

ESTUDIO DE LA MIOPATÍA PRODUCIDA TRAS INYECCIÓN INTRAARTICULAR DE DEXAMETASONA EN EL PERRO: ANÁLISIS HISTOLÓGICO, HISTOQUÍMICO Y MORFOMÉTRICO

Myopathia by intraarticular infiltration of dexametasone in dog: Histological, histochemical and morphometric study

Gil, F*.; Martínez, J. F.**; Vázquez, J. M.* y Moreno, F.*

* Unidad Docente de Anatomía y Embriología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

** Médico Adjunto. S. Traumatología y C. Ortopédica. Hosp. INSALUD. Villajoyosa-Benidorm (Alicante).

Recibido: 2 septiembre
Aceptado: 5 noviembre

RESUMEN

Mediante técnicas histológicas, histoquímicas y morfométricas, se analizan y cuantifican las lesiones halladas en los Mm. extensor digital largo y flexor digital superficial del miembro pelviano de perros adultos tratados con dosis clínicas y masivas de dexametasona (vía intraarticular). Las alteraciones morfológicas encontradas son similares a las descritas para las miositis. Las morfométricas se traducen en poblaciones fibrilares de tamaños extremos (atrofias e hipertrofias). De las dos entidades musculares estudiadas, el mayor grado de afección corresponde al músculo extensor. La cantidad de fármaco administrada no representa un papel importante en la producción de las lesiones.

Palabras clave: miopatía, dexametasona, tipos de fibras, perro.

ABSTRACT

The experimental myopathia induced in Extensor digitorum longus and Flexor digitorum superficialis muscles of the pelvic limb of adult dogs by intraarticular infiltration with dexametasone was analyzed and quantified by means of histological morphometric and histochemical techniques. Morphologic alterations are similar to those miositis, whereas morphometric ones result in fibrillar populations of extreme sizes mostly atrophic. Alterations are more frequent in the extensor muscle. The quantity of drug did not represent an important role in the injury.

Key-words: Myopathia, Dexametasone, Fiber Types, Dog.

INTRODUCCIÓN

La alteración muscular tras la administración de glucocorticoides constituye, según SWASH y SCHWART (1983), la miopatía yatrogénica más frecuente. La importancia clínica de estos fármacos quedó puesta de manifiesto en la revisión efectuada por FORTH (1981) en la R.F.A., según la cual, cada médico prescribía un corticoide 7 u 8 veces al año y, el 16% en forma de inyecciones intraarticulares.

Durante la última década la aplicación de técnicas histoquímicas ha permitido profundizar en el conocimiento del metabolismo de la fibra muscular, siendo posible la descripción de numerosas lesiones consecuentes a la administración, por distintas vías, de determinados corticoides. Así, los trabajos de MANDEL (1982) y CARPIO et al. (1984), ponen de manifiesto la existencia de lesiones inflamatorias tras la administración por vía general de estos fármacos. Otros autores (CLARK y VIGNOS, 1979; GAR-

CUADRO I
GRUPOS Y SUBGRUPOS EN QUE FUERON DIVIDIDOS LOS ANIMALES EXPERIMENTALES EN FUNCIÓN DE LA DOSIS Y TIEMPO DE OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS. I = INFILTRACIÓN DEL FÁRMACO. S = SACRIFICIO DEL ANIMAL. D = PERÍODO DE DESCANSO

		SEMANAS				
		1	2	3	4	5
Dosis Masiva (4 mgr)	A	I	S			
	B	I	I	S		
	C	I	I	I	S	
	D	I	I	I	D	S
Dosis Clínica (0'6 mgr)	A'	I	S			
	B'	I	I	S		
	C'	I	I	I	S	
	D'	I	I	I	D	S

DINER et al. 1980; SOHAR et al., 1982) coinciden en apreciar atrofia de las fibras tipo II en pacientes tratados con corticoides.

Pretendemos comprobar la existencia de tales lesiones en el músculo de la especie canina, lo que tendría interés por su posible extrapolación a la humana, debido a la gran similitud de respuesta del músculo en ambas especies frente al corticoide (BRAUND et al, 1980). Hemos analizado dos entidades musculares de funciones antagonicas (Mm. extensor digital largo y flexor digital superficial del miembro pelviano), al objeto de comprobar posibles diferencias en el comportamiento histoquímico de sus componentes fibrilares frente a corticoides. La utilización en nuestra experiencia de la dexametasona queda justificada por su alto poder miopático al ser un corticoide fluorado. La vía de administración elegida ha sido la intraarticular, al objeto de averiguar si la acción del fármaco se limita a un efecto local, o por el contrario actúa a distancia del lugar de infiltración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 20 perros mestizos, adultos, de talla y peso medios. Cada animal tuvo un espacio de 108 m² y se les ejercitó durante 10 minutos cada día. Fueron alimentados con

pienso granulado comercial (FRISKIES), disponiendo de agua y comida «ad libitum». El conjunto de animales fue dividido en dos grupos:

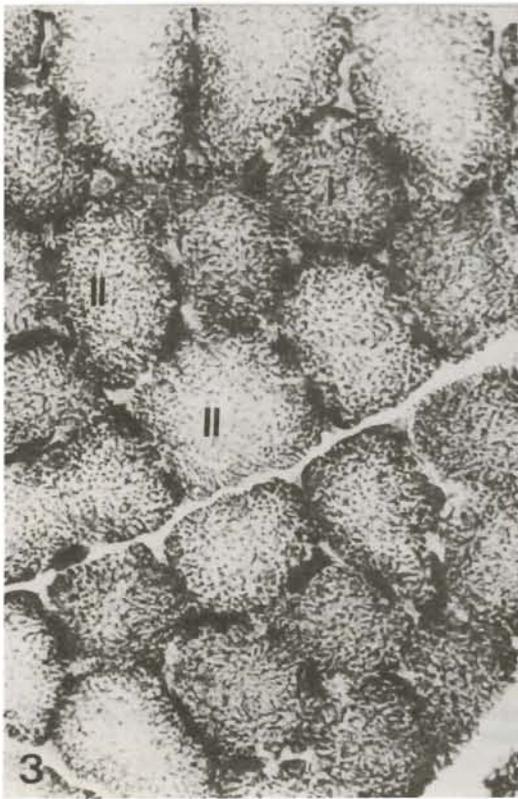
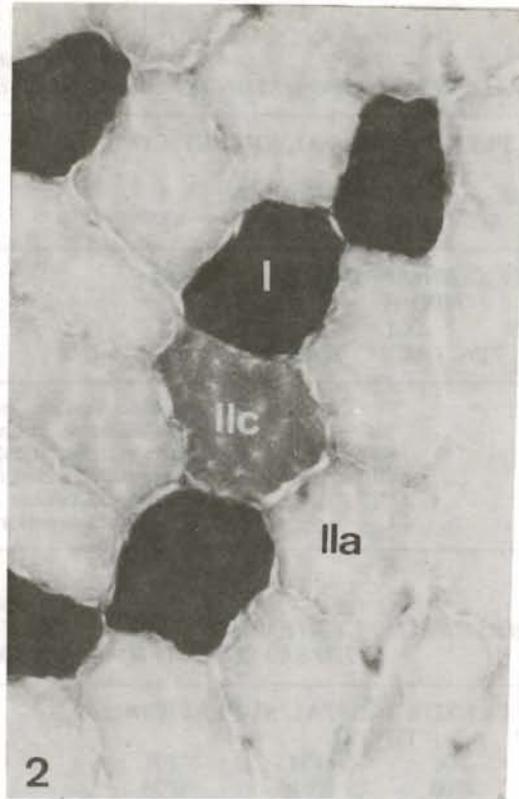
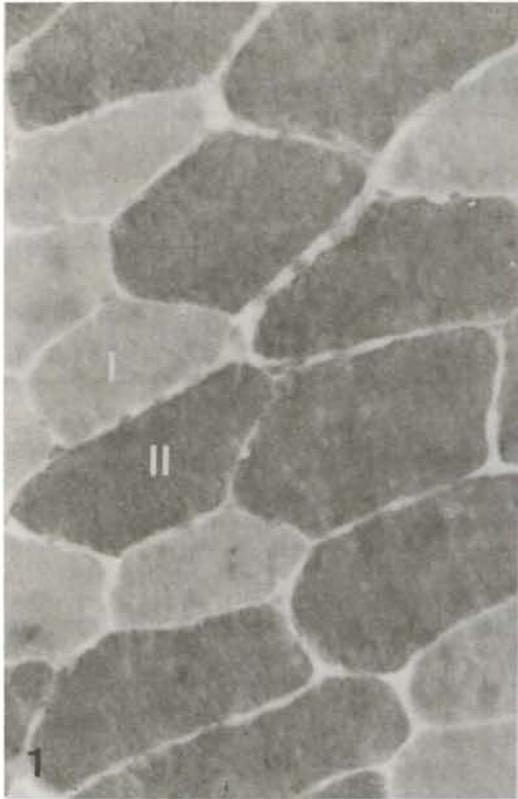
Grupo control: compuesto por 4 animales destinados a establecer el patrón fibrilar de los músculos objeto de estudio (Mm. extensor digital largo y flexor digital superficial del miembro pelviano).

