

La biopsia en el diagnóstico de la enfermedad pediátrica

Biopsia muscular

Dra. Cecilia Ridaura-Sanz

La biopsia de músculo esquelético para fines diagnósticos fue introducida en la práctica médica por Duchenne en 1868. Casi al mismo tiempo Griesinger obtuvo un fragmento de tejido para el estudio de un paciente con distrofia muscular. A pesar de su valor como procedimiento diagnóstico, pocas veces se utiliza y su utilidad práctica se ha puesto en duda. La biopsia muscular es un procedimiento invasivo, no es un método de diagnóstico rutinario, no es un estudio de urgencia y cuando está correctamente planeada, es un excelente apoyo al médico tratante.

Dado que la respuesta a la agresión en el músculo es muy estereotipada, es indispensable una comunicación cercana entre el clínico y el patólogo para la interpretación adecuada de las alteraciones histológicas. Para que la biopsia muscular tenga éxito son requisitos indispensables:

1. Una adecuada información de la historia clínica y del examen físico.
2. Resultados de las enzimas musculares, electromiografía, velocidad de conducción nerviosa.
3. Sospecha fundada de un padecimiento que ocasiona alteraciones histológicas.
4. Obtención adecuada de la muestra.
5. Manejo adecuado del tejido.
6. Utilización de todos los recursos para el análisis morfológico: microscopia de luz con tinciones especiales, histoquímica enzimática, microscopia

electrónica e inmunohistoquímica en casos especiales.

INDICACIONES

Las principales indicaciones son:
Diagnóstico de distrofia muscular
Niño hipotónico
Miopatías mitocondriales
Polimiositis

LIMITACIONES, CONTRAINDICACIONES Y COMPLICACIONES

Las principales limitaciones de la biopsia muscular son el que esté mal indicada, mal tomada y mal procesada.

En niños pequeños es necesaria la sedación, por lo que está contraindicada en los casos en que se requiera este procedimiento. Cuando se necesita anestesia general debe evitarse el uso de halotane, ya que en algunas miopatías puede desencadenarse el síndrome de hipertermia maligna y en enfermos con sospecha de Duchenne se puede producir rabdomiolisis, arritmia cardiaca y elevar aún más las enzimas musculares.

Las complicaciones son mínimas, principalmente hematomas o infecciones de la herida que pueden evitarse con una técnica quirúrgica estéril.

TÉCNICAS

El tejido puede obtenerse por punción percutánea o por biopsia abierta.

Biopsia muscular por punción percutánea

Este es el método de elección en muchos centros hospitalarios por sus indiscutibles ventajas. Es un procedimiento ambulatorio, barato; no requiere hospitalización, no es

Departamento de Patología. Instituto Nacional de Pediatría

Correspondencia: Dra. Cecilia Ridaura-Sanz. Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700-C, colonia Insurgentes Cuicuilco, México, 04530, DF. Tel: 1084-0900.

Recibido: mayo, 2008. Aceptado: agosto, 2008.

Este artículo debe citarse como: Ridaura SC. Biopsia muscular. Acta Pediatr Mex 2008;29(6):347-54

doloroso y no deja cicatriz. El material obtenido es suficiente para hacer un estudio completo; puede repetirse en caso de material inadecuado; pueden tomarse muestras de diferentes áreas no contiguas; es fácilmente aceptado por los pacientes y al no ser invasivo puede ofrecerse a personas sanas o paucisintomáticas. Su indicación principal es el estudio de familiares para el diagnóstico de portadores de enfermedades genéticas como Duchenne, cuando se requiere tejido para estudios bioquímicos y moleculares. También es muy valioso para identificar procesos multifocales como vasculitis o polimiositis y en todos los casos en que sea necesaria la toma de muestras repetidas.

Es el método de elección en población adulta.

La desventaja es el menor tamaño de la muestra. La calidad del tejido obtenido depende del instrumento utilizado y está contraindicada en niños pequeños.

El instrumento que se utiliza es el trocar cortante del cual existen diversos modelos que aseguran una mejor calidad de la muestra. Añadir al trocar una jeringa de aspiración es un método recomendado por algunos autores (Allendale/Liverpool modificada). Se realiza una incisión pequeña en la piel de 2 a 3 mm bajo anestesia local, se introduce una aguja de 4 mm hasta alcanzar la masa muscular, se aspira y se introduce el émbolo que secciona la parte aspirada.

