fagocitosis, infiltrado inflamatorio, fibrosis leve intrafascicular	*	Tipo II 6%	Numerosas
9	Escasas	Fibrosis leve, escasas fibras necróticas	No hay	Tipo II 6%	Ocasionales
10	Escasas	Fibrosis moderada, ocasional infiltrado inflamatorio	Abundante periférico intrafascicular	Tipo II 5%	No hay

clave \* escaso

**Tabla 3. Resumen de los cambios ultraestructurales observados en cada caso estudiado.**

Nº. DE CASO Y SEXO	SARCÓMERAS AFECTADAS	MITOCONDRIAS	FILAMENTOS DE ACTINA Y MIOSINA ALTERADOS	DÉPOSITOS DE GLUCÓGENO	POSIBLE CROMOSOMA INVOLUCRADO
1 - F	**	*	**	***	13q
2 - F	***	***	**	*	13q
3 - M	**	***	**	***	13q
4 - F	**	*	**	***	13q
5 - F	***	***	***	***	13q
6 - F	***	*	**	*	15q
7 - M	***	*	**	***	15q
8 - F	***	*	**	*	15q
9 - F	**	***	**	*	15q
10 - F	**	***	**	***	15q

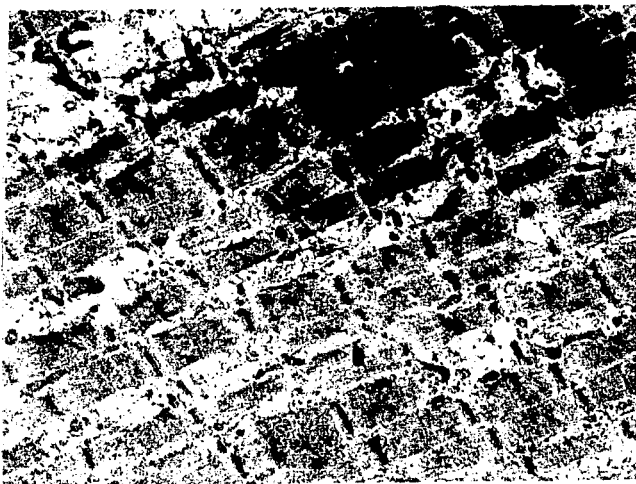
Clave: \* escasas, \*\* moderadas, \*\*\* abundantes.

**IMAGENES DEL ASPECTO ULTRAESTRUCTURAL DEL**  
**MÚSCULO ESQUELÉTICO**



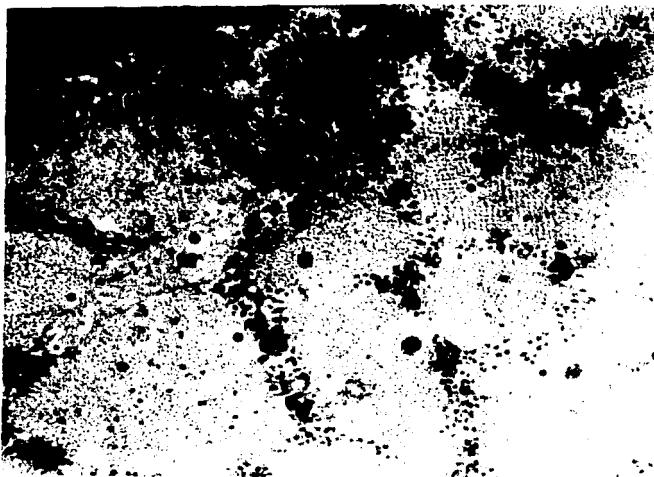
**Fig. 5**

Mujer de 58 años: Sin antecedentes hereditarios de importancia, alergias al polen y penicilina, inicia su padecimiento desde los 15 años al notar disminución en la fuerza muscular del miembro superior derecho en forma moderada pero ha sido progresiva. A los 57 años nota la presencia de disminución en la fuerza muscular del miembro superior izquierdo, también nota dificultad para subir y bajar escaleras, sin alteraciones sensitivas. Micrografía electrónica de un corte transversal del tejido muscular del caso 6, en donde se muestra a las miofibrillas muy separadas por edema ( E ) y acumulo de glucógeno ( G ) . Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 4794x.