Grupo experimental: integrado por los 16 perros restantes, a los que se les administra dexametasona (corticoide fluorado de acción media y potencia antiinflamatoria relativa de cuatro) en la articulación de la rodilla derecha. En función de la dosis y tiempo de obtención de muestras, los animales fueron divididos en distintos grupos y subgrupos (cuadro 1).

Bajo anestesia general con tiopental sódico, se obtienen muestras de los músculos extensor digital largo y flexor digital superficial de ambos miembros, tomando como referencia anatómica fija el extremo distal de la tuberosidad tibial. Una vez obtenidas, las muestras son congeladas en 2-metil-butano enfriado previamente a -160 °C en nitrógeno líquido (DUBOWITZ y BROOKE, 1973). El corte de éstas se realiza en un criostato a -20 °C, siendo el grosor de las secciones de 10 µm. Las secciones son sometidas a técnicas de hematoxilina-eosina, P.A.S., tricrómico de Gomori modificado, DPNH y ATPasa con una preincubación alcalina (pH

FIGURAS 1-3. Secciones transversales de los Mm. flexor digital superficial (fig. 1) y extensor digital largo (figs. 2 y 3) de los animales del grupo control. Reacciones ATPasa preincubación alcalina (pH 9.4), ácida (pH 4.3) y DPNH, respectivamente. 400 x.

FIGURA 5. Animal tratado con dos dosis masivas. Sección transversal del M. flexor digital superficial izquierdo. Reacción ATPasa tras preincubación alcalina (pH 9.4). 400 x.



CUADRO 2
VALORES MORFOMÉTRICOS OBTENIDOS EN LOS MÚSCULOS DEL GRUPO CONTROL

FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL						/ TIPO I					
/ TIPO II						/ TIPO I					
%	Xd	Sdd	CV	I	L	%	Xd	Sdd	CV	I	L
46'2	45'9	6'7	14'7	43'9	47'9	53'8	43'9	6'8	15'5	42'0	45'8

EXTENSOR DIGITAL LARGO						/ TIPO I					
/ TIPO II						/ TIPO I					
%	Xd	Sdd	CV	I	L	%	Xd	Sdd	CV	I	L
72'6	45'4	6'9	15'2	45'4	49'4	27'4	48'7	6'3	12'9	48'8	52'6

%	: Porcentaje del tipo de fibra
Xd	: Media del diámetro mínimo (µm)
Sdd	: Desviación estándar del diámetro mínimo
CV	: Coeficiente de variación del diámetro
I	: Límite confianza inferior diámetro 95% significación
L	: Límite confianza superior diámetro 95% significación

CUADRO 3
RESULTADOS OBTENIDOS TRAS EL CÁLCULO DE LOS FACTORES DE ATROFIA (FA), HIPERTROFIA (FH) Y FORMA (F) EN EL GRUPO CONTROL

FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL			/ TIPO I		
FA	FH	FF	FA	FH	FF
0'00	0'016	0'38	0'00	0'01	0'37

EXTENSOR DIGITAL LARGO			/ TIPO I		
FA	FH	FF	FA	FH	FF
0'01	0'03	0'17	0'00	0'03	0'34

FA:	Factor de atrofia (Brooke/Engel, 1969)
FH:	Factor de hipertrofia (Brooke/Engel, 1969)
FF:	Factor forma (Curless/Nelson, 1976)

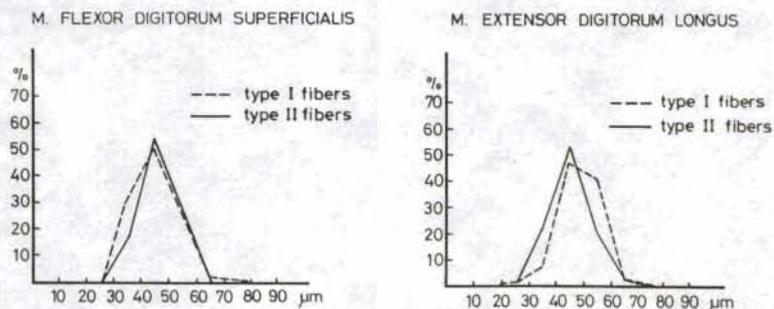


FIGURA 4. Histogramas de los músculos del grupo control. Porcentaje relativo del número de fibras en relación con el diámetro mínimo (en µm) de las mismas.

9'4) y otra ácida (pH 4'3), siguiendo la metodología propuesta por DUBOWITZ y BROOKE (1973).

La estimación del tamaño fibrilar se realiza con un analizador de imágenes IBAS-1, considerando como parámetro indicativo el diámetro menor de una estructura elíptica equivalente (SONG et al., 1963), estudiando un número de fibras superior a 150 (por cada tipo de fibra) y no haciendo distinción entre machos y hembras (BLOMSTRAND y EKBLOM, 1982; SHOREY y CLELAND, 1983). Los estudios relativos al porcentaje fibrilar se llevaron a cabo tras contar entre 500 y 1.000 fibras de un campo elegido al azar, previamente proyectado sobre una pantalla gracias a la incorporación de un sistema de lentes adaptado al ocular del microscopio (GIL, 1986).

El análisis estadístico se realizó con los valores del diámetro mínimo (BROOKE y ENGEL, 1969), hallándose el coeficiente de variación de la media de este parámetro, los factores de atrofia e hipertrofia (BROOKE y ENGEL, 1969) y el factor forma (CURLESS y NELSON, 1976). Los factores de atrofia e hipertrofia nos permiten valorar cuantitativamente aquellas poblaciones fibrilares de tamaños extremos. Los factores forma próximos a la unidad son indicativos de pérdida del contorno poligonal de la fibra y redondeamiento de ésta.

RESULTADOS

Grupo control

Observaciones morfológicas: La técnica de ATPasa realizada con preincubación alcalina (pH 9'4) nos permite evidenciar únicamente dos tipos de fibras (fig. 1): unas claras (ATPasa alcalino-lábil), identificadas como tipo I, y otras oscuras pertenecientes al tipo II (ATPasa alcalino-estable). Cuando la preincubación es ácida (pH 4'3) pueden ser observados dos subtipos dentro de este último tipo (fig. 2): las fibras IIa (ATPasa ácido-lábil) y las IIc (ATPasa ligeramente ácido-estable), claramente diferenciables de las restantes fibras tipo I (ATPasa ácido-estable). La reacción DPNH (fig. 3) nos permite definir a las fibras tipo I como oxidativas, y a las fibras tipo II como oxidativas-glicolíticas o glicolíticas, aunque no siempre siguen este comportamiento.