Biopsia muscular abierta

La biopsia abierta es el método utilizado en niños menores de cuatro años en quienes además de la anestesia local se requiere sedación. Se practica en el quirófano. Lo ideal es que sea tomada por personal capacitado e involucrado en el diagnóstico del paciente. En nuestra experiencia las mejores biopsias son las obtenidas por neurólogos entrenados o por patólogos especialistas en esta disciplina. Para obtener el tejido se pueden utilizar instrumentos como la pinza de Pearson o seccionar directamente el tejido a cielo abierto, a través de una incisión no menor de 2 cm sin pinzamientos ni ligaduras para obtener una muestra de tejido de aproximadamente 2 x 1.5 cm.

El grupo muscular comúnmente utilizado es el cuádriceps cuando la afección es proximal y el gastrocnemio, en casos de debilidad distal o sospecha de neuropatía. El músculo seleccionado debe estar moderadamente afectado en base a los hallazgos clínicos y de electromiografía. Los músculos con afección incipiente son poco demostrativos; por el contrario, los músculos en etapas avanzadas de en-

fermedad presentan extensa atrofia e infiltración adiposa como vía final común de muchas enfermedades, lo que dificulta el diagnóstico de una entidad específica. Se debe seleccionar la parte media del haz muscular evitando los extremos de inserción tendinosa en donde normalmente hay mucha variación de las fibras y numerosos núcleos centrales que pueden ser erróneamente interpretados. Igualmente hay que evitar los músculos que han sido sometidos a estudios de electromiografía reciente, músculos traumatizados o en los que se han aplicado inyecciones ya que pueden producirse alteraciones secundarias a estos procedimientos, como necrosis, fibrosis, fenómenos reparativos e inflamación.

El tejido que se obtiene, debe colocarse inmediatamente en una gasa húmeda para evitar resequedad y esperar aproximadamente 30 minutos sin manipular antes de procesarlo, para evitar los artificios de contracción.

MANEJO DEL TEJIDO

El tejido debe seccionarse con una hoja afilada en tres fragmentos. Uno pequeño se fija en glutaraldehído para procesamiento ulterior por microscopía electrónica. Otro fragmento se congela, del cual se obtendrán cortes transversales. La congelación se hace en nitrógeno líquido (se puede usar además isopentano para garantizar congelación más rápida y uniforme). En nuestro laboratorio se cubre el tejido con talco antes de introducirlo al congelante para evitar la formación de cristales que deforman el tejido. El tejido restante se procesa en cortes transversales y longitudinales para inclusión en parafina y tinciones de histoquímica no enzimática e inmunohistoquímica.

En caso de que la muestra sea muy pequeña, como sucede en biopsias por punción, solamente se procesa para microscopía electrónica y congelación.

Técnica histológica de rutina y tinciones especiales

En muchos laboratorios especializados en el estudio de la patología muscular se realizan exclusivamente cortes por congelación en los que se emplean técnicas de rutina como hematoxilina y eosina en el primer abordaje diagnóstico.

Sin embargo, en caso que haya suficiente tejido, se recomienda incluir un fragmento en parafina y fijarlo previamente con formol por varios razones:

Mejor conservación del tejido.

Mayor número de cortes.

Material para consulta.

Material para técnicas de inmunohistoquímica.

Material de resguardo para extracción ulterior de DNA.

El tejido incluido en parafina debe tener fragmentos orientados transversalmente y si es posible, longitudinalmente. En estos últimos algunas alteraciones como los núcleos en fila india de la distrofia miotónica son fácilmente identificables.

Las técnicas histológicas recomendadas son:

Hematoxilina y eosina.

PAS y PAS digerido con diastasa.

Tricrómico de Masson para definir la cantidad y localización de la fibrosis.

En lugar del tricrómico de Masson se puede utilizar el tricrómico de Gomori/Van Gieson, que además de valorar colágena permite visualizar las fibras elásticas de los vasos y la estructura de los nervios.

Histoquímica enzimática y técnicas especiales en tejido congelado

Las técnicas de histoquímica enzimática se realizan en los cortes de 7 a 10 micras del tejido congelado. Las reacciones de histoquímica enzimática más frecuentemente utilizadas son ATPasa a pH 4.5 y 9.4, deshidrogenasa succínica (DHS), NADH, fosforilasa y Citocromo C oxidasa (COX).