**Fig. 6**

**Micrografía electrónica en un corte longitudinal y a mayor aumento del caso 6, donde se observan las miofibrillas, las cuales muestran espesor variable, disgregación (D), ruptura (R) y pérdida de miofilamentos (P). Acetato de Urano y Citrato de Plomo. 9180x**



**Fig. 7**

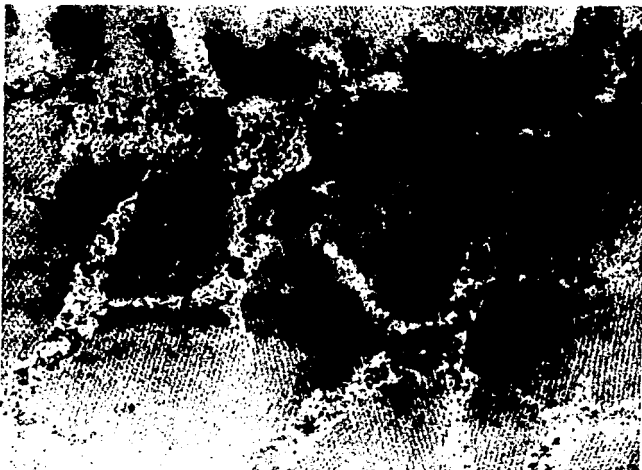
**Mujer de 16 años: Inicia su sintomatología a los 6 años de edad con debilidad de las extremidades inferiores y superiores, manifestada por caídas frecuentes y dificultad para sostener objetos pesados y subir escaleras, su evolución es lenta y progresiva. No hay antecedentes familiares de la enfermedad. Micrografía electrónica en un corte transversal del aspecto general de las miofibrillas del paciente del caso 1. Hay irregularidad en la disposición de los miofilamentos (\*), se presentan depósitos de glucógeno (G) y se identifica una mitocondria modificada (M). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 46665x**





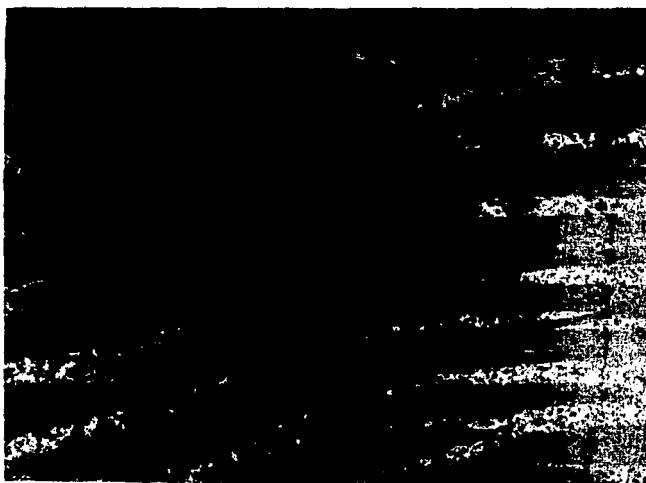
**Fig. 8**

Mujer de 23 años, inicia su padecimiento a los 10 años con pérdida paulatina y progresiva en la fuerza muscular de las extremidades superiores e inferiores (en forma simultánea) al ir caminando nota disminución de la fuerza o al realizar sus quehaceres diarios se fatiga al elevar las extremidades superiores, la debilidad se incrementa y es incapaz de subir sola las escaleras. Micrografía electrónica de un corte longitudinal del caso 5, en donde se observa la interrupción y pérdida de los miofilamentos tanto de actina como los de miosina ( P ), hay acúmulos de glucógeno ( G ) y algunas mitocondrias ( M ) , la línea Z muestra una altura muy irregular . Acetato de Uranilo y



**Fig. 9**

**Mujer de 33 años: inicia su enfermedad alrededor de los 8 años y dificultad para subir escaleras. A la edad de 13 años al caminar sentía que las piernas se le doblaban y al realizar ejercicio las piernas le temblaban; a partir de los 20 años comienza a notar disminución de la fuerza del miembro superior izquierdo y mayor dificultad para subir escaleras, con un incremento en la lordosis.. Micrografía Electrónica de un corte transversal del caso 4, donde los cambios estructurales son leves o con menor intensidad, donde el tiempo de evolución fue de 15 años. Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 46645x**