Observaciones morfométricas: Al estimar los tamaños fibrilares de los músculos estudiados (cuadros 2 y 3), observamos que las medias de los diámetros mínimos para las fibras tipo I y II son muy similares en ambas entidades musculares ($p < 0'05$). Asimismo, apreciamos que más del 90% de la población fibrilar se encuentra en estos músculos comprendida entre 30 y 60 μm (fig. 4), por lo que hemos utilizado este rango

CUADRO 4

VALORES MORFOMÉTRICOS OBTENIDOS EN LOS ANIMALES TRATADOS CON DOSIS MASIVAS DE DEXAMETASONA (MÚSCULOS FLEXORES). % = PORCENTAJE DEL TIPO DE FIBRA. Xd = MEDIA DEL DIÁMETRO MÍNIMO (EN μm). Sdd = DESVIACIÓN STÁNDAR DEL DIÁMETRO MÍNIMO. CV = COEFICIENTE DE VARIACIÓN. I = LÍMITE DE CONFIANZA INFERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN). L = LÍMITE DE CONFIANZA SUPERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN)

FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL DERECHO												
/ TIPO II							/ TIPO I					
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	I	L	%	Xd	Sdd	CV	I	L
A	44'9	51'8	9'3	17'9	50'3	53'3	55'1	51'3	7'8	15'3	50'0	52'5
B	56'5	33'1	6'4	19'5	32'0	34'1	43'5	41'5	6'3	15'2	40'5	42'5
C	46'2	45'9	6'7	14'7	44'8	47'0	53'8	43'9	6'8	15'6	42'7	45'0
D	56'9	33'5	6'4	19'1	32'5	34'5	43'1	35'8	5'3	15'0	34'9	36'6

FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL IZQUIERDO												
/ TIPO II							/ TIPO I					
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	I	L	%	Xd	Sdd	CV	I	L
A	43'3	53'0	15'1	28'6	50'5	55'4	56'7	54'3	12'9	23'7	52'2	56'4
B	58'2	25'6	16'5	64'3	23'0	28'3	41'8	40'9	10'9	26'8	39'1	42'6
C	53'0	41'5	8'4	20'2	40'2	42'9	47'0	42'8	6'5	15'3	41'7	43'9
D	64'9	35'4	5'6	15'8	34'5	36'3	35'1	41'3	6'3	15'3	40'3	42'3

CUADRO 5

VALORES MORFOMÉTRICOS OBTENIDOS EN LOS ANIMALES TRATADOS CON DOSIS MASIVAS DE DEXAMETASONA (MÚSCULOS EXTENSORES). % = PORCENTAJE DEL TIPO DE FIBRA. Xd = MEDIA DEL DIÁMETRO MÍNIMO (EN μm). Sdd = DESVIACIÓN STÁNDAR DEL DIÁMETRO MÍNIMO. CV = COEFICIENTE DE VARIACIÓN. l = LÍMITE DE CONFIANZA INFERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN). L = LÍMITE DE CONFIANZA SUPERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN).

EXTENSOR DIGITAL LARGO DERECHO / TIPO II							/ TIPO I					
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	l	L	%	Xd	Sdd	CV	l	L
A	67'2	46'9	7'6	16'3	45'6	48'1	23'9	53'9	10'4	19'4	52'2	55'6
B	82'8	46'0	9'9	21'5	44'4	47'6	17'2	38'7	8'1	20'9	37'4	40'0
C	77'8	65'5	17'6	26'8	62'7	68'4	22'1	54'2	14'4	26'6	51'9	56'5
D	84'1	34'3	8'9	26'1	32'8	35'7	15'8	40'4	8'1	20'1	39'1	41'7

EXTENSOR DIGITAL LARGO IZQUIERDO / TIPO II							/ TIPO I					
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	l	L	%	Xd	Sdd	CV	l	L
A	75'9	48'6	9'1	18'7	47'1	50'1	24'0	57'8	7'8	13'5	56'5	59'0
B	78'2	34'8	6'0	17'3	33'8	35'8	21'7	48'3	8'3	17'1	47'0	49'7
C	75'6	51'7	12'9	25'0	49'6	53'7	24'3	39'2	7'8	19'9	37'9	40'4
D	80'6	31'0	5'7	18'5	30'1	32'0	19'3	26'8	5'9	22'1	25'9	27'8

en el análisis de los animales experimentales. Al comparar el mismo tipo de fibras en los dos músculos, encontramos que el tamaño para las tipo II es prácticamente idéntico; por el contrario, las tipo I son de mayor tamaño en el extensor digital largo (48'7 μm) que en el flexor digital superficial (43'9 μm), ($p < 0'05$). Cuando el parámetro estudiado es el porcentaje de tipos de fibras, hallamos notables diferencias. Así, en el extensor digital largo existe un claro predominio de fibras tipo II (72'52%), mientras que en flexor digital superficial este mayor porcentaje corresponde a las fibras tipo I (53'87%).

Grupos experimentales

Dosis masiva

Observaciones morfológicas: En los músculos flexores de los animales tratados con este tipo de glucocorticoides, se observan distintos tipos de alteraciones morfológicas dependiendo del número de dosis administradas. Así, en el

músculo flexor digital superficial del miembro izquierdo de los perros a los que se administró dos dosis masivas de dexametasona, se aprecian frecuentemente fibras de pequeño tamaño, tanto de tipo I como del tipo II cuando se analizan secciones de tejido teñidas con diferentes técnicas (fig. 5). Resultan llamativos los agrupamientos de fibras tipo I y II observados en este mismo músculo, de animales tratados con tres dosis masivas de dicho fármaco (fig. 6).

Con respecto a los músculos extensores, solamente hallamos lesiones en el extensor digital largo del miembro izquierdo de los animales tratados con tres dosis y sacrificados a la quinta semana de iniciada la experiencia. De tal forma, que tanto las fibras tipo I como II presentaban pérdida del contorno poligonal y disminución aparente de su tamaño (fig. 7).

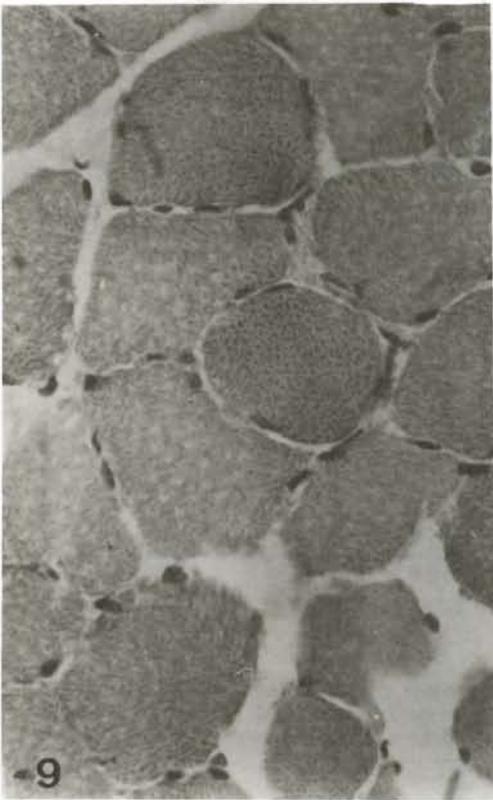
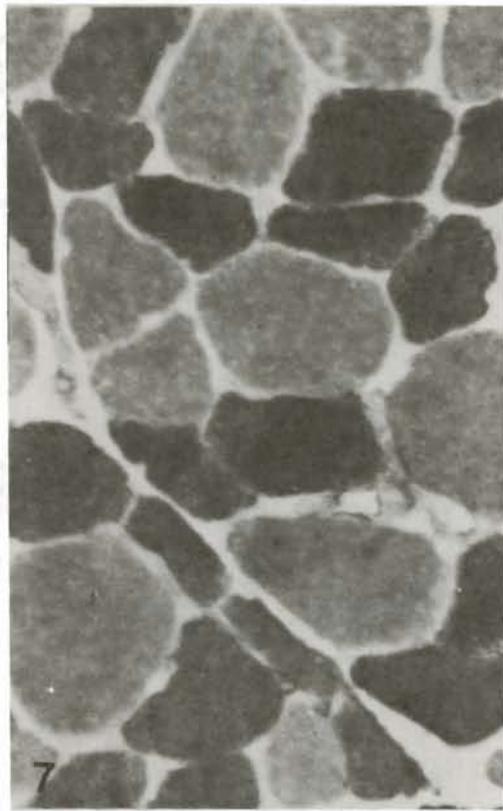
Observaciones morfológicas (cuadros 4 y 5); en el músculo flexor izquierdo de los animales tratados con una sola dosis se aprecian sendas poblaciones de ambos tipos fibrilares situados a la izquierda de los valores medios, estando los tamaños de las fibras tipo I muy

FIGURA 6. Animal tratado con tres dosis masivas. Sección transversal del M. flexor digital superficial izquierdo. Reacción ATPasa tras preincubación ácida (pH 4.3). 100 x.

