

PATOLOGÍA ULTRAESTRUCTURAL DEL MÚSCULO *gluteus medius* DE CABALLOS CRIOLLOS EN LOS LLANOS VENEZOLANOS INFECTADOS NATURALMENTE POR EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA.

Structural Pathology of *gluteus medius* from Creole Horses of Venezuelan Plains Naturally Infected by Equine Infectious Anemia Virus.

Luz Marina Acevedo¹, Héctor José Finol² y Luis Sucre^{1†}

¹Dpto. de Ciencias Biomédicas, FCV-UCV, Apartado 4563, Maracay, Edo. Aragua. ²Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, UCV, Apartado 47114, Caracas. E-mail: acevedo.luz@ucv.ve; hector.finol@ciens.ucv.ve

RESUMEN

La Anemia Infecciosa Equina (AIE) es una enfermedad viral, de curso agudo a crónico, que afecta a los équidos en general en los llanos venezolanos. Hasta el momento, no se han analizado los posibles efectos que pueda tener la AIE sobre el músculo esquelético. En la presente investigación se realizó un estudio ultraestructural de las fibras musculares del músculo *Gluteus medius*, de caballos seropositivos al test de Coggins, teniendo animales seronegativos al citado test como controles de campo. Las biopsias musculares se procesaron por las técnicas convencionales de corte fino para la microscopía electrónica de transmisión. El análisis de las micrografías electrónicas de animales seropositivos mostró cambios subletales y letales. Como alteraciones subletales, se observaron en el sistema contráctil, atrofia y trazo irregular de la línea Z. En el sistema sarcotubular se evidenció edema de las cisternas terminales. Las mitocondrias exhibieron una matriz con diferentes densidades electrónicas y la presencia de gránulos electrón densos. Se observaron variadas estructuras lisosomales. Por su parte, las alteraciones letales se distinguieron por diferentes grados de hipercontracción, pérdida total de la organización de los sistemas contráctil y sarcotubular, degeneración de las mitocondrias, ruptura del sarcolema y necrosis segmental. Los capilares intramusculares exhibieron alteraciones como el engrosamiento y reduplicación de la membrana basal, prolongaciones del citoplasma endotelial hacia la luz y pérdida de la continuidad de la pared endotelial. Se evidenciaron también pericitos, unos aparentemente normales, otros con altera-

ciones. El infiltrado celular consistió en macrófagos y neutrófilos. Los presentes hallazgos permiten sugerir que los mismos se corresponden con lo reportado por otros autores en relación a los efectos de las enfermedades autoinmunes sobre la ultraestructura del músculo esquelético.

Palabras clave: Anemia infecciosa equina, músculo esquelético, ultraestructura.

ABSTRACT

The equine infectious anemia (EIA) is a viral disease of acute response and progress to chronic course which affects equine of Venezuelan plains. Until now, there is no information about the possible effect of EIA on skeletal muscle ultrastructure. The aim of the present investigation was to study the ultrastructure of muscle *Gluteus medius* from horses positive to Coggins test and animal control negative to the test. Muscle biopsies were processed by routine techniques for transmission electron microscopy. Muscle alterations varied from slight to severe, including atrophy, swelling of sarcotubular system and mitochondria. Mitochondria showed a matrix with different electron densities and the presence of electron dense granules. There were observed different kinds of lysosomes. More severe alterations included hypercontraction and complete loss of myofilaments, rupture of sarcolemma and segmental necrosis. Intramuscular capillaries exhibited endothelial cell cytoplasm infoldings into the lumen and partially or totally occluded lumen. Basement membrane was widened and reduplicated. Some capillaries showed widened endothelial cell cytoplasm, mitochondria and rough endoplasmic reticulum swelling and even degenerated. Others showed ruptured endothelial wall. Pericytes exhibited a

cytoplasm which varied from normal to a proliferative one. The mononuclear cell infiltrate consisted of macrophages and neutrophils. Most of observed alterations have been described in muscle disorders with an autoimmune component.

Key words: Equine infectious anemia, skeletal muscle, ultrastructure.

INTRODUCCIÓN

Es importante reseñar que el caballo (*Equus caballus*) criollo venezolano se considera un descendiente de los caballos españoles que fueron traídos a Venezuela durante la Conquista y la Colonia [7], que con el tiempo y por selección natural dieron como producto el caballo criollo venezolano [44], que se adaptó a un hábitat con condiciones ambientales extremas (períodos de lluvia y sequía) [3]. El caballo criollo es un elemento importante en la producción de carne bovina, por el sistema de explotación extensivo se requiere de su participación de manera indispensable. En las zonas altas nuestro caballo es utilizado para labores agrícolas, de carga, transporte y esparcimiento [8]. Tales animales están expuestos a innumerables enfermedades, pudiendo mencionarse la tripanosomosis y la anemia infecciosa equina, como enfermedades que afectan la población caballar de los llanos venezolanos, así como la productividad en sus actividades agropecuarias [29, 33, 42].