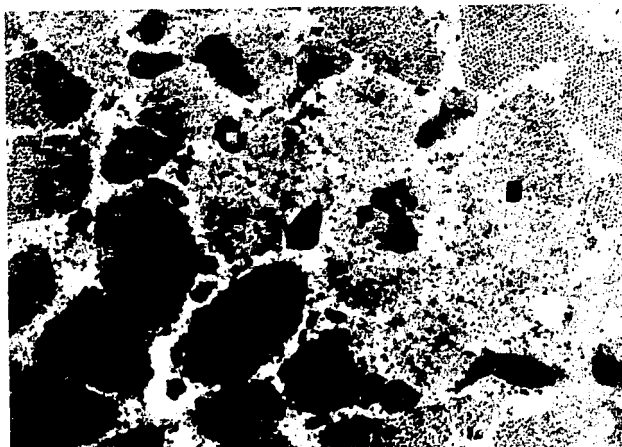
**Fig. 10**

Niño de 11 años: Inicia su padecimiento a los 8 años de edad, con dolor en ambas piernas, dificultad para subir escaleras, debilidad a nivel de cinturas pélvica y escapular, a los 10 años presenta torpeza al caminar y persistencia a caminar con las puntas de los pies con pseudohipertrofia de las pantorrillas, además presenta pie equinovaro, hiporreflexia generalizada. Micrografía Electrónica de un corte longitudinal del caso 3, donde se nota la irregularidad en el espesor y longitud de las miofibrillas (\*), También se presenta un desfazamiento anormal del sarcómera (S) y mitocondrias de diferentes tamaños (M) Acetato de Uranio y Citrato de Plomo. 15300x



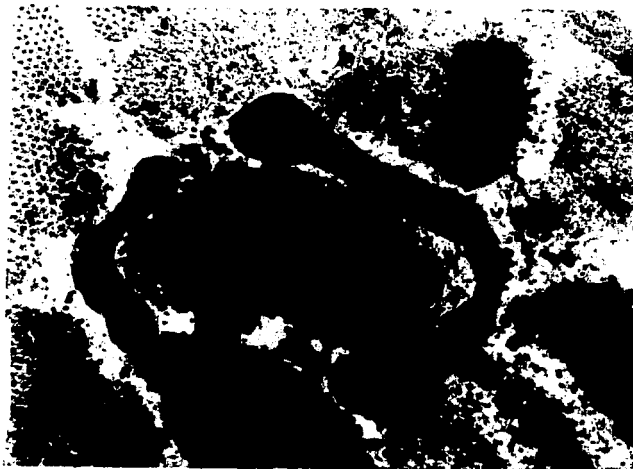
**Fig. 12**

**Micrografía Electrónica del caso 7 en un corte longitudinal en donde se nota la irregularidad en el espesor y longitud de las miofibrillas ( \* ), desfazamiento de la sarcómera ( S ), una vacuola de grasas divide a la miofibrilla ( V ). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 46665x.**



