

JUAN MANUEL JIMÉNEZ CARDOSO*
KURT AMBROSIUS DIENER*
LUIS CISNERO SOTELO*
JORGE MARTÍNEZ DE VELASCO**
ELIZABETH MRAVKO MALDONADO*

MICROSCOPIA DE LUZ Y ELECTRONICA EN LA DISTROFIA MUSCULAR CONGENITA

LA DISTROFIA muscular es una miopatía genéticamente determinada, caracterizada por degeneración de los músculos esqueléticos, sin alteraciones en la inervación, aun cuando se encuentren cambios regresivos severos^{1,5,6,10,11,13}. La etiología es desconocida y puede producir muerte tempranamente.

El problema del diagnóstico de los padecimientos musculares es grande, ya que la sintomatología suele ser ambigua, la electromiografía sólo proporciona diagnósticos fisiopatológicos; las pruebas químicas son escasas e inespecíficas y la biopsia muscular que es la mejor arma existente, tiene el inconveniente de estar limitada a los casos en fase inicial del padecimiento o los con lesiones poco ostensibles^{2,3,7,9,15}.

Con el propósito de hacer un estudio comparativo de la ultraestructura del músculo con su aspecto

morfológico al microscopio de luz, realizamos el presente estudio en pacientes con distrofia muscular congénita.

MATERIAL Y MÉTODOS

Realizamos un estudio comparativo al microscopio de luz y al microscopio electrónico en biopsias musculares provenientes de ocho paciente, de diferentes edades, con distrofia muscular congénita, y otros cinco pacientes más, sin patología muscular, grupo que nos sirvió de control.

Se seleccionó un músculo fácilmente accesible y afectado por la enfermedad^{7,12,14}. Con la técnica habitual de asepsia se preparó la región de la biopsia y se aplicó anestesia local con xilocaína, cuidando de no infiltrar el músculo.

Se hizo una incisión de piel, de 2.5 cm de largo. Se incidió la fascia muscular siguiendo el eje longitudinal de las fibras musculares; se aisló un fragmento de músculo por disección roma, aproximadamente de 1.5 cm con tijeras de filo fino, se cortó el

* Departamento de Anatomía Patológica.

** Servicio de Ortopedia. Del Centro Hospitalario "20 de Noviembre" ISSSTE. México, D. F.



Fig. 1. Haces de fibras musculares normales con sus estriaciones transversales características. 650 x

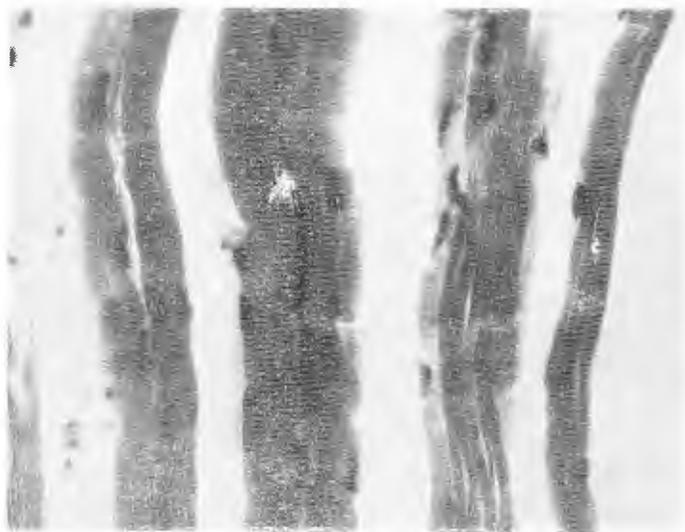


Fig. 2. Fibras musculares normales (n) y fibras de menor calibre (c). 450 x

fragmento en sus extremos y con cuidado para no desgarrarlo o sobreestimarlo, se quitó del cuerpo muscular y se extendió cuidadosamente sobre una superficie estéril no absorbente; en seguida con una hoja de rasurar esterilizada (previamente limpiada con acetona para desengrasarla) montada en una pinza hemostática, se hicieron dos incisiones longitudinales a las fibras musculares, separando en tres fragmentos la biopsia del músculo.