La anemia infecciosa equina (A.I.E.) es una enfermedad multisistémica, causada por un virus clasificado en la familia Retroviridae y la subfamilia Lentiviridae que afecta exclusivamente a la familia equina [34]. Se encuentra ampliamente distribuida a escala mundial, siendo transmitida mecánicamente por vectores como el tábano, así como a través de material fecal contaminado, por vía transplacentaria y de forma iatrogénica por el humano usando equipos o utensilios contaminados [9, 10].

Entre los signos clínicos manifestados inicialmente están la depresión, la debilidad y el deterioro del estado general, fiebre intensa e intermitente, incoordinación, hemorragias petequiales en mucosas, mayormente las sublinguales y la conjuntiva, ictericia y edema de la porción ventral del abdomen y extremidades [5], presentándose casos de ataxia [31].

Además de lo referido, el animal va padeciendo una anemia progresiva, hasta ocasionar la muerte en unos casos o hasta convertirse en una infección inaparente [10].

Dentro de este contexto de ideas y en vista que en las características clínicas observadas, el músculo esquelético sufre un notable deterioro, se hace necesario el estudio de sus cuadros histopatológicos, por efecto del virus de la A.I.E. Particularmente, es indispensable realizar ese estudio a un nivel ultraestructural, en vista del escaso conocimiento que sobre las alteraciones provocadas por esta enfermedad en el músculo esquelético existe.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la presente investigación se utilizaron 12 equinos criollos de los llanos venezolanos, 2 machos y 10 hembras con edades que oscilaron entre 1 y 6 años, los cuales se encontraban con el plan sanitario respectivo del hato El Frío. El grupo a estudiar se distribuyó en 4 animales seronegativos y 8 seropositivos a la infección viral con la A.I.E. Los mismos presentaron un estado físico general en apariencia sana. En el despistaje de hemoparásitos a través de frotis de capa blanca los resultados se mostraron negativos, así mismo para el despistaje de anticuerpos de *Trypanosoma evansi* por el método de inmunofluorescencia indirecta. Los análisis coprológicos fueron negativos en algunos casos y otros presentaron huevos de estronilos mostrando una infección ligera a moderada.

Para el momento de la toma de muestra a campo se encontraron los animales en sus actividades rutinarias de trabajo.

A estos animales se les tomó la muestra del músculo *Gluteus medius* a través de la biopsia muscular por punción percutánea, por la técnica de Lindholm y Phiehl [35], la cual consiste en la identificación del área para la toma de la muestra, 10 cm caudo-dorsal de la tuberosidad coxal en un ángulo de 45°, luego de realizada la asepsia de la zona se procedió a una infiltración con un anestésico local, tratando de afectar sólo a piel y fascia superficial externa del músculo, luego se realizó una incisión de 1cm de longitud en piel y fascia glútea superficial para luego introducir la aguja de biopsia muscular percutánea de Bergström [4], posteriormente de la toma de la muestra se colocó un compuesto cicatrizante con antibiótico en la herida.

Las biopsias musculares se procesaron por las técnicas convencionales de corte fino para la microscopía electrónica de transmisión el cual consiste en la fijación de las muestras en glutaraldehído al 3% en buffer fosfato de Millonig (pH= 7,5 y 320 mOsm) durante una hora a una temperatura de 4°C, lavado de las muestras con buffer fosfato de Millonig, posteriormente se realizó una segunda fijación en tetraóxido de osmio al 1% en el mismo buffer y bajo las mismas condiciones de pH, osmolaridad, tiempo y temperatura, pasado el tiempo se procedió al lavado de las muestras con agua destilada. Luego las muestras se deshidrataron en concentraciones crecientes de alcohol (Etanol al 50; 70; 90 y 100%), seguidamente se realizó la infiltración y embebimiento con óxido de propileno, posteriormente las muestras se colocaron en una mezcla de óxido de propileno- resina epóxica (1:1), dejándolas de un día para otro a temperatura ambiental, luego se incluyeron en epón.

Las secciones ultrafinas se obtuvieron en un ultramicrotomo (Porter-Blum, MT2-B, E.U.A) que luego fueron contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo. La observación se realizó en un microscopio electrónico de transmisión (Philips, CM 10, Holanda) con un voltaje de aceleración de 80 kV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis ultraestructural del músculo glúteo medio de los caballos criollos venezolanos seronegativos de A.I.E., permitió diferenciar a las fibras musculares esqueléticas y capilares mostrando una citoarquitectura de apariencia normal (FIGS. 1 y 2). A diferencia de lo observado ante los efectos de un agente injuriente, donde la respuesta del músculo esquelético de los caballos criollos a la infección con el virus de la A.I.E., se corresponde con las respuestas básicas de un tejido tan especializado como es el músculo esquelético. Las observaciones realizadas permitieron apreciar alteraciones que han sido descritas también en varios desórdenes musculares. En este sentido, se observó la coexistencia de atrofia y necrosis.