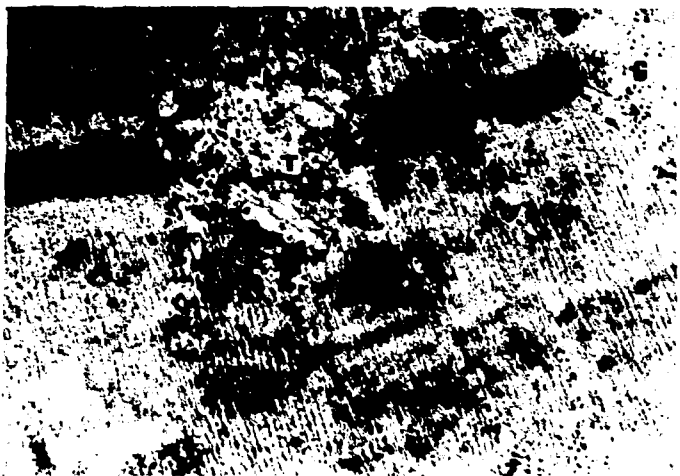
**Fig. 13**

**Niña de 8 años: Inicia su padecimiento a los 6 años con debilidad en las extremidades inferiores y dificultad para subir escaleras, sin antecedentes familiares. Micrografía Electrónica de un corte transversal del caso 2 donde se observan numerosas miofibrillas con desorganización, disgregación ( D ) y ausencia de miofilamentos ( P ). Entre ellas hay mitocondrias modificadas ( M ). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 37179x**



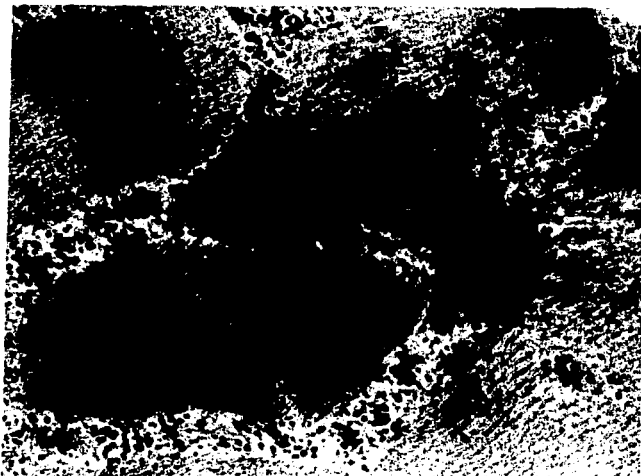
**Fig. 14**

**Micrografía Electrónica a mayor aumento del caso 2, en otra región de la fibra. Donde se observan miofibrillas alteradas ( Mf ) y 2 mitocondrias de forma irregular ( M ). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 46665x**



**Fig. 15**

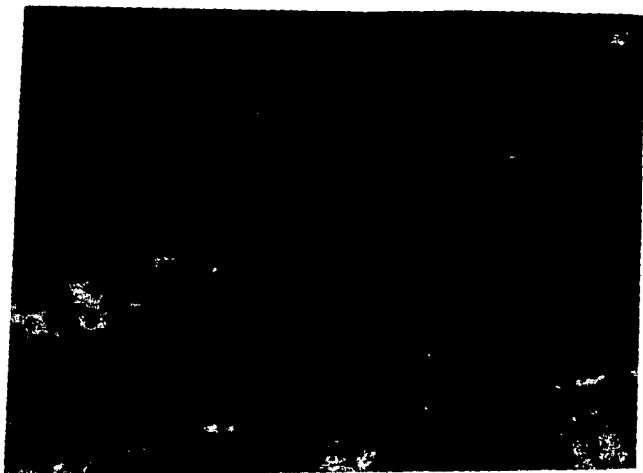
**Mujer de 29 años: Inicia su padecimiento a los 23 años con dolor lumbar, con dificultad para correr y desde niña tuvo debilidad muscular, sin antecedentes familiares. Micrografía Electrónica de un corte longitudinal del caso 8, en donde se identifican cambios en el sistema " T " , Hay un plegamiento de las estructuras membranosas con depósitos de glucógeno ( G ). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 46665x.**



**Fig. 16**

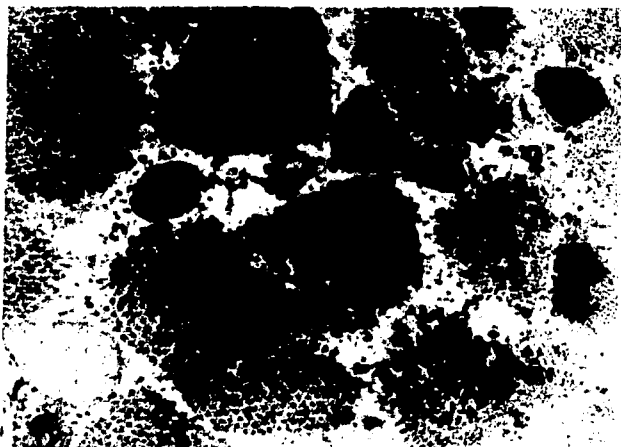
Mujer de 31 años: Inicia su padecimiento a los 25 años, presenta dificultad para subir escaleras y con caídas ocasionales al caminar, disminución de la fuerza en miembros superiores, y se tienen antecedentes familiares de la enfermedad. Micrografía Electrónica en un corte transversal del caso 9, donde algunas miofibrillas muestran sólo disgregación y ausencia de miofilamentos de actina y miosina ( D ), depósitos de glucógeno ( G ) y algunas mitocondrias ( M ). Acetato de Uranio y Citrato de Plomo. 46665x