Un fragmento se introdujo en un frasco conteniendo 98.5% de solución de Zenker y 1.5% de ácido glutárico. Otro se colocó durante 30 minutos en una caja de Petri, preparada con un papel filtro humedecido con solución fisiológica para que el

tejido perdiera su excitabilidad y no tener excesiva contracción por el agente fijante, después se transfirió a un frasco conteniendo formol al 10%. El tercero se mantuvo en tetróxido de osmio al 1%, amortiguado a un pH de 7.4 a 7.6 por el método de Palade modificado; fue seccionado con la hoja de rasurar siguiendo el eje longitudinal y transversal de las fibras musculares en fragmentos como de 1 mm. de espesor, teniendo cuidado de no hacer cortes oblicuos.

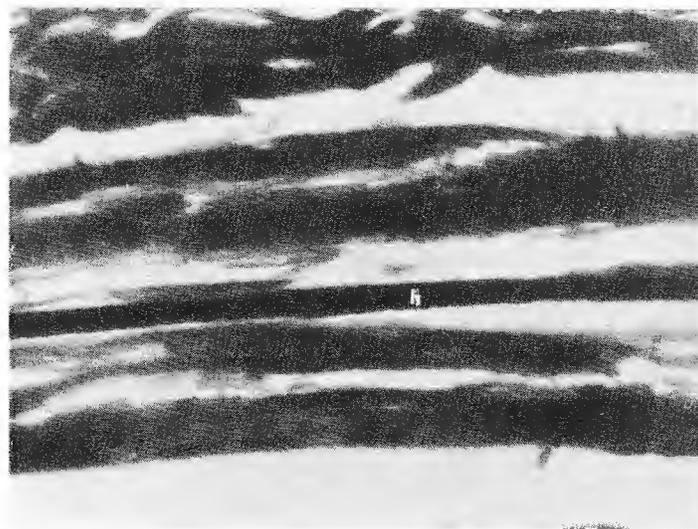
Para la microscopía de luz se usó la técnica de inclusión en parafina y las tinciones de hematoxilina y eosina y el tricrómico de Gallego.

Para el estudio con el microscopio electrónico,

Fig. 3. Fibras musculares atrofiadas (a) y una de gran tamaño (g). 450 x



Fig. 4. Fibra muscular con degeneración hialina (h). 450 x



el fragmento, fijado en la solución de tetróxido de osmio, se incluyó en Epon 812, se polimerizó en una estufa a 70°C, se cortó con ultramicrotomo Porter Blum MT-1 y MT-2, los cortes obtenidos se observaron con un microscopio electrónico Akashi-50.

RESULTADOS

De los ocho casos estudiados y observados con el microscopio de luz, encontramos tres sin alteraciones morfológicas y cinco con lesiones de mioplasia. Al microscopio electrónico, en todas las biopsias se encontraron lesiones.

Histológicamente, las biopsias musculares in-

terpretadas como normales, presentaron sus características habituales (fig. 1). Las biopsias interpretadas como alteradas mostraron haces con fibras musculares normales entre fibras de menor calibre (fig. 2), también se encontraron algunas de gran tamaño, en contraste notable con las atrofiadas, sin estriaciones transversales (fig. 3).

Un rasgo común de los cinco casos con lesiones fue la separación de fibras musculares en fibras independientes, con degeneración hialina y distintos sarcolema en el mismo tubo endomisial (fig. 4).