Las alteraciones de las fibras musculares estriadas esqueléticas observadas en el proceso atrófico se caracterizaron por la desorganización y la pérdida del material contráctil (FIGS. 3, 4 y 5, 7). Así mismo y posiblemente debido a la pérdida de las miofibrillas, el sarcolema presentó diferentes grados de plegamientos (FIGS. 3, 5 y 7).

En el caso de la atrofia muscular, ésta puede considerarse la respuesta común a varias injurias como es el caso de enfermedades autoinmunes [24,25], neurotomías [16,17], tenotomía [20] e infecciones parasitarias [6,43], en equinos con rabdomiólisis por el ejercicio en fases subclínica y clínica [47] lo cual fue igualmente descrito en caballos sometidos a un es-

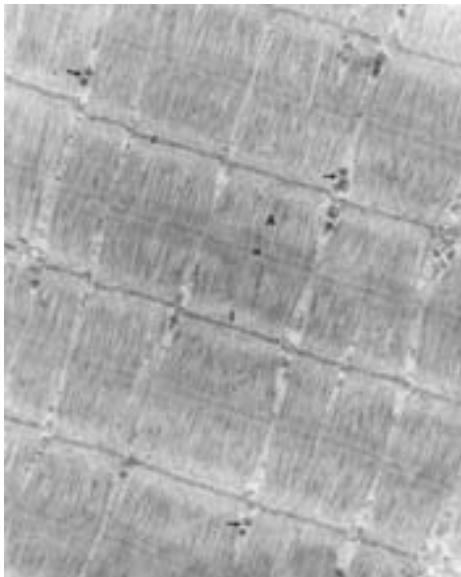


FIGURA 1. SECCIÓN LONGITUDINAL DE UNA FIBRA MUSCULAR TIPO II B DE ASPECTO NORMAL. SE OBSERVA UNA LÍNEA Z (Z) DELGADA Y UNA LÍNEA M (M). PARTICULAS DE GLUCÓGENO (G) EN EL ESPACIO INTERMIOFIBRILAR, ASÍ COMO LA PRESENCIA DE TRÍADAS (FLECHAS) A NIVEL DE LA UNIÓN DE LA BANDA A (A) CON LA BANDA I (I). (X 46.500)/ MUSCLE FIBER SECTION OF NORMAL SKELETAL MUSCLE. NOTE THE Z THIN LINE (Z) AND M LINE (M). GLUCOGEN PARTICLES (G) IN INTERMYOFIBRILLAR SPACE AND TRIAD (ARROW) AT LEVEL A BAND (A) AND I BAND. (X 46.500).

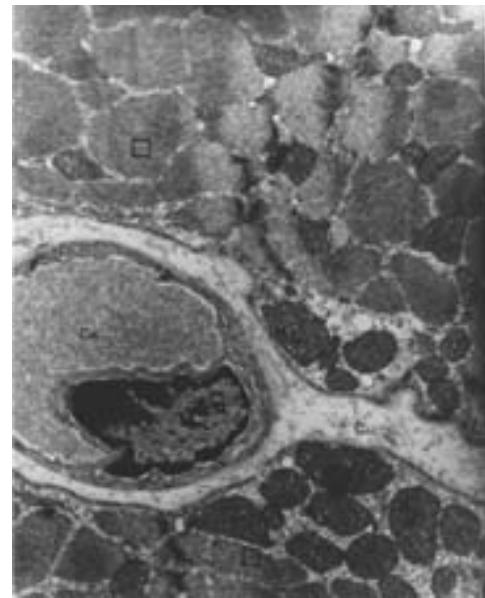


FIGURA 2. MICROGRAFÍA MOSTRANDO UN CAPILAR INTRAMUSCULAR (CA) DE ASPECTO NORMAL Y SECCIONES OBLICUAS DE FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS (CUADRO). NÓTESE LA PRESENCIA DE GRAN CANTIDAD DE MITOCONDRIAS (MIT) ASÍ COMO DE UNA GOTA LIPÍDICA (L). CON CL SE IDENTIFICA EL COLÁGENO EN EL ESPACIO EXTRACELULAR. (X 20.000)/ THE MICROGRAPH SHOWS A NORMAL CAPILLARY (CA) AND OBLIQUE MUSCLE FIBRE SECTION OF SKELETAL MUSCLE (SQUARE). NOTE THE MITOCHONDRIAS (MIT), A LIPID DROP (L). COLLAGEN FIBRILS IN THE EXTRACELLULAR SPACE (CL). (X 20.000).

fuerzo físico después de un período de inactividad [46], en forma iatrogénica ocasionada por una terapia prolongada con corticoides [45] y en alteraciones musculares en cáncer [21]. En los casos mencionados, la atrofia se caracteriza por la desorganización del sistema contráctil y la pérdida de miofilamentos, así como por cambios en el sistema sarcotubular, en las mitocondrias y en la presencia de estructuras lisosomales.