ATPasa. Es la técnica de elección para evaluar el tamaño, la distribución y el número de fibras tipo I y tipo II ya que se mantiene aún en fibras atróficas e independiente mente de la edad del individuo, del estado de actividad y nutricional o en condiciones patológicas de las miofibrillas (excepto en las necróticas en que la reacción es negativa). La adenosin-trifosfatasa miofibrilar dependiente de calcio es una enzima que forma parte de la molécula de miosina. La muestra se preincuba en medio ácido y alcalino, lo que da por resultado reacciones inversas. Así, a pH 9.4 las fibras tipo I son claras y a pH 4.6 son oscuras. Esta reacción diferenciada e inversa permite analizar las características morfológicas de las fibras oscuras de ambos tipos, lo cual no se logra cuando son claras.

NADH y DHS. La nicotinamina-adenina-dinucleótido tretazolium-reductasa (NADH) y la deshidrogenasa succínica (DHS) son enzimas oxidativas mitocondriales. La DHS tiñe tanto mitocondrias normales como anormales, mientras que NADH sólo tiñe las mitocondrias normales.

Dan una reacción punteada distribuida uniformemente en las fibras. Distingue los dos tipos de fibras y la reacción es la inversa de la ATPasa alcalina. Es útil en el diagnóstico de "central core", fibras en tiro al blanco y enfermedades mitocondriales. La reacción es intensa en fibras en regeneración y débil o ausente en fibras necróticas.

Miosforilasa. Es una enzima del sarcoplasma. Permite distinguir también fibras tipo I y II y subtipos. La reacción es negativa en la enfermedad de McArdle (deficiencia de miosforilasa).

COX. *Citocromo C oxidasa.* Se utiliza en la caracterización de las miopatías mitocondriales. Es negativa en deficiencia de complejo IV.

Rojo Oleoso. Identifica grasas neutras y es útil en el diagnóstico de miopatías mitocondriales y deficiencia de carnitina.

Tricrómico de Gomori. Es la tinción ideal para identificar fibras rojas rasgadas y cuerpos nemalínicos.

Ácido Peryódico de Schiff. Distingue fibras tipo I y tipo II por la diferencia en la cantidad de glucógeno.

Es conveniente guardar el resto de la muestra para el caso en que requieran otros estudios enzimáticos, para repetir técnicas defectuosas y para realizar estudios moleculares.

Microscopia electrónica

El fragmento para estudio de microscopia electrónica se fija en glutaraldehido al 2% en solución buffer y posificación con osmio. Se incluye en resinas y se obtienen secciones semifinas (aproximadamente 1 μm de espesor) para observar con el microscopio de luz teñidas con azul de toluidina y secciones ultrafinas para examen con el microscopio electrónico. El examen de las secciones semifinas es muy útil y equivale al estudio ultraestructural a bajo aumento. Dan una mejor definición de la morfología que las obtenidas en el criostato o en parafina. El examen de la ultraestructura es indispensable en las miopatías que requieren la demostración de alteraciones subcelulares no visibles con microscopía de luz y no identificables con técnicas enzimáticas, tales como cuerpos dactilares, agregados tubulares, inclusiones anormales, algunas enfermedades lisosomales, etc. El uso más frecuente es en la caracterización morfológica de las miopatías congénitas y en las mitocondriopatías.

Cada una de las técnicas señaladas da información complementaria que contribuye al diagnóstico. Sin em-

bargo, es importante tener en cuenta que no todas son igualmente útiles para el diagnóstico de una enfermedad específica. En el cuadro 1 se señalan algunas enfermedades musculares en los niños y el procedimiento más idóneo para el diagnóstico.

Inmunohistoquímica

Algunos marcadores tisulares con anticuerpos específicos son útiles en la interpretación de la biopsia muscular. Tienen la ventaja de que pueden utilizarse en tejidos fijados e incluidos en parafina. Los más usados son los siguientes:

Distrofina. Anticuerpos monoclonales contra diferentes porciones de la molécula de distrofina (terminales carboxilo o amino). Permite distinguir la distrofia de Duchenne de la de Becker y de la congénita.

Miosina de cadena pesada. Permite distinguir los dos tipos de fibras. Las tipo II son positivas (oscuras) y las tipo I negativas (claras). Es útil en estudios retrospectivos que no cuentan con tejido congelado o en los casos en que hay muchos artificios en los cortes congelados.