En cortes transversales, las células musculares mostraron contorno redondo en lugar del usual poligonal (fig. 5), gran variabilidad del tamaño y

Fig. 5. Corte transversal de un haz muscular con fibras de contorno redondo que difiere al poligonal, un núcleo (n) se encuentra dentro del sarcoplasma. 450 x

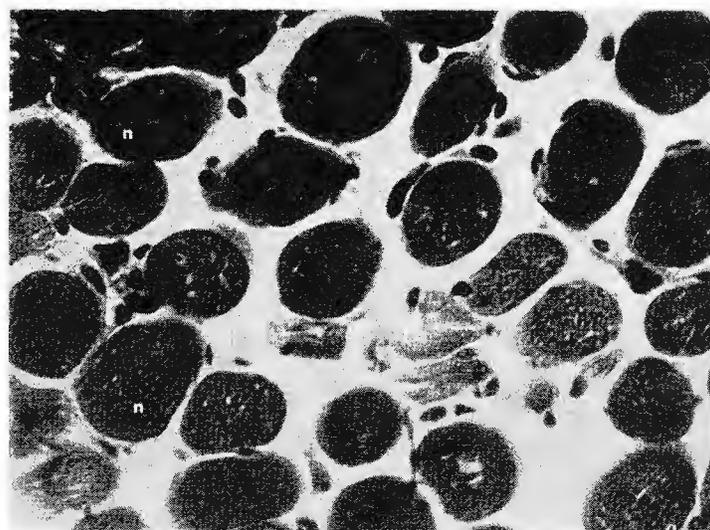
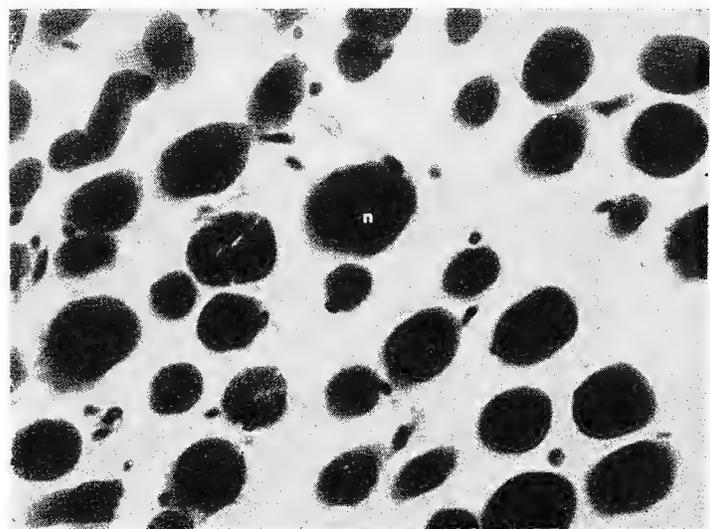


Fig. 6. Corte transversal con fibras musculares de tamaño variable, redondas y centralización del núcleo (n). 450 x



centralización del núcleo (fig. 6). No se encontraron fascículos con fibras atroficas que indicaran denervación.

Al microscopio electrónico, las biopsias controladas de tejido muscular normal, presentaron su membrana limitante externa, llamada sarcolema, de aproximadamente 75 Å de espesor, limitando los núcleos en la periferia de la célula (fig. 7); en el sarcoplasma, la substancia fundamental, se encontraron miofibrillas formadas por miofilamentos; con las estriaciones transversales oscuras que corresponden a las bandas A (Q), entre éstas se encontraron bandas claras I (J) que a su vez se encuentran atravesadas por los discos Z (fig. 8), el espacio comprendido entre éstos se le denomina sarcomera

que es la unidad de contracción muscular. También encontramos glucógeno, retículo sarcoplásmico y mitocondrias, dispuestas entre las miofibrillas, cuya función es la de proporcionar la energía necesaria para el trabajo de las células.