Las mitocondrias se mostraron abundantes a nivel subsarcolémico e intermiofibrilar, muchas de aspecto electrón denso y pleomórficas o edematizadas y con crestas tubulares, otras con aspecto degenerado (FIGS. 3, 4, 5, 7 y 10).

En relación a las alteraciones mitocondriales observadas en la presente investigación, fueron referidas en compromisos musculares de diversas patologías como enfermedades de tejido conectivo [39], artritis reumatoidea [15, 26], esclerosis lateral amiotrófica [13], en alteraciones musculares ocasionadas iatrogénicamente por administración de una corticoterapia prolongada [45], en miopatías mitocondriales y deficiencias en tiamina [46], en casos de isquemia en el músculo esquelético [14, 30], en cáncer [23] y en casos de deficiencias nutricionales [19].

Las estructuras lisosomales fueron abundantes y diversas, incluyendo vacuolas autofágicas (FIG. 3), gránulos de lipofucsina (FIG. 4), figuras mielínicas (FIG. 6), acompañados por la vacuolización del sistema sarcotubular (FIG. 4). Tales

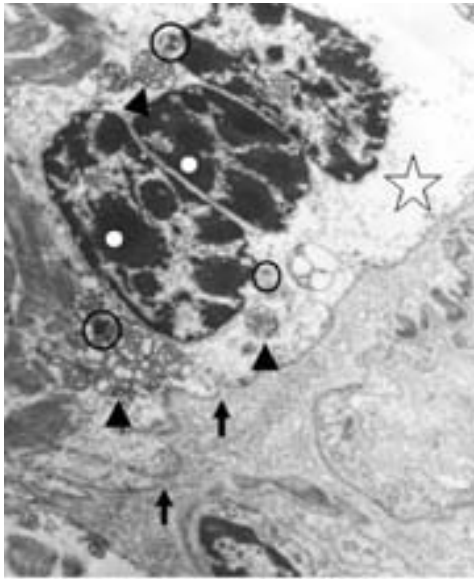


FIGURA 3. SECCIÓN DE FIBRA MUSCULAR CON AMPLIAS ÁREAS SIN ELEMENTOS CONTRÁCTILES (ESTRELLA), ASÍ COMO MITOCONDRIAS EDEMATIZADAS Y CRESTAS DE ASPECTO TUBULAR (CABEZAS DE FLECHA). LOS MIONÚCLEOS SE ENCUENTRAN LOCALIZADOS HACIA EL INTERIOR DE LA FIBRA Y DISPUESTOS EN CADENA, SIENDO LOS MISMOS DE ASPECTO HIPERCROMÁTICO (CÍRCULO BLANCO). OBSERVESE LA PRESENCIA DE LISOSOMAS, DESTACÁNDOSE ALGUNAS VACUOLAS AUTOFÁGICAS (CÍRCULO HUECO). NÓTESE PLEGAMIENTO DEL SARCOLEMA (FLECHAS). (X 15.600)/ MUSCLE FIBER SECTION SHOWING WIDE AREAS (STAR) WITHOUT CONTRACTILE ELEMENTS AND MITOCHONDRIA WITH TUBULAR CRISTAE (ARROWHEAD). MYONUCLEI ARE LOCATED TOWARD THE INTERIOR OF FIBER AND ARRANGED IN CHAIN. ITS ASPECT IS HYPERCHROMATIC (WHITE CIRCLES). OBSERVE PRESENCE OF LYSOSOMES AND AUTOPHAGIC VACUOLES (OPEN CIRCLES). NOTE SARCOLEMMA FOLDINGS (ARROWS).

estructuras han sido observadas en tenotomía [20], en desneración [16, 17] y en el caso de desórdenes con un componente autoinmune como en artritis reumatoidea [15, 26] y anemia hemolítica autoinmune [22].

Los cambios en el sistema contráctil como ruptura y desarreglo de la estructura sarcomérica, con línea Z zigzagueante prominentemente, también se han descrito en casos de malnutrición con dietas bajas en proteínas [40, 41].

Otros resultados muestran los mionúcleos a nivel del espacio subsarcolémico (FIG. 9), aún cuando en varios casos se observó su internalización y disposición en cadena (FIG. 3), siendo la internalización de los núcleos un producto de la pérdida de miofibrillas. Su disposición en cadena es descrita en condiciones como la miopatía miotubular [2] y en la miopatía hipertiroidea [36].