Vimentina. Es una proteína de filamentos intermedios, presente en muchas células embrionarias y adultas de muchos tejidos. Es positiva en el músculo fetal y es negativa en el músculo del adulto; por lo tanto, es un excelente marcador de células en regeneración y en miopatía miotubular ligada al cromosoma X.

Desmina. Igual que la vimentina, es una proteína de filamentos intermedios que se expresa casi exclusivamente en células musculares. A diferencia de la vimentina, la desmina no desaparece totalmente en el músculo maduro. La desmina, pero no la vimentina, está incrementada de manera difusa en algunas miopatías congénitas como la distrofia miotónica.

Merosina. (α -2-laminina) Es útil para el diagnóstico de distrofia muscular congénita deficiente en merosina.

Cuadro 1. Utilidad de las técnicas en biopsia muscular

Histología en parafina	Histoquímica enzimática	Microscopía electrónica
Polimiositis	Denervación	Todas las mitocondriopatías
Triquinosis	Nemalínica **	Nemalínica
Miopatía centronuclear	Central "core"	Central "core"
Distrofinopatías*	Mitocondriales con FRR**	Otras miopatías congénitas
Miopatía vacuolar	Enfermedad de Mc Ardle Desproporción de fibras	

*Debe complementarse con inmunohistoquímica para Distrofina para definir el tipo de la distrofinopatía

** Tricrómico de Gomori (no es una técnica enzimática pero se hace en tejido congelado)

Adalina. Es negativa en la distrofia de cinturas.

Marcadores linfoides. Se usan para caracterizar la población linfocitaria en casos de miopatías inflamatorias. Ejemplo: en la dermatomiositis juvenil el infiltrado es de linfocitos B, mientras que en la polimiositis el infiltrado es predominantemente T.

INTERPRETACION

Histología normal

Los músculos estriados están rodeados por tejido fibroso llamado epimisio y separados por tabiques o fascias en fascículos o haces. Cada fascículo está rodeado por un tabique de tejido fibroso llamado perimisio en el que se encuentran los vasos arteriales y venosos, los nervios intramusculares y los husos musculares. Los fascículos están constituidos por fibras musculares revestidas por el endomisio que es una fina estructura mesenquimatosa que contiene la malla capilar nutricia de las fibras. La fibra muscular es una célula cilíndrica multinucleada de longitud variable de un extremo a otro del fascículo.

El sarcoplasma de la fibra muscular está constituido por miofibrillas y limitado por la membrana celular (sarcolemma) y por una delgada lámina basal. El núcleo excéntrico está situado por debajo de la membrana. Las miofibrillas están constituidas por miofilamentos de actina (delgados) y de miosina (gruesos) que se intercalan y dan lugar a las estriaciones. La banda Z es la banda oscura transversal que limita a la unidad contráctil (sarcómera). Separando cada miofibrilla se encuentran el sistema T (invaginaciones de la membrana del sarcoplasma), las mitocondrias, los gránulos de glucógeno y glóbulos de grasa.

El tejido muscular es un tejido heterogéneo en estructura y función. Está compuesto de fibras con diferentes características funcionales. En las aves los músculos que mueven las alas están constituidos por un tipo de fibra dife-

rente a los músculos menos activos que están en las patas. En el hombre estos tipos diferentes de fibras se encuentran mezclados en todos los músculos esqueléticos.

En el cuadro 2 se señalan las características de los dos tipos de fibras predominantes en el músculo estriado.

El músculo normal tiene una mezcla uniforme de ambos tipos de fibras en una disposición que recuerda un tablero de ajedrez. Hay un ligero predominio de fibras tipo II. La tinción de elección para establecer la distribución y la proporción de fibras tipo I y tipo II es la ATPasa preincubada pH 9.4-10 y la ATPasa preincubada a pH 3 o 4.

LA BIOPSIA MUSCULAR EN EL DIAGNÓSTICO DEL RECIEN NACIDO HIPOTÓNICO

En niños menores de un año, la indicación principal de la biopsia muscular es en el diagnóstico de hipotonía. Las causas de hipotonía muscular son muchas e incluyen enfermedades sistémicas como hipotiroidismo congénito, síndrome de Down, enfermedades difusas del sistema nervioso central, denervación y miopatías congénitas.