Las fibras musculares con alteraciones moderadas, presentaron dilataciones vacuolares de tamaño variable (fig. 9), aumento irregular de los espacios interfibrilares, con extremos poco precisos, restos de substancia fibrilar y vesículas (fig. 10). Los cambios más severos se observaron en las biopsias con lesiones visibles al microscopio de luz, consistieron en desorganización, desintegración y fragmentación de miofibrillas, miofilamentos y discos Z, con grandes vesículas vacías (figs. 11 y 12). Las mitocon-

Fig. 7. Segmento de una fibra muscular normal, en la periferia, se observa el sarcolema (s), dos núcleos (n), en el sarcoplasma se encuentran las bandas A oscuras (a) y las I claras (i) atravesadas por los discos Z (z). 3,500 x

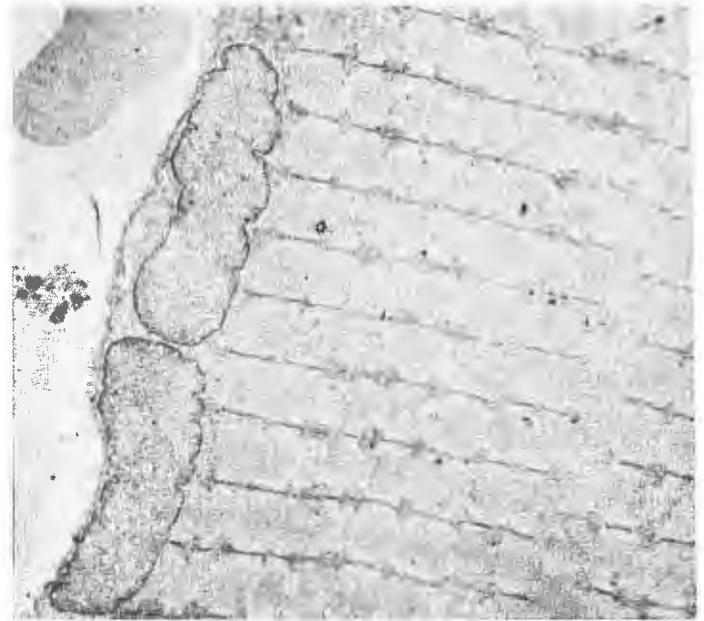
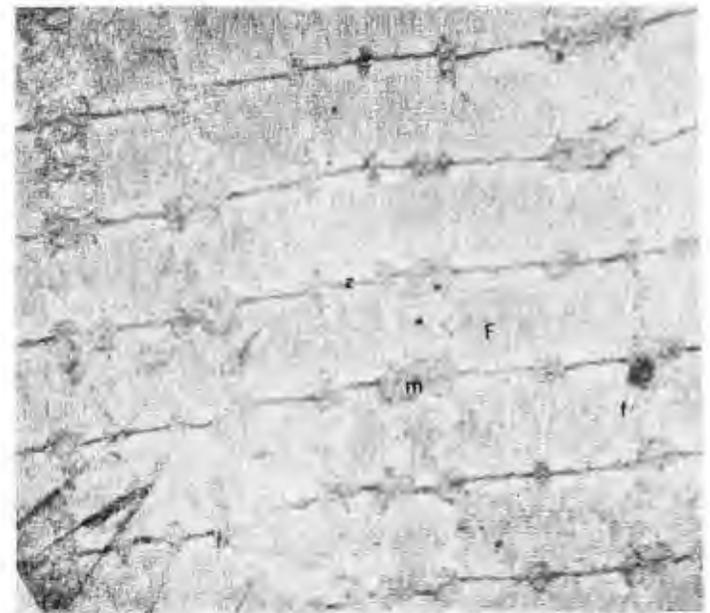


Fig. 8. A mayor aumento en el sarcoplasma se identifica los discos Z (z), miofibrillas (F) constituidas por miofilamentos (f) y mitocondrias (m). 5,000 x



drias y el retículo sarcoplásmico también mostraron desorganización; el núcleo presentó superficie irregular y alejado del sarcolema, el cual fue morfológicamente normal (fig. 13).