FIGURA 7. Animal tratado con tres dosis masivas y un período de descanso de dos semanas. Sección transversal del M. extensor digital largo izquierdo. Reacción ATPasa tras preincubación alcalina (pH 9.4). 400 x.

FIGURA 9. Animal tratado con dos dosis clínicas. Sección transversal del M. extensor digital largo derecho. Tricrómico de Gomori modificado. 400 x.

FIGURA 10. Animal tratado con dos dosis clínicas. Sección transversal del M. extensor digital largo derecho. Tricrómico de Gomori modificado. 400 x.



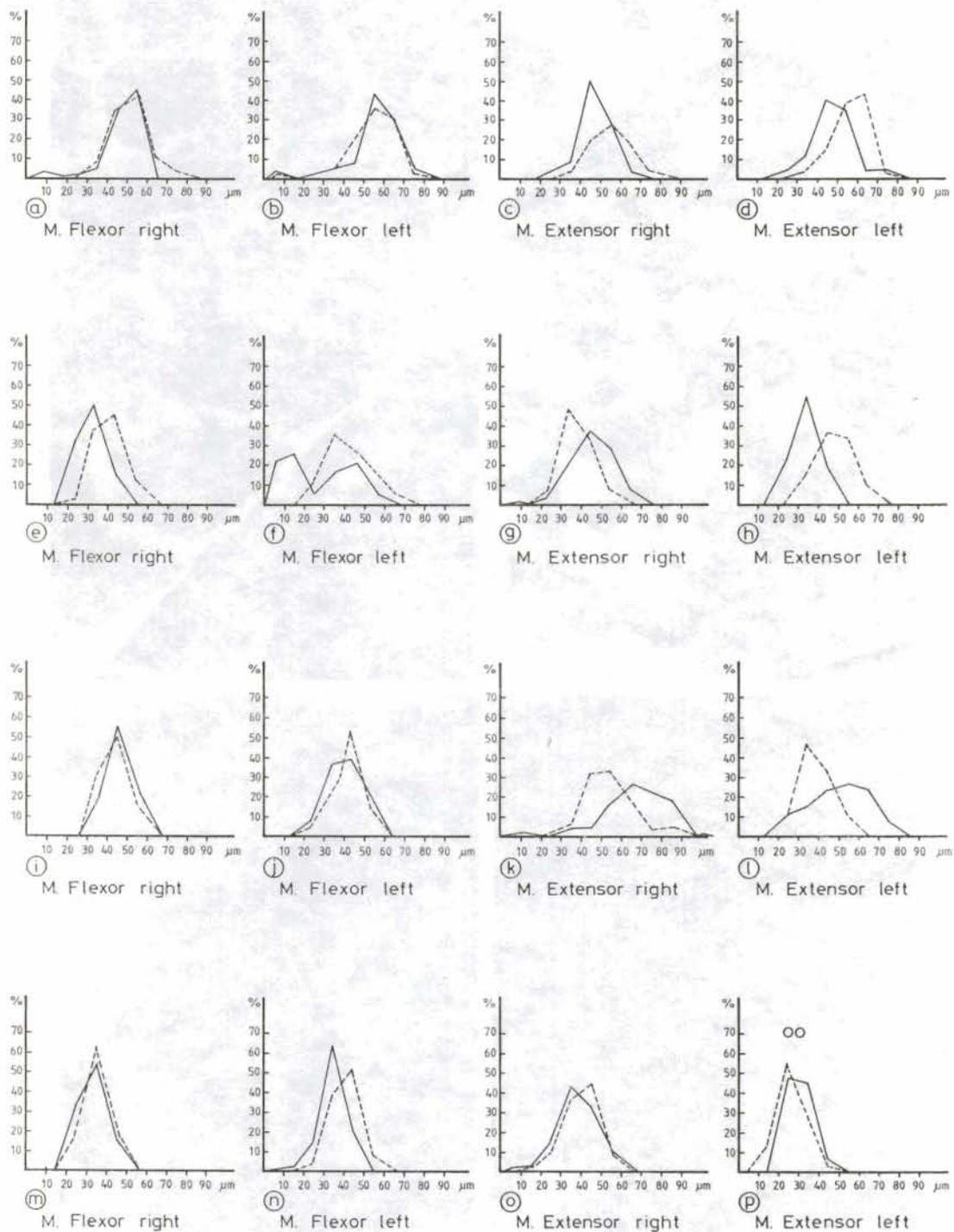


FIGURA 8. Histogramas de los músculos de animales tratados con dosis masivas. Porcentaje relativo del número de fibras en relación con el diámetro mínimo (en μm) de las mismas. a-d: una dosis. e-h: dos dosis. i-l: tres dosis. m-p: tres dosis más periodos de descanso de 1, 2, 3 y 4 semanas respectivamente.

dispersos (fig. 8b). En el flexor derecho y en los extensores de ambos miembros existe una desviación a la derecha de las fibras tipo I (fig. 8a, 8c y 8d).

En los músculos flexores de los animales que recibieron dos dosis, apreciamos desviación a la izquierda de las fibras tipo II, siendo más ostensible en el flexor izquierdo. En este último se observa además la existencia de gran variabilidad del tamaño de ambos tipos fibrilares y, dos grupos de fibras de tipo II: unas, de tamaño semejante al normal y otras, las más abundantes, de tamaño menor al normal (fig. 8e y 8f). Asimismo se evidencia en el músculo flexor izquierdo una desviación a la izquierda de las fibras tipo I. En el extensor izquierdo de este subgrupo ocurre el mismo fenómeno de desviación a la izquierda de las fibras tipo II (fig. 8h).

Cuando se administraron tres dosis se encontró alteración exclusiva de los extensores. En el del miembro derecho existe una desviación a la derecha de ambos tipos de fibras, con una mayor amplitud del tamaño de las mismas. En las tipo I aparecen dos grupos fibrilares de tamaño diferente, el más numeroso cercano al control y el menor localizado a la derecha de aquél (fig. 8k). En el músculo extensor izquierdo existe una mayor amplitud del tamaño y una desviación a la derecha de las fibras tipo II, mientras que en las tipo I se observa una discreta desviación a la izquierda (fig. 8l).

En los animales que se trataron con tres dosis

y se les dejó un período de recuperación, se apreció una desviación a la izquierda de ambos tipos de fibras en el músculo flexor derecho y en ambos extensores, siendo mucho más evidente en el extensor izquierdo (fig. 8m, 8o y 8p). En cambio, en el músculo flexor izquierdo la desviación a la izquierda correspondió exclusivamente a las fibras tipo II (fig. 8n).

Dosis clínica

Observaciones morfológicas: En este grupo, el hecho más relevante es la inexistencia de alteraciones en los músculos flexores. Sin embargo, las fibras del músculo extensor digital largo derecho de los animales sacrificados a la segunda y tercera semanas de la primera dosis presentaban desaparición del contorno poligonal, eosinofilia (fig. 9) y pérdida de la integridad del sarcolema (fig. 10). Se denota asimismo la presencia de fibras tipo II con aparente reducción de su tamaño (fig. 11).

En el miembro izquierdo, únicamente se apreciaron lesiones en los músculos extensores de animales sacrificados en la segunda y quinta semanas. En los primeros, apreciamos abundantes imágenes que revelan procesos de necrosis fibrilar semejantes a los ya descritos (fig. 12). En los segundos, observamos fibras tipo I anguladas, con aparente disminución de su tamaño (fig. 13).