La biopsia muscular está indicada en afecciones de neurona motora inferior, nervio periférico y miopatías, ya que en enfermedades centrales o sistémicas la biopsia muscular sólo va a mostrar atrofia no selectiva y no contribuye al diagnóstico. En estos casos, la electromiografía es indispensable como procedimiento previo para localizar el sitio anatómico de la afección. En caso de sospecha de lesión de neurona motora se recomienda la biopsia, tanto de músculo como de nervio periférico.

Atrofia neurogénica (Miopatía secundaria por denervación)

La lesión básica del músculo denervado es la atrofia neurogénica, que se caracteriza por afectar grupos de fibras. Las fibras atróficas en el niño se ven pequeñas y redondeadas en lugar de anguladas como en el adulto. Las fibras no atróficas pueden ser normales o mostrar hipertrofia. En la atrofia neurogénica de largo tiempo de evolución, las fibras pierden el sarcolema y quedan sólo los núcleos en grupos, que pueden ser interpretados erróneamente como linfocitos. La reacción con ATPasa muestra que las fibras denervadas en pequeños grupos son del mismo tipo, predominantemente fibras tipo II que dependen más del influjo nervioso. Cuando hay reinervación, el cambio inicial es la reorganización del sarcómero en fibras de "blanco de tiro" o "diana" con estructuras concéntricas y cuando la reinervación es completa, las fibras reinervadas son de un solo tipo. A esta morfología de haces constituidos por fibras de uno u otro tipo se le llama agrupamiento.

La causa más frecuente de atrofia neurogénica es la atrofia espinal que abarca un grupo de enfermedades autosómicas recesivas caracterizadas por pérdida progresiva de las neuronas de las astas anteriores de la médula y en ocasiones, de las neuronas motoras bulbares. Clínicamente se caracteriza por debilidad muscular simétrica de músculos proximales y atrofia muscular. Actualmente el diagnóstico se confirma con el estudio molecular. Hay tres fenotipos clasificados por su gravedad. En tipo I (enfermedad de Werning-Hoffmann) se inicia en la edad neonatal o en el útero; tiene curso letal y los pacientes mueren antes de los

Cuadro 2. Características diferenciales de las fibras musculares

<i>Característica</i>	<i>Fibras tipo I</i>	<i>Fibras tipo II</i>
Contracción	Lenta	Rápida
Vascularización (Color macroscópico)	Abundante (Rojo)	Escasa (Blanco)
Mitocondrias	Numerosas	Escasas
Enzimas oxidativas	Abundantes	Escasas
Enzimas glicolíticas	Escasas	Abundantes
Glucógeno	Ecaso	Abundante
Grasa neutra	Abundante	Escasa
Actividad ATPasa pH ácido	Elevada (Oscuras)	Baja (Claras)
Actividad ATPasa pH alcalino	Baja (Claras)	Elevada (Oscura)
NADH	Oscura	Clara
DHS	Oscura	Clara
Fosforilasa	Clara	Oscura
PAS	Clara	Oscura

dos años de edad. La tipo II o intermedia se inicia más tarde y los pacientes viven hasta la edad escolar. La tipo III (enfermedad de Kugelberg-Welander) se inicia a los dos años y la sobrevida es prolongada. En 85 a 90% de los pacientes se encuentra delección del gen de sobrevida de neurona motora (SMN 1) en el cromosoma 5. Actualmente con el conocimiento de la alteración molecular, muchos de los criterios clínicos, histopatológicos y de electrofisiología están siendo revisados ya que hay sobreposición de manifestaciones de neurona motora y de afección de nervios sensitivos y en ocasiones disminución de la velocidad de conducción, lo cual confunde con enfermedades hipomielinizantes.

Miopatías congénitas

El término miopatía congénita se aplica a las alteraciones del desarrollo del músculo estriado. La clasificación se basa en criterios histopatológicos de biopsia muscular. Todas las miopatías congénitas tienen hipotonía y debilidad muscular, que en la mayoría de los casos no es progresiva o es lentamente progresiva. Sin embargo, hay algunos casos con mala evolución y muerte temprana. Se han descrito más de 40 miopatías con cambios estructurales; muchos de ellos son casos aislados.