COMENTARIO

Los cinco casos controles de tejido muscular tanto histológica como ultraestructuralmente fueron normales. De las ocho biopsias musculares estudia-

das de pacientes con luxaciones recidivantes por distrofia muscular; histológicamente en tres casos no se descubrieron lesiones visibles, y cinco se diagnosticaron como mioplasia; en cambio, con el uso del microscopio electrónico, en todas las biopsias se encontraron alteraciones. No encontramos correlación entre la severidad de la lesión morfológica y la evolución de las manifestaciones clínicas, hecho ya señalado en otros estudios^{5,18}.

Las características histológicas de la distrofia

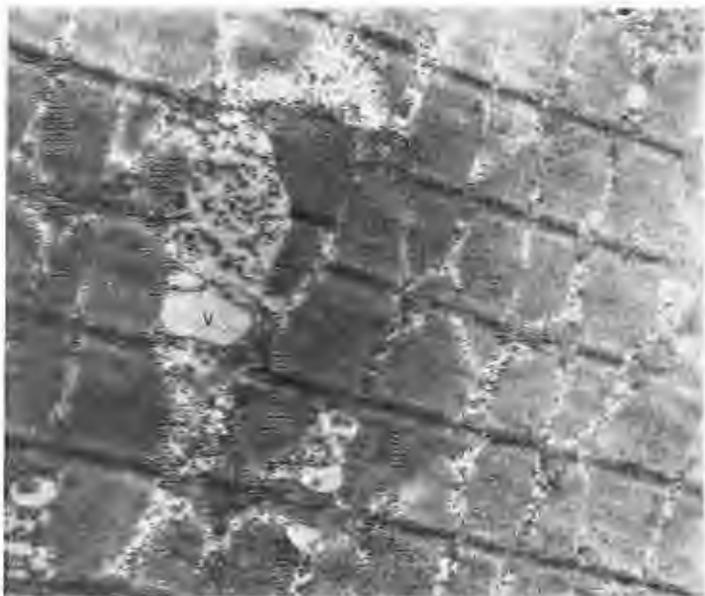


Fig. 9. Fibra muscular con dilataciones vacuolares (v) de tamaño variable, el resto del sarcoplasma se encuentra sin alteraciones. 5,000 x

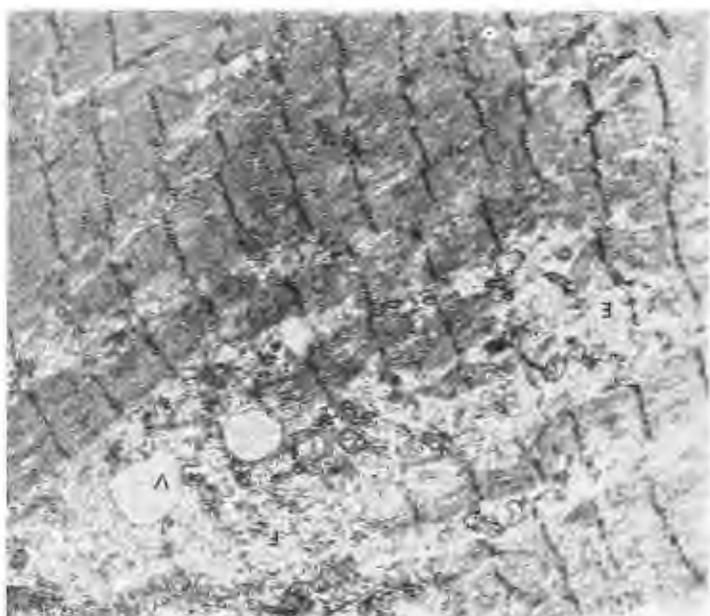


Fig. 10. Segmento de una fibra muscular con aumento zonal de los espacios interfibrilares (E), restos de sustancia fibrilar (F) y vesículas (V), 4,000 x

muscular observadas al microscopio de luz hicieron posible diferenciarlas de los casos con atrofia neuromuscular estudiados anteriormente por nosotros⁷ y otros autores⁴, por lo que este diagnóstico morfológico es de gran utilidad.