La presencia de células satélites fue apreciada aún cuando no se localizaron elementos contráctiles en ellas que sugirieran regeneración muscular, lo cual conllevaría a fibrosis. En apoyo a

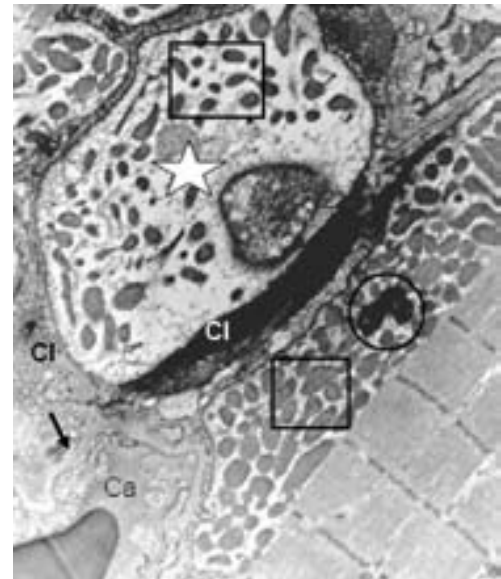


FIGURA 4. MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA QUE EXHIBE FIBRAS CON DIVERSOS GRADOS DE ATROFIA, ENCONTRÁNDOSE UNA FIBRA CON NÚCLEO Y AUSENCIA DEL MATERIAL CONTRÁCTIL (ESTRELLA). TANTO EN ESA FIBRA COMO EN LA LOCALIZADA MUY PRÓXIMA, SE APRECIA GRAN CANTIDAD DE MITOCONDRIAS ELECTRÓN DENSAS (CUADRADO), OBSERVÁNDOSE UN GRÁNULO DE LIPOFUSCINA (CÍRCULO) EN EL ESPACIO SUBSARCOLÉMICO DE UNA DE LAS FIBRAS. NÓTESE LA GRAN CANTIDAD DE COLÁGENO (CL) EXTRACELULARMENTE. EL CAPILAR (CA) MUESTRA UNA MEMBRANA BASAL (FLECHA) ENGROSADA. (X 20.000)/ THIS ELECTRON MICROGRAPH EXHIBITS FIBERS WITH DIFFERENT DEGREE OF ATROPHY, ONE SHOWING ONLY A NUCLEUS AND COMPLETE LOSS OF CONTRACTILE ELEMENTS (STAR). FIBERS PRESENT NUMEROUS MITOCHONDRIA (SQUARE) AND A LIPOFUSCIN GRANULE (CIRCLE) IN THE SUBSARCOLEMMA SPACE. NOTE THE ABUNDANCE OF COLLAGEN FIBRILS IN THE EXTRACELLULAR SPACE (Cl). THE CAPILLARY (Ca) SHOWS A WIDENED BASEMENT MEMBRANE (ARROW). (20.000X).

lo anterior es de destacar que las fibras de colágeno fueron muy abundantes en las secciones observadas (FIG. 4).

Entre las alteraciones de la microvasculatura cabe mencionar la presencia de prolongaciones citoplasmáticas hacia el lumen capilar, ocasionando desde una oclusión parcial hasta su totalidad (FIG. 8). Adicionalmente, se pudo apreciar la ruptura de la pared endotelial y áreas en el citoplasma endotelial con la presencia de mitocondrias edematizadas y abundantes vacuolas (FIG. 9). En la Figura referida también pueden notarse numerosos filamentos de colágeno alrededor y entre las áreas de membrana basal. Así mismo, se observaron en la presente investigación capilares con restos de fibrina a nivel luminal (FIG. 7), así como fuera de ellos, resultados enmarcados dentro de la patogénesis de la enfermedad, en la cual el virus de la anemia infecciosa equina produce hemólisis intravascular y extravascular [9].