En los últimos años se han reconocido algunos de los defectos genéticos y de las proteínas relacionadas con esta patología, por lo que se han propuesto distintas clasificaciones con un enfoque menos descriptivo y con orientación hacia la etiopatogenia. En ese sentido las miopatías congénitas más frecuentes y mejor caracterizadas son:

1. Miopatías con alteración en la maduración o desarrollo muscular:
 - a) Miopatía miotubular ligada al cromosoma X.
 - b) Miopatía centronuclear.
 - c) Desproporción congénita de tipos de fibras.
2. Miopatías con alteración de las proteínas miofibrillares y del citoesqueleto:
 - a) Enfermedad con “core” central.
 - b) Enfermedad con “minicores” o “multicores”.
 - c) Miopatía nemalínica.

La **miopatía miotubular ligada al cromosoma X** se caracteriza por fibras pequeñas con núcleo central similar a miotúbulos fetales. El número de células afectadas varía entre 40 y 90%. Hay sobreexpresión de vimentina y desmina que también es característica del músculo fetal y que desaparece a las 36 semanas de gestación. Alrededor del

núcleo central hay numerosas mitocondrias (reacción para enzimas oxidativas) y glucógeno (tinción de PAS).

La **miopatía centronuclear** es igual a la miopatía miotubular, pero el patrón de herencia es autosómico recesivo y no se conoce el gen afectado.

La **desproporción congénita de fibras** se refiere al predominio de fibras tipo I (80%) que además son hipoplásicas y parecen fibras fetales que son poligonales o redondeadas y no anguladas como las atróficas. Este aspecto histológico puede presentarse asociado a otras enfermedades del sistema nervioso central, particularmente alteraciones del cerebro.

La **miopatía de “core” central** fue la primera miopatía congénita descrita. Se caracteriza por ausencia de actividad enzimática oxidativa en la porción central de la fibra (“core”), que corresponde a zonas desestructuradas del sarcolema con pérdida de mitocondrias y de glucógeno. Afecta exclusivamente fibras tipo I. En general hay un “core” por fibra.

En la **miopatía multicore** hay varios focos de desorganización de la sarcómera por fibra y son más pequeños y con bordes carcomidos. Los dos tipos de fibras están afectados.

La **miopatía nemalínica** presenta bastoncillos en el citoplasma de la fibra muscular (cuerpos nemalínicos). Estos bastoncillos se tiñen de color rojo intenso con el tricrómico de Gomori y están constituidos por α -actinina. Con el microscopio electrónico estos cuerpos tienen la misma estructura y densidad de las bandas Z.

LA BIOPSIA MUSCULAR EN DISTROFIA MUSCULAR

La distrofia muscular es una alteración necrótico-degenerativa de la fibra muscular que causa debilidad muscular progresiva con elevación de las enzimas musculares y normalidad en la conducción nerviosa (patrón electromiográfico miopático). Histológicamente se caracteriza por necrosis aislada de fibras que afectan todos los fascículos, fibras en regeneración, diversos grados de fibrosis endo y perimisial e infiltración adiposa. Los fascículos muestran gran variación del tamaño y morfología de las fibras. Hay fibras hipereosinofílicas con pérdida de estriaciones; otras tienen hendiduras, frecuentemente hay núcleos centrales y fragmentación de la célula con fagocitosis. Las fibras en regeneración son pequeñas, de citoplasma basófilo y núcleo grande vesiculoso con nucléolo aparente. Estas

alteraciones varían en intensidad dependiendo del tipo de miopatía y de la etapa de evolución.

La indicación de la biopsia es definir el tipo de distrofia. Podemos clasificarlas en dos grandes grupos: distrofinopatías y no-distrofinopatías.

Las distrofinopatías son las más frecuentes y se deben a mutaciones o delecciones del gen de la distrofina, localizado en la región Xp21. Este gen codifica a una proteína del citoesqueleto que le da estabilidad a la membrana celular. En la actualidad es posible determinar el tipo de distrofia por métodos moleculares; sin embargo, la biopsia sigue siendo un recurso barato y al alcance de la mayoría de los centros hospitalarios. La mayoría de los casos se deben a herencia ligada al cromosoma X por lo cual la madre es portadora obligada y las hermanas son portadoras potenciales. Se clasifican según su expresión clínica en *Distrofia de Duchenne* que es la más grave y *Distrofia de Becker* de aparición más tardía y de evolución prolongada. Sin embargo, hay mucha superposición del cuadro clínico y se requiere un diagnóstico más preciso para definir el pronóstico.