Sin embargo, con el uso del microscopio electrónico, las alteraciones ultraestructurales de las diferentes variedades de distrofia muscular y de atrofia neuromuscular son similares y sólo difieren en severidad. Se han encontrado^{5,17} alteraciones ultraes-

tructurales semejantes en casos de distrofia muscular y esclerosis lateral amiotrófica, consistentes en vesículas, aumento de los espacios interfibrilares, desorganización de las mitocondrias, miofibrillas, miofilamentos y bandas Z. Estos hallazgos inesperados fueron confirmados en nuestro propio estudio, al encontrar grandes vesículas de varios tamaños que interpretamos como sarcotúbulos dilatados, sin embargo algunas probablemente correspondieron a mitocondrias edematosas con disolución de

Fig. 11. Segmento de fibra muscular con aumento irregular de los espacios interfibrilares (e), desorganización y desintegración (D) de miofilamentos. Hay vesículas (v) y el sarcolema (s) no muestra alteraciones. 4,000 x

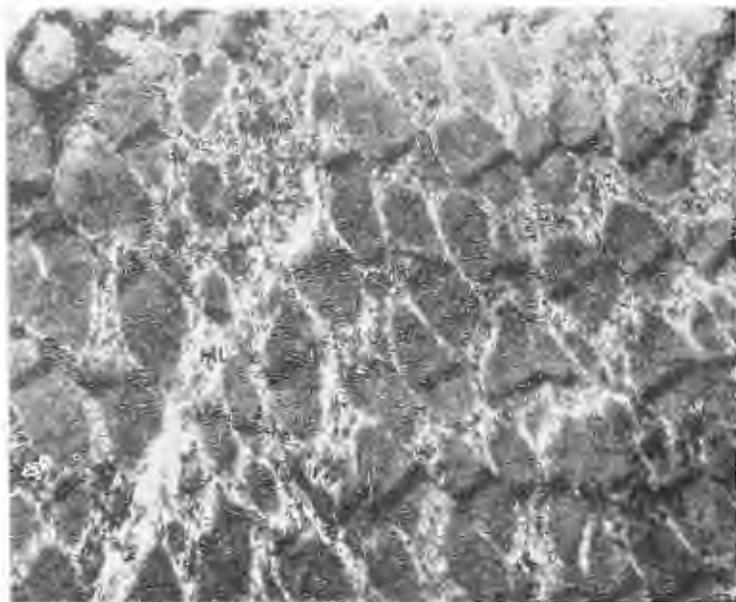
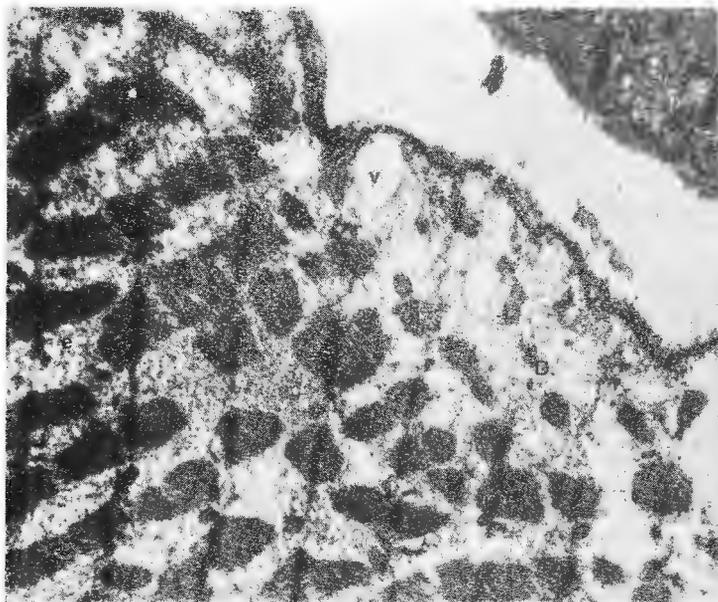
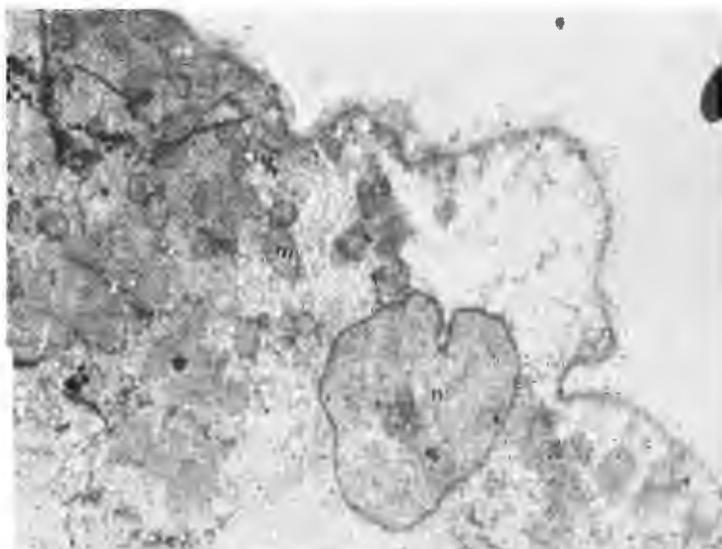