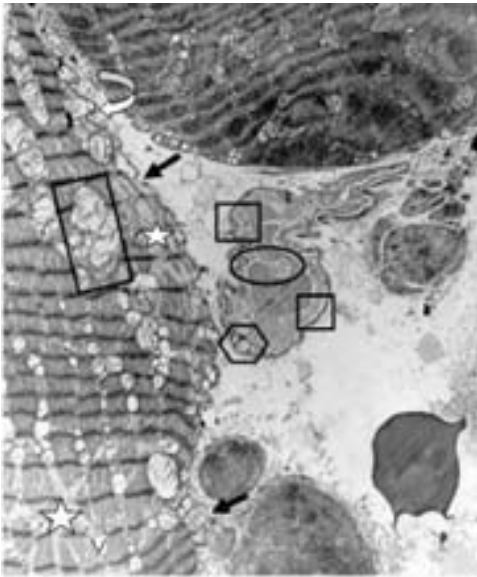


FIGURA 5. MICROGRAFÍA CON FIBRAS MUSCULARES EN HIPERCONTRACCIÓN, CON PÉRDIDA DE MATERIAL CONTRÁCTIL (ESTRELLA) Y LA PRESENCIA DE MITOCONDRIAS (RECTÁNGULO) CON ASPECTO DEGENERADO, NÓTESE LAS ESTRUCTURAS VACUOLARES (V) DE DIVERSOS TAMAÑOS PROVENIENTES DEL SISTEMA SARCOTUBULAR. SARCOLEMA CON PLEGAMIENTO (FLECHA CURVA) Y ZONAS CON RUPTURAS (FLECHAS RECTAS). UN CAPILAR ALTERADO (CA) CON UNA PARED ENDOTELIAL CON DIFERENTES GRADOS DE GROSOR (CUADRADO), MITOCONDRIAS EDEMATIZADAS (HEXÁGONO), ASÍ COMO PROLONGACIONES HACIA LA LUZ (ÓVALO). CERCA DE ÉSTE UNA FIBRA MUSCULAR CON UN MATERIAL CON ASPECTO DE UNA MASA CONTRÁCTIL (ASTERISCO). (X9.000) / THIS ELECTRON MICROGRAPH SHOWS A HYPERCONTRACTED MUSCLE FIBER WITH LOSS OF CONTRACTILE MATERIAL (STAR) AND THE PRESENCE OF DEGENERATED MITOCHONDRIA (RECTANGLE). NOTE VACUOLES (V) ORIGINATED FROM THE SARCOTUBULAR SYSTEM. FOLDED (BENDED ARROW) AND INTERRUPTED (STRAIGHT-ARROW) SARCOLEMMA ARE SEEN. AN ALTERED CAPILLARY (CA) IS SHOWN WITH ENDOTHELIAL WALL OF DIFFERENT WIDTHS (SQUARES), SWOLLEN MITOCHONDRIA (HEXAGON) AND INFOLDINGS INTO THE LUMEN (OVAL). NEXT TO IT A MUSCLE FIBER EXHIBITS CONTRACTILE MASSES (ASTERISK). (X9.000).

En algunos capilares se evidenció un engrosamiento de la membrana basal (FIGS. 4 y 8), alteración observada a nivel ultraestructural en pacientes con artritis reumatoidea [15, 26], lupus eritematoso sistémico [25], esclerosis sistémica progresiva [24], siendo estas diferentes patologías englobadas como enfermedades del tejido conectivo de tipo autoinmune, en las cuales se ha demostrado que este engrosamiento se debe a la deposición de inmunocomplejos [39]. Así mismo, estas alteraciones se han reportado en enfermedades autoinmunes tiroideas [38], en fenómenos paraneoplásicos [28], así como en casos de Síndrome de Cushing [1].

No sólo se apreció el engrosamiento de la membrana basal, sino también su reduplicación (FIG. 9), siendo ello descrito

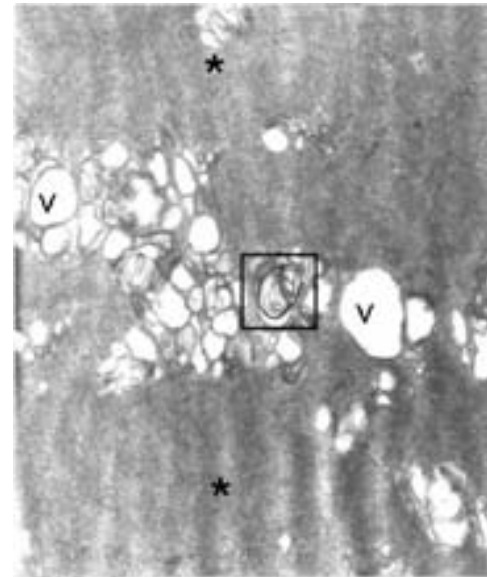


FIGURA 6. EN ESTA MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA SE APRECIA LA HIPERCONTRACCIÓN, LA CUAL CONSTITUYE UNA ETAPA DE NECROSIS SEGMENTAL DE UNA FIBRA MUSCULAR. NÓTESE LA PRESENCIA DE VACUOLAS DE DIFERENTES TAMAÑOS (V) QUE CONSTITUYEN REMANENTES DEL SISTEMA SARCOTUBULAR Y FIGURAS MIELÍNICAS (CUADRADO). EL SISTEMA CONTRÁCTIL FORMA MASAS DE MIOFILAMENTOS (ASTERISCO). (X 46.500) / IN THIS ELECTRON MICROGRAPH IT IS APPRECIATED THE HYPERCONTRACTED STAGE OF SEGMENTAL NECROSIS. NOTE THE PRESENCE OF VACUOLES OF DIFFERENT SIZES (V) AND MYELIN-LIKE FIGURES (SQUARE). CONTRACTILE SYSTEM CONSISTS OF FILAMENTOUS MASSES (ASTERISK). (X46.500).

en pacientes con hipertiroidismo [27], en un caso de amiotrofia diabética [37], en el lupus eritematoso sistémico [25], en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana [12] y en enfermedades de tejido conectivo [48].