Las técnicas inmunohistoquímicas para distrofina permiten distinguir las distrofinopatías de otros tipos de distrofias. En la distrofia de Duchenne la reacción es negativa con ausencia de proteína en la periferia de la fibra. En la distrofia de Becker hay algunas fibras positivas y alternan con fibras negativas y en las distrofias no-distrofinopáticas la reacción es normal. Esta técnica también puede utilizarse para el diagnóstico de portadoras; para este propósito, la biopsia por punción es útil.

Las no-distrofinopatías. Comprenden un grupo muy heterogéneo de enfermedades, algunas con un cuadro clínico muy característico; otras, muy similar a las distrofinopatías y en las que el cuadro histológico es muy inespecífico o muy parecido a las distrofinopatías.

Las distrofias no-distrofinopáticas incluyen la *distrofia facio-escáculo-humeral*, *distrofia de cinturas*, la *distrofia infantil (distrofia muscular autosómica recesiva grave de la infancia)* en la que es posible identificar deficiencias de proteínas específicas (sarcoglicanos) como la adalina, la *distrofia muscular de Emery-Dreifuss* que es una de las distrofias hereditarias ligadas al cromosoma X por defecto del gen que codifica para emerina y la *distrofia muscular congénita*, que agrupa varios tipos, algunos que se inician in útero y otros en los primeros meses de vida. En dos de esos tipos se ha encontrado

deficiencia de merosina causada por alteraciones del gen situado en 6q22-23. El anticuerpo antimerosina también está disponible comercialmente para técnicas de inmunohistoquímica.

MIOPATÍAS MITOCONDRIALES

Las mitocondriopatías son enfermedades sistémicas que se expresan con alteraciones funcionales del músculo, cerebro y corazón en cualquier combinación.

La expresión clínica es muy variable. Actualmente se reconocen varios síndromes: Kearns Sayre, MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes) MERFF, (myoclonic epilepsy with ragged-red fibers), PEO (progressive external ophthalmoplegia), LHON (Leber hereditary optic neuropathy), la encefalopatía necrosante paraventricular de Leigh y el síndrome de depleción mitocondrial.

La biopsia muscular es el tejido de elección cuando se sospecha cualquiera de estas enfermedades, tanto para estudio histológico como para análisis molecular en casos en que el defecto genético no se conoce.

Normalmente las mitocondrias en el músculo estriado son muy grandes y numerosas debajo del sarcolema, por lo que las alteraciones estructurales de estos organelos se observan fácilmente con el microscopio electrónico.

El marcador morfológico más característico de las miopatías mitocondriales son las fibras rojas rasgadas (FRR). Estas fibras deben su nombre al aspecto que tienen con la tinción de tricrómico de Gomori en cortes por congelación. Las fibras dañadas se tiñen de color rojo; tienen bordes irregulares y deshilachados (ragged). Estas fibras se tiñen intensamente con las enzimas oxidativas y al microscopio electrónico se encuentran acúmulos de mitocondrias de tamaños diversos, multiformes y en ocasiones con inclusiones cristalinas. La tinción roja con el Gomori se debe a que uno de los ingredientes del colorante reacciona con fosfolípidos que son un componente abundante de la membrana mitocondrial. Las FRR se encuentran en Kearns-Sayre, MERFF y MELAS y corresponden a defectos combinados del complejo I y IV de la cadena respiratoria. La valoración conjunta con deshidrogenasa succínica (DHS) y COX tanto en la FRR como en las fibras no alteradas permite orientar el diagnóstico hacia un tipo de mitocondriopatía.

LA BIOSPIA MUSCULAR EN MIOPATÍAS INFLAMATORIAS

Las miopatías inflamatorias comprenden un grupo muy amplio de enfermedades que ocurren en niños. Muchas de ellas son secundarias a infecciones sistémicas, particularmente virales como ocurre con la infección por virus de la influenza, Coxsackie y Echo. Pocas veces son sometidas a biopsia pero el patólogo debe estar advertido de esta situación en el diagnóstico diferencial.

La mayoría de las miositis inflamatorias son idiopáticas o primarias y son enfermedades autoinmunes.

Las miopatías inflamatorias idiopáticas en los niños son raras. Dentro de este grupo hay que considerar la dermatomiositis, polimiositis y la miositis con cuerpos de inclusión. El diagnóstico específico es importante en virtud de la respuesta diferente al tratamiento con esteroides.