Fig. 12. Se observa en mayor proporción la desorganización y desintegración de miofibrillas, miofilamentos (ML) y discos Z (z). 5,000 x

Fig. 13. Segmento de fibra muscular con el sarcolema (s) sin alteraciones, el núcleo (n) separado y su contorno irregular. Los miofilamentos, miofibrillas, discos Z, retículo endoplásmico y mitocondrias (n) se encuentran desorganizados. 4,000 x



sus crestas; se observó además aumento de los espacios interfibrilares, desorganización de las mitocondrias, miofibrillas, miofilamentos y bandas Z.

En estados tempranos de la distrofia muscular los casos, sin lesiones visibles al microscopio de luz, mostraron alteraciones ultraestructurales, las cuales, correlacionadas con las manifestaciones clínicas, nos dan datos para sugerir que con el microscopio electrónico se pueden descubrir lesiones primarias y muy tempranas en el músculo. Los hallazgos clinicopatológicos y los estudios de enzimas del suero confirman el diagnóstico de distrofia muscular; el aumento de enzimas puede ser debido a un defecto de la membrana celular lo que aumenta la aldolasa y la creatina.

Se sabe que el sarcolema puede estar alterado funcionalmente pero no morfológicamente⁹ ya que es más resistente que los miofilamentos y organitos; lo cual explica que nosotros no encontramos lesiones en la membrana celular.

Creemos es necesario tener la combinación de los estudios clínicos, de laboratorio, morfológicos con los usos microscópicos de luz y electrónico; para comprender mejor la enfermedad ya que un estudio aislado no es suficiente para establecer el diagnóstico preciso principalmente en estados iniciales de la

distrofia muscular congénita. La ventaja de los estudios al microscopio electrónico consiste en el hecho que permite descubrir lesiones tempranas, todavía no visibles a los aumentos usados al microscopio de luz.

RESUMEN

Se realizó un estudio comparativo con los usos del microscopio de luz y del microscopio electrónico en biopsias musculares provenientes de ocho pacientes, con distrofia muscular congénita.

Histológicamente encontramos tres sin alteraciones y cinco con mioplasia, lesiones que fueron diferentes a las de neuropatía. Al microscopio electrónico, en todas las biopsias, se encontraron lesiones, pero fueron similares a las de atrofia neuromuscular.