**Fig. 17**

**Micrografía Electrónica del caso 9 en corte longitudinal, en donde se identifican notorias alteraciones de las miofibrillas ( Mf ) , las cuales modifican la disposición de las sarcómeras así como la ausencia de las sarcómeras ( S ). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 15300x**



**Fig. 18**

Mujer de 35 años: inicia su padecimiento a los 27 años, con disminución de la fuerza de miembros inferiores, presenta dificultad para subir escaleras, a los 31 años nota disminución de la fuerza de miembros superiores, presenta dificultad para sostener objetos pesados, su evolución ha sido lenta, tiene lordosis a nivel lumbar. Tiene familiares directos afectados, en este caso el padre. Micrografía Electrónica del caso 10 en un corte transversal. Las miofibrillas presentan alteraciones estructurales por la pérdida de miofilamentos gruesos principalmente ( Mf ) aparecen gránulos de glucógeno dispersos entre las miofibrillas ( G ). Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo. 46665x.

Las observaciones realizadas mediante microscopía electrónica revelaron que las fibras presentan mitocondrias periféricas y áreas focales con desplazamiento de la línea Z y rompimiento de miofibrillas, lo cual sugiere que esto puede progresar de fibras lobuladas, las cuales se originan de un desorden morfológico (Bethlem J. *et al.*, 1973; Guerard. *et al.*, 1985).

Las áreas sarcoplásmicas contienen acúmulos de gránulos de glucógeno y algunas mitocondrias de estructura, tamaño y forma normal, excepto en algunas que presentan inclusiones paracrystalinas. Los gránulos de glucógeno y el número de mitocondrias varía en las diferentes figuras (Bethlem. *et al.*, 1973).

Ultraestructuralmente, en los casos analizados en este estudio se observó que las fibras presentan desorganización focal de las miofibrillas por la ausencia de miofilamentos de miosina (Fig 14 ), el glucógeno en algunas zonas es abundante, en donde hay pérdida de miofilamentos, en los cortes transversales se puede observar (Figs. 7, 14 y 16 ).

También se puede notar la separación de miofibrillas como algunas formas irregulares de las mitocondrias, en los cortes longitudinales se nota el desfazamiento de las sarcómeras, acortamiento y pérdida de las mismas (Figs. 6, 10 y 17 ). Para descartar la posibilidad que esto se debiera a una mala fijación, la muestra se maneja lo más rápido posible y se fija en glutaraldehído al 2.5 %, que preserva la morfología celular, su acción fijadora no hace perder la actividad enzimática y preserva las lábiles estructuras intracelulares.

En los casos de comienzo tardío los daños no son tan marcados y las fibras musculares presentan zonas intercaladas (Fig. 17 ), de una región sana y una dañada, que difiere de paciente a paciente. Por lo tanto, la distrofia muscular de cinturas consiste en un patrón heterogéneo autosómico recesivo, aunque ocasionalmente puede ser dominante, con igual distribución entre hombres y mujeres, con un promedio de inicio de 14.7 años, aunque en dichos casos el mayor porcentaje fue en mujeres, manifestándose clínicamente en la cintura ambas cinturas, pero acentuándose en la cintura pélvica, en donde además se produce comúnmente pseudohipertrofia de las pantorrillas.