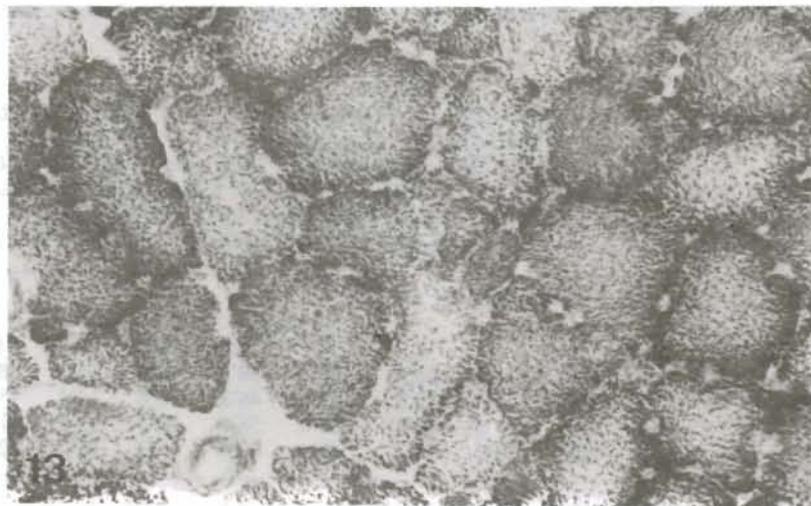
Observaciones morfométricas: Al administrar

CUADRO 6

VALORES MORFOMÉTRICOS OBTENIDOS EN LOS ANIMALES TRATADOS CON DOSIS CLÍNICAS DE DEXAMETASONA (MÚSCULOS FLEXORES). % = PORCENTAJE DEL TIPO DE FIBRA. Xd = MEDIA DEL DIÁMETRO MÍNIMO (EN μm). Sdd = DESVIACIÓN STÁNDAR DEL DIÁMETRO MÍNIMO. CV = COEFICIENTE DE VARIACIÓN. l = LÍMITE DE CONFIANZA INFERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN). L = LÍMITE DE CONFIANZA SUPERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN)

FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL DERECHO												
/ TIPO II						/ TIPO I						
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	l	L	%	Xd	Sdd	CV	l	L
A'	59'6	66'7	12'0	18'0	64'7	68'6	40'4	59'5	8'4	14'2	58'1	60'9
B'	68'7	48'0	7'9	16'5	46'7	49'3	31'3	46'7	6'6	14'1	45'7	47'8
C'	80'0	58'7	13'1	22'3	56'6	60'8	20'0	58'8	10'5	17'9	57'9	60'5
D'	53'9	30'2	6'2	20'4	29'2	31'2	46'1	33'3	5'4	16'2	32'4	34'2

FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL IZQUIERDO												
/ TIPO II						/ TIPO I						
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	l	L	%	Xd	Sdd	CV	l	L
A'	57'1	61'0	9'7	15'9	59'4	62'6	52'9	51'4	7'7	15'1	50'1	52'7
B'	61'5	52'0	6'8	13'1	50'9	53'1	38'5	51'4	6'4	12'5	50'3	52'4
C'	73'5	50'1	9'8	19'6	48'5	51'7	26'5	36'8	7'2	19'7	35'6	37'9
D'	49'8	29'0	4'6	15'9	28'3	29'8	50'2	32'2	5'7	17'6	31'3	33'1



- FIGURA 11. Animal tratado con tres dosis clínicas. Sección transversal del M. extensor digital largo derecho. Reacción ATPasa tras preincubación alcalina (pH 9.4). 400 x.
- FIGURA 12. Animal tratado con dos dosis clínicas. Sección transversal del M. extensor digital largo izquierdo. Reacción P.A.S. 100 x.
- FIGURA 13. Animal tratado con tres dosis clínicas y un período de recuperación de dos semanas. Sección transversal del M. extensor digital largo izquierdo. Reacción DPHN. 400 x.

CUADRO 7

VALORES MORFOMÉTRICOS OBTENIDOS EN LOS ANIMALES TRATADOS CON DOSIS CLÍNICAS DE DEXAMETASONA (MÚSCULOS EXTENSORES). % = PORCENTAJE DEL TIPO DE FIBRA. Xd = MEDIA DEL DIÁMETRO MÍNIMO (EN μm). Sdd = DESVIACIÓN STÁNDAR DEL DIÁMETRO MÍNIMO. CV = COEFICIENTE DE VARIACIÓN. I = LÍMITE DE CONFIANZA INFERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN). L = LÍMITE DE CONFIANZA SUPERIOR DEL DIÁMETRO MÍNIMO (95% SIGNIFICACIÓN)

EXTENSOR DIGITAL LARGO DERECHO												
/ TIPO II							/ TIPO I					
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	I	L	%	Xd	Sdd	CV	I	L
A'	75'7	65'1	9'6	14'8	63'6	66'7	24'2	61'3	9'2	15'0	59'8	62'8
B'	76'2	44'5	10'2	22'8	42'9	46'2	28'7	45'6	7'0	15'5	44'4	46'7
C'	78'1	57'9	17'8	30'7	55'0	60'7	21'8	49'2	11'3	23'0	47'4	51'0
D'	64'7	36'3	8'2	22'6	35'0	37'6	35'2	35'1	8'5	24'1	33'7	36'5

EXTENSOR DIGITAL LARGO IZQUIERDO												
/ TIPO II							/ TIPO I					
SUB.	%	Xd	Sdd	CV	I	L	%	Xd	Sdd	CV	I	L
A'	72'1	56'0	11'1	19'9	54'1	57'8	27'8	52'1	8'9	17'1	50'6	53'5
B'	73'3	54'9	16'4	29'9	52'2	57'6	26'6	47'2	13'0	27'6	45'1	49'3
C'	74'8	51'0	12'7	24'9	48'9	53'0	25'1	41'2	9'3	22'7	39'6	42'7
D'	62'6	30'9	7'2	23'3	29'7	32'1	37'3	34'8	6'6	19'0	37'7	35'8

una sola dosis se aprecia una desviación a la derecha de ambos tipos de fibras en todos los músculos del miembro derecho (figs. 14a y 14c).

Cuando el tratamiento es con dos dosis sólo se encuentra alteración en el músculo extensor digital largo. En el del miembro derecho existe una mayor dispersión del tamaño de las fibras tipo II (fig. 14g), mientras que en el miembro izquierdo la dispersión afecta a ambos tipos fibrilares (fig. 14h).

En el subgrupo tratado con tres dosis existe una desviación a la derecha de las fibras tipo II de todos los músculos analizados. En los músculos del miembro derecho, las fibras tipo I muestran una desviación a la derecha (figs. 14i y 14k), mientras que en los del miembro izquierdo, la desviación es a la izquierda (figs. 14j y 14l). En el músculo extensor derecho existe, además, una gran dispersión del tamaño de dicho tipo de fibras (fig. 14k).

En el músculo extensor del miembro izquierdo de los animales anteriormente citados se aprecian también alteraciones en las fibras tipo II. Muestran dos grupos de fibras: uno a la izquierda y otro a la derecha, respecto a la media de las fibras del músculo control (fig. 14l).

En los músculos de animales a los que se dejó tres semanas de recuperación tras la tercera dosis, se observa una desviación a la izquierda de los dos tipos fibrilares en todos los músculos, siendo más evidente en el músculo flexor izquierdo (figs. 14m, 14n, 14o y 14p).

Todas estas observaciones tienen su respaldo

en los datos morfométricos obtenidos mediante análisis de imagen y el posterior estudio estadístico (cálculo de coeficientes de variación, factores de atrofia, hipertrofia y forma), que quedan reflejados en los cuadros, 6, 7, 8 y 9.