Creemos necesario la combinación de los estudios clínicos, de laboratorio, morfológicos por medio de la aplicación de los microscopios de luz y electrónico, para comprender mejor a este tipo de enfermedades, ya que un estudio aislado no es suficiente para establecer el diagnóstico preciso principalmente en estados iniciales de la distrofia muscular congénita.

REFERENCIAS

1. AFIFI, A.; ZELLWEGER, H.; MCCORMICK, W.; W. *Congenital muscular dystrophys light and electron microscopic observations.* J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 32:273, 1969.
2. ALEU, F.; AFIFI, A. *Ultrastructure of muscle in myotonic dystrophy.* Amer. J. Path. 45:221, 1964.
3. BROOKE, M.; ENGEL, W. *The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber type. II. Diseases of the upper and lower motor neuron.* Neurology. 19:378, 1969.
4. CAZZATO, G.; TESTA, G. *Alterazioni miotessutali di tipo miopatico in case di atrofia muscolare progressiva neuritica di Charcot-Marie-Tooth.* Acta Neurol. (Napoli). 24:171, 1969.
5. FISHER, E.; COHN, R.; DANOWSKI, T. *Ultrastructural observations of skeletal muscle in myopathy and neuropathy special reference to muscular dystrophy.* Lab. Invest. 15:778, 1966.
6. GUBBAY, S.; WALTON, J.; PEARCE, G. *Clinical and Pathological study of a case of congenital muscular dystrophy.* J. of Neurol. Neurosurgery and Psych. 29:500, 1966.
7. JIMENEZ, J. M.; OLIVARES, L.; CISNEROS, L.; LEUZE, E.; CARDENAS, A. *Microscopia de luz y electrónica en padecimientos neuromusculares.* R. I. N. Neurol. 2:21, 1968.
8. PEARCE, G. *Tissue culture and electron microscopy in muscle disease.* "Disorders of voluntary muscle". J. N. Walton Ed. London. pp. 220-254, 1964.
9. PEARCE J.; PENNINGTON, R.; WALTON, J. *Serum enzyme studies in muscle disease. Part II —Serum creatine kinase activity in muscular dystrophy and in other*

MICROSCOPÍA DE LUZ Y ELECTRÓNICA EN LA DISTROFIA MUSCULAR CONGÉNITA

- myopathic— and neuropathic disorders.* J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 27:96, 1964.
10. PEARSON, C. *Muscular dystrophy. Review and recent observations.* Amer. J. Med. 35:632, 1963.
 11. PETERMAN, A.; LILLINGTON, G.; JAMPLIS, R. *Progressive Muscular dystrophy with ptosis and dysphagia.* Arch. Neurol. 10:52, 1964.
 12. PRICE, H.; et al. *An improved biopsy technique for light and electron microscopic studies of human skeletal muscle.* Lab. Invest. 14:194, 1965.
 13. ROSS, M.; PAPPAS, G.; HARMAN, P. *Alterations in muscle fine structure in hereditary muscular dystrophy of mice.* Lab. Invest. 9:388, 1960.
 14. SABEH, G.; FISHER, E.; DANOWSKI, T. *A speed drill technique for rapid muscle biopsy.* J. Lab. Clin. Med. 65:523, 1965.
 15. STENGER, R.; SPIRO, D.; SCULLY, R.; SHANNON, J. *Ultrastructural and physiologic alterations in ischemic skeletal muscle.* Amer. J. Path. 40:1, 1962.
 16. VAN BREEMEN, V. *Ultrastructure of human muscle. II. Observations on dystrophic striated muscle fibers.* Amer. J. Path. 37:333, 1960.
 17. WALTON, J. *Muscular Dystrophy.* Brit. Med. J. 1:1344, 1964.
 18. ZUNDEL, W.; TYLER, F. *The muscular dystrophies.* New Eng. J. Med. 273:537-543; 596-601, 1965.