El reconocimiento de la enfermedad clínicamente se hace por medio de procedimientos: electromiográficos, velocidad de conducción del nervio, determinación de enzimas del suero, por lo que los estudios bioquímicos, electrofisiológicos, genéticos, histoquímicos y microscopía electrónica, son de extrema importancia para en el establecimiento exacto del diagnóstico y pronóstico de la enfermedad permitiendo esto un diseño adecuado de los ejercicios y terapias básicas para proporcionar un mejor nivel de vida en los pacientes afectados por la enfermedad de distrofia muscular de cinturas.

## VIII.- APÉNDICE

### Preparación de reactivos

#### Buffer de Cacodilatos:

Acido Cacodílico	19.26 g.
Agua destilada	900 ml

Ajustar a pH 7.2 con HCl 1:1  
Almacenar en el refrigerador.

#### Preparación de la resina epóxica:

Polímero (EPON) glicídico de éter 100	4.3 ml
Endurecedor (DDSA) anhídrido dodecenilsuccínico	4.3ml.
Plastificador (NMA) anhídrido 2,3- metil norbornendicarboxílico	1.9 ml
Catalizador (DMP) (2,4,6 tris(dimetilamina-metil)fenol)	0.33ml

Se mezcla todo en orden y se agita en un solo sentido, se guarda en el refrigerador cuando no se usa y antes de usar se coloca a temperatura ambiente.

#### Medio de Contraste

Acetato de Uranilo al 3 %.

Acetato de Uranilo	0.3 g
Agua destilada	10ml

Disolver el uranilo en agua destilada y ajustar a pH 4.5 con NaOH 10 N y centrifugar 10 minutos a 300 r.p.m

### Citrato de Plomo

Se colocan a ebullición por 5 minutos 200 ml de agua destilada, se deja enfriar para preparar la solución.

NaOH 10 N.

NaOH	4 grs
Agua destilada	10 ml

A 5 ml de NaOH 10 N se le agregan 0.125 mg de citrato de plomo y se afora a 50 ml con agua destilada previamente puesta a ebullición, se le agrega aceite mineral y se centrifuga 10 minutos a 300 r.p.m.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

**IX.- BIBLIOGRAFIA**

- Allamand V, Broux O, Richard I, Fougousse F, Chiannikulcha, Bourg N, Brenguier L, Devaud C, Pasturaud P, Pereira de Souza A, Roudaut C, Tischfield J.A, Canneally P. M, Cohen D and Beckman J. S.: Preferential Localization of the Limb Girdle Muscular Dystrophy Type 2A Gene in the Proximal Part of a 1-cM 15q15.1-q15.3. *Am. J. Hum. Genet* 56:1417-1430, 1995.
- Arikawa E, Hoffman E. P, Kaido M, Nonaka I, Sugita H and Arahata K.: The Frequency of Patients with Dystrophy Abnormalities in a Limb Girdle Patient Populations. *Neurology* 41: 1491-1496. 1991.
- Bethlem J, Van Wijngaarden G. K and Jong De.: The Incidence of Lobulated Fibres in the Facioscapulo-humeral Type of Muscular Dystrophy and the Limb Girdle Syndrome. *Journal of the Neurological Sciences* 18:351-358. 1973.
- Campbell Kevin P.: Adhalin gene mutations and autosomal recessive limb girdle muscular dystrophy. *Annals of Neurology* Vol. 38 No. 3 September 1995.
- Coers C and Telerman-Toppet N. :Differential diagnosis of limb girdle muscular dystrophy and spinal muscular atrophy. *Neurology* 29: 957-972. July 1979.
- Chiannikulchai P, Pasturaud P, Richard Y, Auffray C and Beckmann J S.: A Primary Expression Map of the Chromosome 15q15 Region Containing the Recessive Form of Limb Girdle Muscular Dystrophy (LGMD2A) gene. *Human Molecular Genetics*, Vol. 4 717-725, 1995.
- Chutkow J G, Heffner R R, Kramer A and Edwards J A.: Adult Onset Autosomal Dominant Limb Girdle Muscular Dystrophy. *Annals of Neurology* Vol. 20 No. 2. August 1986.