DISCUSIÓN

Tipos de fibras

La clasificación fibrilar se ha basado en la distinta reactividad histoquímica de las fibras musculares ante las técnicas de ATPasa, ya que con la reacción oxidativa es difícil realizar una tipificación fibrilar en el perro a diferencia de otras especies (ARMSTRONG et al., 1982; GOLLNICK et al., 1983; GIL, 1986). La clasificación más equiparable a la nuestra es la de DUBOWITZ y BROOKE (1973). No obstante hemos de hacer hincapié en la diferente reacción enzimática del músculo esquelético dependiendo de la especie animal que se estudie (MCCONATHY et al., 1983; GIL, 1986).

En la musculatura del perro identificamos un solo tipo de fibras «I» (ARMSTRONG, 1980; ARMSTRONG et al., 1982; RODRÍGUEZ-BARBUDO et al., 1984; CASTLE y REYMAN, 1984; MATOBA et al., 1985; GIL, 1986). Las fibras IIa y IIc son evidenciadas en el músculo del perro (GUNN, 1978; CARDINET et al., 1982; BRAUND et al., 1982). Otros autores han descrito la presencia de fibras IIb (no detectadas

CUADRO 8
 RESULTADOS OBTENIDOS TRAS EL CÁLCULO DE LOS FACTORES DE ATROFIA (FA),
 HIPERTROFIA (FH) Y FORMA (FF) EN EL GRUPO EXPERIMENTAL (MÚSCULOS FLE-
 XORES)

SUB.	MÚSCULOS FLEXORES / TIPO II					
	FA		FH		FF	
	D	I	D	I	D	I
A	25'71	356'55	0'00	610'68	1'17	1'38
B	472'20	2.912'95	0'00	0'00	1'67	2'04
C	9'48	78'46	9'48	7'80	1'51	1'49
D	448'98	194'88	0'00	0'00	1'63	1'40
A'	0'00	18'86	3.777'77	1.490'56	1'36	1'31
B'	15'15	0'00	75'75	124'03	1'37	1'33
C'	12'98	0'00	805'19	241'37	1'64	1'57
D'	1.187'50	1.594'59	0'00	0'00	1'47	1'63

SUB.	MÚSCULOS FLEXORES / TIPO I					
	FA		FH		FF	
	D	I	D	I	D	I
A	0'00	179'34	66'43	566'55	1'16	1'24
B	29'27	195'12	0'00	60'12	1'52	1'44
C	0'00	37'18	16'32	7'39	1'48	1'45
D	203'61	36'55	0'00	0'00	1'49	1'32
A'	24'48	9'00	206'89	153'75	1'38	1'39
B'	0'00	0'00	29'19	108'52	1'38	1'33
C'	0'00	261'26	1.012'65	0'00	1'56	1'59
D'	355'51	642'85	0'00	0'00	1'39	1'51

en nuestro trabajo) en esta especie (MATOBA et al., 1985), aunque suelen ser consideradas como fibras de transición (CARDINET et al., 1983; GIL et al., 1986).

Los valores de porcentajes fibrilares hallados en los músculos del grupo control, se asemejan a los referidos por ARMSTRONG et al. (1982). Otro tanto ocurre para el valor del diámetro mínimo de las fibras tipos I y II del flexor digital superficial dado por BRAUND y LINCOLN (1981). Aunque por lo general las fibras tipo II superan en diámetro a las tipo I (DUBOWITZ y BROOKE, 1973; ARMSTRONG, 1980), no sucede así en el flexor digital superficial, donde se invierte la relación, como en el músculo gastrocnemio (BRAUND y LINCOLN, 1981). Por lo que en iguales condiciones de especie, entrenamiento y alimentación, hay que considerar como factor morfométrico el músculo estudiado (GAUTHIER et al., 1978; BILLETER et al., 1980; MATOBA et al., 1985).

RESULTADOS MORFOLÓGICOS

Los cambios morfológicos más frecuentemente observados, corresponden a modificaciones indicativas de un proceso inflamatorio

de localización perimisial. Dicha inflamación se aprecia casi de forma exclusiva en los últimos estadios del tratamiento de dosis masivas (BRAUND et al., 1980; MANDEL, 1982; CARPIO et al., 1984). La angulación de las fibras tipo I y la disminución del tamaño de las mismas, evidencian un claro patrón neuropático (KHAALELI et al., 1983). Por el contrario, la disminución del tamaño de las fibras tipo II, es la lesión más frecuente y extensamente descrita para la miopatía por glucocorticoides (SHOJI y PENNINGTON, 1977; CLARK y VIGNOS, 1979; SLAVING et al., 1983; CARLSON et al., 1983; CARPIO et al., 1984). La reacción celular observada es de carácter inespecífico, semejante a la presente en otras miositis (LESTER et al., 1982), pero en la miopatía cortisónica los signos inflamatorios son más localizados (OJEDA, 1982). Cabe la discusión de si la reacción celular se produce frente al corticoide o ante un agente sobreinfectante que actúa al amparo del primero. Sobre la primera teoría hay que apuntar lo mencionado por NELSON y CONN (1982) respecto al carácter morbozo de los cristales de corticoide frente a los tejidos con los que contacta. Sin embargo, estos cambios inflamatorios localizados han sido también descritos cuando el fármaco se aplica por vía gene-

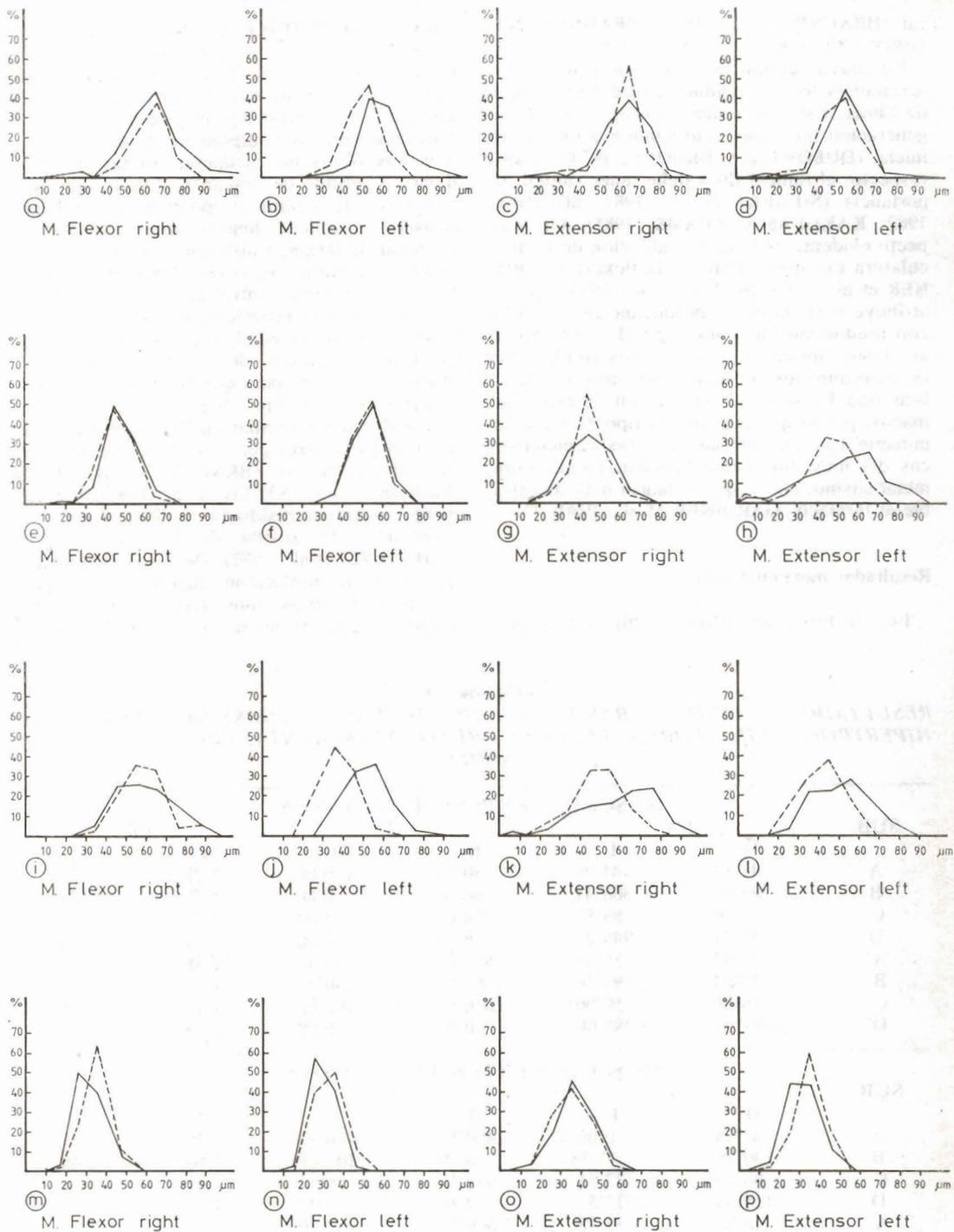


FIGURA 14. Histogramas de los músculos de animales tratados con dosis clínicas. Porcentaje relativo del número de fibras en relación con el diámetro mínimo (en μm) de las mismas. a-d: una dosis. e-h: dos dosis. i-l: tres dosis. m-p: tres dosis más periodos de descanso de 1, 2, 3 y 4 semanas respectivamente.