También se observó la presencia de pericitos (FIGS. 7, 8 y 9), algunos de ellos alterados con cisternas de retículo endoplasmático y mitocondrias edematizadas (FIGS. 7 y 9).

En lo que respecta a la necrosis segmental, se observaron etapas desde la hipercontracción hasta la pérdida completa de los componentes estructurales constituyéndose en masas homogéneas con material contráctil (FIG. 5 y 6), además de notarse áreas con pérdida del sarcolema (FIG. 5). Próximo a las áreas necróticas, se observaron capilares en proceso de degeneración (FIG. 5).

Los resultados obtenidos, referidos como degeneración de la fibra muscular con dilatación del sistema sarcotubular y necrosis de la fibra muscular coinciden con los hallazgos encontrados en el caso de miopatías inmunomediadas como la polimiositis [39], así como en otras etiologías como la inducida experimentalmente por una toxicosis por monensina en el músculo cardíaco y esquelético en ovejas *Ovis aries* [11], en miopatía degenerativa nutricional en el músculo cardíaco en rumiantes [32], así como en casos de cáncer [23].

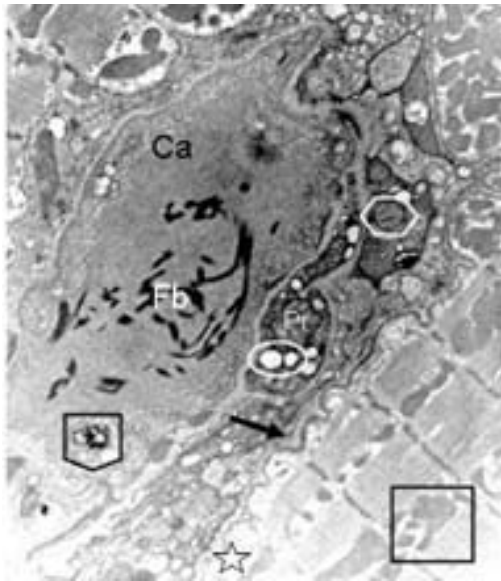


FIGURA 7. SE EXHIBE UN CAPILAR (CA) CON RESTOS DE FIBRINA (FB) EN SU INTERIOR, CON UN GRÁNULO DE LIPOFUCSINA (PENTÁGONO) EN EL CITOPLASMA ENDOTELIAL. NÓTESE UN PERICITO (PR) CON VACUOLAS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO RUGOSO (ÓVALO) Y MITOCONDRIAS EDEMATIZADAS (HEXÁGONO). LAS FIBRAS MUSCULARES EXHIBEN ÁREAS CON PÉRDIDA DE MIOFILAMENTOS (ESTRELLA) Y EL SARCOLEMA PRESENTA DIFERENTES GRADOS DE PLEGAMIENTO (FLECHA). POR SU PARTE, LAS MITOCONDRIAS (CUADRADO) PRESENTAN ASPECTOS PLEOMÓRFICO Y ELECTRÓN DENSO TANTO EN EL ESPACIO SUBSARCOLÉMICO COMO EN EL INTERMIOFIBRILAR. (X 20.000)
 THE MICROGRAPH SHOWS A CAPILLARY (CA) WITH FIBRIN DEBRIS (FB) IN THE LUMEN AND A LIPOFUSCIN GRANULE IN THE ENDOTHELIAL CELL CYTOPLASM (PENTAGON). NOTE A PERICYTE (PR) WITH ROUGH ENDOPLASMIC RETICULUM VACUOLES (HEXAGON) AND SWOLLEN MITOCHONDRIA (OVAL). MUSCLE FIBERS PRESENT AREAS WITH LOSS OF CONTRACTILE ELEMENTS (STAR) AND FOLDED SARCOLEMA (ARROW). MITOCHONDRIA ARE ELECTRON DENSE AND SHOW PLEOMORPHIC ASPECT IN BOTH INTERMYOFIBRILLAR AND SUBSARCOLEMMAL SPACES (SQUARE). (X20.000).

En las alteraciones musculares ocasionadas por diferentes etiologías se presenta un infiltrado de células de defensa como respuesta del organismo ante el agente injuriente, en el caso de la presente investigación el infiltrado celular consistió de macrófagos (FIG. 10) y de neutrófilos, como ha sido señalado para otros casos como en la anemia hemolítica autoinmune [22], en pacientes infectados con HIV [12], en fenómenos paraneoplásicos [28] y en infecciones parasitarias [18, 42]. Sin embargo, en otros desórdenes el infiltrado ha estado constituido por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas [37].