- Dubowitz V., Brooke M. H.: *Muscle Biopsy a Modern Approach.*, Vol. 2 in the series. *Major Problems in Neurology*. Chapter 12, Ultrastructural change in Muscle Disease, Hans Neville. De. W. B. Saunders Company L. E. A., pag. 383-445. England. 1973.
- Eggers S, Lauriano V, Melo M, Takata R I, Akiyama J, Passos Bueno M R, Gentil V, Frotta-Pessoa O and Zatz M.: *Why is the reproductive performance lower in Becker (BMD) as Compared to Limb Girdle (LGMD) Muscular Dystrophy Male Patients.* *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 60: 27-32, 1995.
- Eliséiev, V. G. : *Histología*. Editorial MIR. Impreso en la URSS. 583 pp. 1985
- Ervasti J M, Ohlendieck K, Karl S D, Gaver M G & Campbell K P.: *Deficiency of a Glycoprotein component of the Dystrophin Complex in dystrophin Muscle.* *Nature*. Vol.345, 24 May, 1990.
- Fardeau M, Hillaire D, Mignard C, Feingold N, Feingold N, Mignard D, De Ubéda B, Collin H, Omé F.M. S, Richard I and Beckmann J.: *Juvenile Limb Girdle Muscular Dystrophy Clinical, Histopathological and Genetic Data From a Small Community Living in the Reunion Island.* *Brain*, 119, 295-308, 1996.
- Fawcett, D. W. *Tratado de histología*. Editorial Interamericana Mc. Graw Hill , Impreso en México D. F. 1044 pp. 1993.
- Fawcett, D. W. *Tratado de histología*. Editorial Interamericana Mc. Graw Hill, Impreso en México D. F , 1044 pp. 1996.
- Geneser. *Histología*. 2da. De. Editorial Panamericana, Impreso en México D. F. 768 pp. 1994.



- Gilchrist J M, Pericak-Vance M, Silverman L and Roses A D.: Clinical and Genetics Investigation in Autosomal Dominant Limb Girdle Muscular Dystrophy. *Neurology*, 38: 5-9, 1988.
- Giometti C y Danon M J .: Heterogeneity of Human Skeletal Muscle Tropomyosin. *Ann Neurol* 18: 234-243, 1985.
- Guerard M. J, Sewry C. A and Dobowitz V.: Lobulated Fibers in Neuromuscular Diseases. *Journal of the Neurological Sciences*, 69: 345-356, 1985.
- Jackson C E and Strehler D A.: Limb Girdle Muscular Dystrophy: Clinical Manifestations and Detection of Preclinical Disease. *Pediatrics*, Vol 41, No. 2 February 1968.
- Kallamand, Broux O, Bourg H, Richard I, Tischfield J. A, Hades M. E, Canneally P. M, Fardeau M, Jackson C. E and Beckmann J. S : Genetic Heterogeneity of Autosomal Recessive Limb Girdle Muscular Dystrophy in a Genetic Isolate (Amish) and Evidence for a New Locus. *Human Molecular Genetics* Vol. 4, No.3 459-463. 1995.
- Kakulas Byron A. : Diseases of clinical Muscle. Pathological Foundations of Clinical Myology. 4th ed. Harper & Row Publishers.1985.
- Lim Leland E., Duclos Franck, Broux Odile, Bourg Nathalie, Sunada Yosshihide, Allamand V, Meyer Jon, Richard I; Moomaw Carolyn, Slaughter Clive, Tomé F. M. S.,Fardeau Michel, Jackson Charles E, Beckmann Jacques & Campbell Kevin P.: Sarcoglycan: Characterization and Role in Limb Girdle Muscular Dystrophy Linked to 4q12. *Nature Genetics*, Vol. 11, November 1995.

Matsumura Kiichiro, Tomé F. M. S, Collin Huguette, Azibi Kemal, Chaoch Milika, Kaplan Jean Claude, Fardeau Michel and Campbell Kevin O.: Deficiency of the 50k Dystrophin Associated Glycoprotein in Severe Childhood Autosomal Recessive Muscular Dystrophy. *Nature*. Vol 359. September, 1992.