ral (BRAUND et al., 1980; BRAUNSTEIN y GIROLAMI, 1982; MANDEL, 1982).

En apoyo del patrón neuropático encontrado apuntamos los agrupamientos de ambos tipos de fibras. Estos son signos de procesos de regeneración muscular consecuente a una lesión inicial (DUBOWITZ y BROOKE, 1973). A este respecto, el radical flúor debe tener capital importancia (SIEGERT et al., 1981; MANDEL, 1982; KAKULAS y ADAMS, 1985). Otro aspecto evidente es la mayor afección de la musculatura extensora frente a la flexora (GARDINER et al., 1980; SOHAR et al., 1982), que se atribuye a la miopatía producida en músculos con predominio de fibras tipo II (BRAUND et al., 1980). Sin embargo se han descrito lesiones en determinados músculos con mayoría de fibras tipo I tras la administración de estos fármacos, por lo que más que el tipo de fibra dominante hay que pensar en otras características del músculo, como función, localización, metabolismo, etc..., que lo hagan más susceptible al fármaco (GARDINER et al., 1980).

Resultados morfométricos

Los factores de atrofia e hipertrofia pro-

puestos por BROOKE y ENGEL (1969), nos permiten cuantificar las alteraciones del tamaño de las poblaciones fibrilares. Los últimos estadios del tratamiento con dexametasona son los que afectan de forma más intensa al músculo, y concretamente al componente extensor. Además, las fibras no recuperan su tamaño tras dejar un período de descanso al final de la tercera dosis. En cuanto al tipo de dosis empleada (masiva o clínica), hemos observado que la cantidad de fármaco utilizado tiene una importancia secundaria, así como el número de infiltraciones, pudiendo entrar en juego otros factores como el almacenamiento del corticoide en el tejido sinovial, la edad, las diferencias físico-químicas y el tamaño de los cristales (MOELLMAN et al., 1980), para que el corticoide pase a vía general y sea capaz de producir la miopatía.

La afección muscular en la miopatía cortisónica se caracteriza por una atrofia selectiva de las fibras tipo II (BRAUND et al., 1980; MANDEL, 1982; STERN et al., 1982). Sin embargo, nuestros resultados indican también la existencia de atrofia de las fibras tipo I (KHALELI et al., 1982). Debemos significar la presencia de poblaciones hipertroficas de ambos tipos de fibras, sobre todo en los primeros estadios; este hecho no es advertido por los

CUADRO 9
RESULTADOS OBTENIDOS TRAS EL CÁLCULO DE LOS FACTORES DE ATROFIA (FA), HIPERTROFIA (FH) Y FORMA (FF) EN EL GRUPO EXPERIMENTAL (MÚSCULOS EXTENSORES)

SUB.	MÚSCULOS EXTENSORES / TIPO II							
	FA		FH		FF			
	D	I	D	I	D	I	D	I
A	41'82	41'08	40'71	120'00	1'28	1'22		
B	63'97	308'41	80'00	0'00	1'59	1'53		
C	167'20	88'88	4.954'07	554'34	1'43	1'47		
D	228'91	948'27	8'43	0'00	2'01	1'53		
A'	27'02	56'81	3.675'00	543'45	1'38	1'44		
B'	77'84	191'78	65'86	1.246'57	1'47	1'52		
C'	216'66	50'00	2.016'66	460'00	1'49	1'45		
D'	2.787'23	9.285'00	0'00	0'00	1'53	1'46		

SUB.	MÚSCULOS EXTENSORES / TIPO I							
	FA		FH		FF			
	D	I	D	I	D	I	D	I
A	45'28	0'00	490'56	870'37	1'19	1'18		
B	130'76	15'38	0'00	107'69	1'50	1'40		
C	88'57	127'11	641'57	8'47	1'39	1'45		
D	125'84	2.533'33	2'86	0'00	1'50	1'52		
A'	58'82	32'78	3.000'00	262'20	0'74	1'38		
B'	37'59	202'24	88'16	202'24	1'39	1'49		
C'	109'09	179'48	227'27	17'09	1'44	1'46		
D'	401'96	283'18	9'80	0'00	1'48	1'42		

autores consultados, y puede deberse a la acción compensadora del músculo, de forma similar a como lo hace en otras circunstancias patológicas (MORENO et al., 1985). Por otra parte, los coeficientes de variación de la media de los diámetros mínimos mayores de 25, son indicativos de gran variabilidad del tamaño fibrilar, resultado de una afección miopática (DUBOWITZ Y BROOKE, 1973). El músculo más afectado es el componente extensor, dado su mayor porcentaje de fibras tipo II (GARDINER et al., 1980; BRAUNSTEIN y GIROLAMI, 1982; SAARTOCK, 1984).

La pérdida del contorno poligonal comentada en el apartado de morfología tiene su respaldo morfométrico en el factor forma (FF), pues los FF entre 0'5 y 1'5 son indicativos de un redondeamiento de la fibra (CARPIO et al., 1984). No estamos de acuerdo con MIGNOT et al. (1981) en considerar los FF alejados de la unidad como indicativos de angulación fibrilar, pues al intervenir el área en el cálculo de este factor, dichos valores pueden estar influidos por la posible oblicuidad del corte.