La **dermatomiositis** es la más frecuente. La lesión básica es una vasculopatía sistémica que afecta vasos intramusculares. Se encuentran focos de infiltrado linfocitario alrededor de los vasos en el perimisio. Esta alteración es multifocal y puede no encontrarse en un corte histológico, por lo que es una de las indicaciones de la biopsia por punción que obtiene tejido de sitios no contiguos. La alteración más constante es la atrofia de las fibras en la periferia de los fascículos, debida a la falla de la irrigación. Las fibras atróficas no son selectivas por tipo. Además de la vasculitis e infiltrado perivascular hay grados variables de necrosis aislada de fibras musculares y regeneración. En el citoplasma de las células endoteliales hay inclusiones túbuloreticulares características de esta enfermedad. Estas estructuras se encuentran en el reticuloendoplasma; se desconoce su naturaleza pero se sabe que no son inclusiones virales. Además de las células endoteliales pueden encontrarse en células inflamatorias y en histiocitos y no se ven en las células musculares.

La **miositis infantil** es una forma especial de polimiositis en niños. A diferencia de la dermatomiositis, la inflamación es intrafascicular, no es angiocéntrica en el perimisio y no hay atrofia perifascicular de las fibras. Responde a tratamiento con esteroides. Se acompaña de necrosis de las miofibrillas y células ocasionales en regeneración. El diagnóstico diferencial obligado es con la distrofia congénita por deficiencia de merosina.

La **miositis con cuerpos de inclusión** se caracteriza por la presencia de vacuolas limitadas por un anillo de material que se tiñe de color oscuro. Estas vacuolas se ven fácilmente con el tricrómico de Gomori y con HE en cortes por congelación pero no en parafina. Con el microscopio electrónico las vacuolas están vacías o contienen material membranoso dispuesto en remolinos mezclados con estructuras diversas procedentes de la disolución de la miofibrilla. En la mayoría de los casos hay escaso infiltrado linfoide intersticial. Esta enfermedad es refractaria al tratamiento con esteroides.

REFERENCIAS

- Highstead RG, Tipton KD, Creson DL, Wolfe RR, Ferrando AA. Incidence of associated events during the performance of invasive procedures in healthy human volunteers J Appl Physiol 2005;98:1202-6.
- Salinero-Paniagua E, Esteban-García A, Reaba A, Palencia-Herrejón E y cols. Estudio de las enfermedades neuromusculares por biopsia percutánea mediante aguja de aspiración modificada. Utilidad y ventajas sobre la biopsia quirúrgica. Rev Neurol 2004;39:821-25.
- Fernández DJ. Histología del músculo para patólogos. Patología 1991;29:39-53.
- Rodríguez Velasco A. Patología de las miopatías más frecuentes en niños. Editorial PRADO 2005 (ISBN 968-6899-78-2)
- David W, Jones R. Electromyography and biopsy correlation with suggested protocol for evaluation of the floppy infant. Muscle & Nerve 1994;17:424-30.
- Medina Crespo VJ, Ramírez Campos CE, Ridaura Sanz C et al. Congenital neuropathy with hypomyelination. Case report and literature review. J Child Neurol 1996;11:153.
- Anagnostou E, Miller S, Guiot MC, Karpati G, et al. Type I spinal muscular atrophy can mimic sensory-motor axonal neuropathy. J Child Neurol 2005;20:147-50.
- Sarnat H. Vimine and desmin in maturing skeletal muscle and developmental myopathies. Neurology 1992;42:1616-24.
- Cabello A, Ricoy-Campo JR. Miopatías congénitas. Rev Neurol 2003;37:779-86.
- Sarnat H. New insights into the pathogenesis of congenital myopathies. J Child Neurology 1994, 9: 193-201
- Erazo-Torricelli R. Actualización en distrofias musculares. Rev Neurol 2004;30:860-71.
- Nonaka I, Kobayashi O, Osari S. Nondystrophinopathic muscular dystrophies including myotonic dystrophy. Semin Pediatr Neurol 1996;3:110-21.
- Ricoy-Campo JR, Cabello A. Mitocondriopatías. Rev Neurol 2003;37:775-9.
- Sarnat HB, Martin-Garcia J. Pathology of mitochondrial encephalomyopathies. Can J Neurol Sci 2005;32:152-66.