- Melo M, Lauriano V, Gentil V, Eggers S, Santos Del Bianca S, Gimenez P R, Akiyama J, Okaborashi H, Frota-Pessoa O, Passos Bueno M R and Zatz M.: Becker and Limb Girdle Muscular Dystrophies: A Psychiatric and Intellectual Level Comparative Study. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 60: 33-38, 1995.

- Mohire, Tandan, Fries T. J, Little B. W, Pendlebury W. W and Bradley W. G.: Early Onset Bening Autosomal Dominant Limb Girdle Myopathy with Contractures (Bethlem myopathy). *Neurology*, 38: 573-580, 1988.

- Norman A , Thomas N, Coakley J and Harper P.: Distinction of Becker from Limb Girdle Muscular Dystrophy by Means of Dystrophin cDNA Probes. *Lancet*, March 4, 1989.

- Panegyres P K, Mastaglia F L and Kakulas Byron A.: Limb Girdle Syndromes. *Clinical, Morphological and Electrophysiological Studies*. *Journal of the Neurological Sciences*, 95: 201-218. 1990.

- Passos Bueno M R, Richard I, Vainzof M, Fougerousse F, Weissenbach J, Broux O, Cohen D, Akiyama J, Marie S. K. N, Carvalho A, Guilherme Luiza, Kalil J, Tsanaclis A, Zatz Mayana and Beckmann J. S.: Evidences of Genetic Heterogeneity in the Autosomal Recessive Adult Forms of Limb Girdle Muscular Dystrophy Following Linkage Analysis with 15q probes in Brazilian Families. *J. Med. Genet*, 30:385-7, 1993.

- Passos Bueno M. R, Bashir R, Moreira E S, Vainzof M, Marie S K, Vasquez L, Lughetti P, Bakker E, Kerrs S, Stephenson A, Strachan T, Mahneh B, Weissenbach J, Bushloy K and Zatz M.: Confirmation of the 2p Locus for the Mild Autosomal Recessive Limb Girdle Muscular Dystrophy Gene (LGMD2B) in Three Families Allows Refinement of the Candidate Region. *Genomics* 27, 192-195, 1995.
  
- Robbins S. L.: *Patología Estructural y Funcional*. 2a edic. Edit Interoamericana, México 1519 pp. 1984.
  
- Shields R W. Jr.: Limb Girdle Syndromes. In *Miology*, by Andrew G. Engel and Clara Franzini-Armstrong. International Edition, McGraw-Hill, Inc. Second Edition. Vol. 2. Cap. 47. México, págs 1258-1274, 1994.
  
- Shogo Kihira and Ikuya Nonaka.: Congenital Muscular Dystrophy. A Histochemical study with morphometric analysis on biopsied muscles. *Journal of the Neurological Sciences*, 70: 139-149, 1985.
  
- Sorensen Schmidt, Sorensen Troels & Sorensen Kurt Virring.: Reversible Limb Girdle Muscular Dystrophy. *Lancet*, December 10, 1988.
  
- Speer M C, Yamaoka L, Gilchrist J H, Gaskell S. C. P, Stajich J M, Vance J M Kazantsev AI, Lastra A A, Hayner C S, Beckman J S, Cohen D, Weber J L, Roses Allen D and Pericak-Vance Margaret A. :Confirmation of Genetic Heterogeity in Limb Girdle Muscular Dystrophy: Linkage of an Autosomal Dominabt Form to Chromosome 5q; *Am. J. Hum. Genet* 50:1211-1217. 1992.
  
- Udd Bjame.: Limb Girdle Type Muscular Dystrophy in a Large Family with Distal Myopathy: Homozygous Manifestation of a Dominant Gene. *J. Med Genet*, 29: 383-389, 1992.

- Vadillo Ortega F y González Ávila G.:Capítulo 10. Función Muscular. De Hicks Juan Jose y Díaz Juan.: Bioquímica E. Inmunología. 1a. Edición. Editorial Facultad de Medicina. Páginas 181-189. 1998.

- Young K, Foroud T, Williams P, Jackson C. E, Beckmann J: S, Cohen D, Conneally P: M, Tischfield J and Hodes M. E.: Confirmation of linkage of limb girdle muscular dystrophy, type 2, to chromosome 15. Genomics 13, 1370-1371. 1992.