También debemos considerar que los resultados morfométricos están en función del número de animales empleados en la experiencia, por lo que su comparación debe ser tomada con ciertas precauciones y deben ser corroborados en próximos trabajos donde el número de animales sea más elevado.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMSTRONG, R. B. 1980: Properties and distribution of the fiber types in the locomotory muscles of mammals. In: *Comparative Physiology: Primitive Mammals*. K. Schmidt-Neilsen and C. R. Taylor, eds. Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 243-254.
- ARMSTRONG, R. B.; SAUBERT C. W., SEEHERMAN, H. J.; TAYLOR, C. R. 1982: Distribution of fiber types in locomotory muscles of dogs. *Am. J. Anat.* 163: 87-98.
- BILLETER, R.; WEBER, H.; LUTZ, H.; HOWALDA, I. 1980: Myosin types in human skeletal muscle fibers. *Histochemistry* 65: 249-259.
- BLOMSTRAND, E.; EKBLUM, B. 1982: The needle biopsy techniques for fibre type determination in human skeletal muscle. A methodological study. *Acta Physiol. Scand.* 116: 437-442.
- BRAUND, K. G.; DILLON, A. R.; MIKEA, R. L. 1980: Experimental investigation of glucocorticoid-induced myopathy in the dog. *Exp. Neurol.* 68: 50-71.
- BRAUND, K. G.; LINCOLN, C. E. 1981: Histochemical differentiation of fiber types in neonatal canine skeletal muscle. *Am. J. Vet. Res.* 42: 407-415.
- BRAUND, K. G.; MCGUIRE, J. A.; LINCOLN, C. E. 1982: Observations on normal skeletal muscle of mature dogs: A cytochemical, histochemical, and morphometric study. *Vet. Pathol.* 19: 577-595.
- BRAUNSTEIN, P. V.; GIROLAMI, U. 1982: Experimental corticosteroid myopathy. *Acta Neuropathol (Berlín)*. 55: 167-172.
- BROOKE, M. H.; ENGEL, W. K. 1969: The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 3. Myotonies, myasthenia gravis and hypokalemic periodic paralysis. *Neurology* 19: 469-477.
- BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. 1970: Muscle fiber types: How many and what kind? *Arch. Neurol.* 23: 369-379.
- CARDINET, G. H.; LEONG, C. L.; MEANS, P. S. 1982: Myofiber differentiation in normal and hypotrophied canine pectineal muscles. *Musc. Nerv.* 5: 665-673.
- 1983: Differentiation of myofiber types in canine pectineal muscle. *Reports of the W.A.V.A. In: Zbl. Veterinarmed Anat. Histol. Embryol.* 3: 88.
- CARPIO, M.; FUENTES, F.; BAENA, A.; CARRERA, G.; BAENA, J. A.; GARCÍA, C. 1984: Miopatías de origen yatrógeno experimentalmente provocadas por metil-prednisolona y dexametasona. *Alteraciones morfológicas. Rev. Toxicol.* 1: 178-190.
- CASTLE, M. E.; REYMAN, T. A. 1984: The effect of tenotomy and tendon transfer on muscle fiber types in the dog. *Clin. Orthop.* 186: 302-310.
- CLARK, A. F.; VIGNOS, P. J. 1979: Experimental corticosteroid myopathy effect on myofibrillar ATPase activity and protein degradation. *Musc. Nerv.* 2: 265-273.
- CURLESS, R. J.; NELSON, M. B. 1976: Development patterns of rat muscle histochemistry. *J. Embryol. Morph.* 36: 355-363.
- DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. H. 1973: *Muscle biopsy: A modern approach*. W. B. Saunders, London.
- FORTH, W. 1981: Erhöhte myopathiegefahr durch triamcinolon und andere 9 alpha-fluoro compounds? *Dtsch. Arzbebl.* 78: 1.457.
- GARDINER, P. F.; BOTTERMAN, B. R.; ELDRED, E.; SIMPSON, D. R.; EDGERTON, J. R. 1978: Metabolic and contractile changes in fast and slow muscles of the cat after glucocorticoid-induced atrophy. *Exp. Neurol.* 62: 241-255.
- GARDINER, P. F.; MONTANARO, G.; SIMPSON, D. R.; EDGERTON, J. R. 1980: Effects of glucocorticoid treatment and food restriction on rat hindlimb muscles. *Am. J. Physiol.* 238: 124-130.
- GAUTHIER, G. F.; LOWEY, S.; HOBBS, A. W. 1978: Fast and slow myosin in developing muscle fibers. *Nature.* 274: 25-29.
- GIL, F. 1986: Diferenciación postnatal de los tipos de miofibrillas de algunos músculos del perro. Tesis Doctoral Universidad de Murcia.
- GIL F.; VÁZQUEZ, J. M.; MORENO, F. 1986: Contribución al estudio histoquímico y morfométrico de las fibras tipo IIB en el músculo esquelético del perro. *An. Vet. (Murcia)*. 2: 61-66.
- GOLLNICK, P. D.; PARSONS, D.; OAKLEY, C. R. 1983: Differentiation of fiber types in skeletal muscle from the sequential inactivation of myofibrillar actomyosin ATPase during acid preincubation. *Histochemistry* 77: 543-555.
- GUNN, H. M. 1978: The mean fibre area of the semi-

- tendinosus, diaphragm and pectoralis transversus muscles in differing types of horse and dog. *J. Anat.* 127: 403-414.
- KAKULAS, B. A.; ADAMS, R. D. 1985: Disease of muscle. Harper Row, Philadelphia.
- KHALEELI, A. A.; EDWARDS, R. H.; GOHIL, K.; MCPHAIL, G.; RENNIE, M. J. 1983: Corticosteroid myopathy: A clinical and pathological study. Blackwell Publ. Oxford.
- LESTER, J. M.; SILVER, D. I.; BRADLEY, W. G.; COHEN, M. H.; HIRSCH, R. P.; BRENNER, J. F. 1982: Discrimination and consistency of five myosin ATPase stains in human normal and Duchenne dystrophic muscle. *Histochemistry* 75: 557-571.
- MANDEL, S. 1982: Steroid myopathy. Insidious cause of muscle weakness. *Postgrad Med. J.* 72: 207-215.
- MATOBA, H.; ALLEN, J. R.; BAYLY, W. M.; OAKLEY, C. R.; GOLLNICK, P. D. 1985: Comparison of fiber types in skeletal muscles from ten animal species based on sensitivity of the myofibrillar actomyosin ATPase to acid or copper. *Histochemistry* 82: 175-183.
- MCCONATHY, D.; GIDDINGS, C. J.; GONYEA, W. J. 1983: Structure-function relationships of the flexor carpi radialis muscle compared among four species of mammals. *J. Morphol.* 175: 279-292.
- MIGNOT, J.; BARRES, D.; DURIGON, M. 1981: Méthodes histomorphométriques. I. Méthodes semi-automatiques: applications des tables à digitiser. *Acta Pathol.* 2: 152-155.
- MOELLMANN, H.; DANNERS, E.; BIGALKE, C.; KINDLER, J. 1974: Klinische untersuchungen zur verweildauer intraartikulär appliziertes korticoidkristall-suspensionen. *Terapiewoche* 24: 1-23.
- MORENO, F.; GIL, F.; VÁZQUEZ, J. M. 1985: Estudio citoquímico ponderal de las distrofias consecuentes a la resección de los músculos semitendinoso y semimembranoso del perro. *An. Vet. (Murcia)*: 1: 141-149.
- NELSON, A. M.; CONN, D. L. 1980: Series of pharmacology in practice glucorticoids in rheumatic disease. *Mayo Clin. Proc.* 55: 758-766.
- OJEDA, V. J. 1982: Necrotizing myopathy associated with steroid therapy. Report of two cases. *Pathology* 14: 435-438.
- RODRÍGUEZ-BARBUDO, M. V.; MORENO, F.; CARPIO, M.; FUENTES, S.; AGÜERA, E. 1984: Estudio histoquímico y morfométrico del músculo tibial craneal en perros de diferentes aptitudes (galgo, fox terrier, pastor alemán). *Zbl. Veterinarmed. Anat. Histol. Embryol.* 3: 2-17.
- SAARTOK, T. 1984: Steroids receptors in two types of rabbits skeletal muscle. *Int. J. Sports Med.* 5: 130-136.
- SHOJI, S.; PENNINGTON, R. J. T. 1977: Binding of dexametasone and cortisol to cytosol receptors in rat extensor digitorum longus and soleus muscles. *Exp. Neurol.* 57: 342-348.
- SHOREY, C. D.; CLELAND, K. W. 1983: Problems associated with the morphometric measurement of transverse skeletal muscle fibers. I. Analysis of frozen sections. *Anat. Rec.* 207: 523-531.
- SIEGERT, E.; HANTZCHEL, H. J.; DIETEL, K.; VOIGT, W. 1981: Beitrag zur kortikoid-myopathie im kindersalter. *Acta Paediatr. Hung.* 22: 211-215.
- SLAVING, G.; FINBARR, M.; WARD, P.; LEVI, J.; PETERS, T. 1983: Chronic alcohol excess is associated with selective but reversible injury to type 2B muscle fibres. *J. Clin. Pathol.* 36: 772-777.
- SOHAR, I.; NAGY, I.; HEINER, L. 1982: Proteases and proteinase inhibitors in experimental glucocorticoids myopathy. *Acta Physiol. Hung.* 60: 43-51.
- SONG, S. K.; SHIMADA, N.; ANDERSON, P. J. 1963: Orthogonal diameters in the analysis of muscle fibre size and form. *Nature* 200: 1.220-1.221.
- SWASH, M.; SCHWART, M. 1983: Iatrogenic neuromuscular disorders: a review. *J. R. Soc. Med.* 76: 149-151.