Los cuadros de necrosis segmentaria observados en este trabajo son comunes a enfermedades autoinmunes que se acompañan de una miositis con daños a los capilares y la presencia de un infiltrado celular mononuclear.

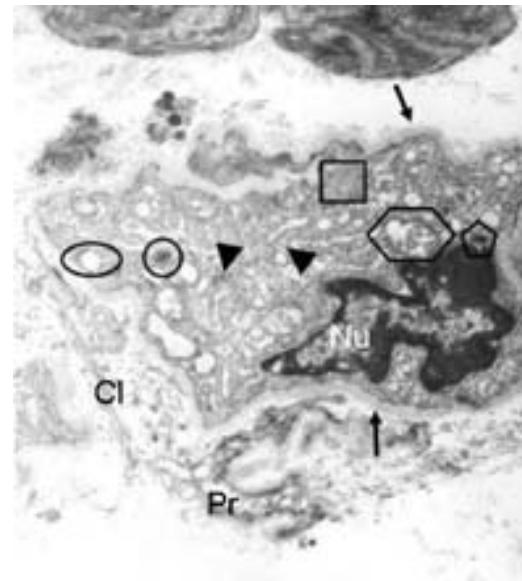


FIGURA 8. CAPILAR CON UNA LUZ OCLUÍDA, SIENDO OCUPADA LA MISMA CON PROLONGACIONES DEL CITOPLASMA ENDOTELIAL (CABEZAS DE FLECHA). SE APRECIAN MITOCONDRIAS (HEXÁGONO) Y PERFILES DE RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO RUGOSO EDEMATIZADOS (ÓVALO). SE NOTA UN LISOSOMA (CÍRCULO HUECO) Y UN GRÁNULO DE LIPOFUCSINA (PENTÁGONO), ASÍ COMO ABUNDANTES VESÍCULAS PINOCÍTICAS (CUADRADO). SE APRECIA UN NÚCLEO (NU) CON CONTORNOS IRREGULARES Y UNA MEMBRANA BASAL ENGROSADA (FLECHAS RECTAS), ASÍ COMO UN PERICITO DEGENERADO (PR) Y NUMEROSOS FILAMENTOS DE COLÁGENO (CL). (X 26.700)
 CAPILLARY WITH THE LUMEN ALMOST OCCLUDED AND FILLED WITH ENDOTHELIAL CELL CYTOPLASM INFOLDINGS (ARROWHEADS). NOTE SWOLLEN MITOCHONDRIA (HEXAGON) AND ROUGH ENDOPLASMIC RETICULUM ELEMENTS (OVAL). OBSERVE A LISOSOME (OPEN CIRCLE) AND LIPOFUSCIN GRANULE (PENTAGON). THE NUCLEUS (NU) IS INDENTED AND THE BASEMENT MEMBRANE IS WIDENED (STRAIGHT ARROW). THE PERICYTE (PR) LOOKS DEGENERATED AND IS COVER BY NUMEROUS COLLAGEN FIBRILS (CL) (X26.700).

Los desórdenes que afectan inicialmente a la inervación como la neurotomía y a los tendones como la tenotomía no se acompañan con necrosis segmentaria o daños a los capilares. Los resultados obtenidos son compatibles con un proceso que se acompaña con autoinmunidad como ha sido señalado para las miopatías inflamatorias.

CONCLUSIÓN

Las alteraciones observadas en el músculo esquelético de caballos criollos de los llanos Venezolanos infectados por el virus de la A.I.E. son similares a las descritas en desórdenes de origen autoinmune, así como en los que se presentan asociados con un compromiso de ese tipo. La existencia de ese componente autoinmune podría ser demostrada por métodos inmunocitoquímicos, clasificando las células mononucleares en el infiltrado y localizando los depósitos de complejos inmunes.

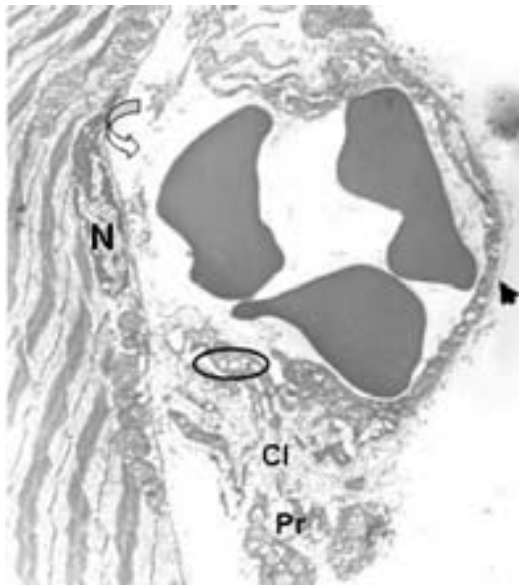


FIGURA 9. SE MUESTRA UN CAPILAR CON PÉRDIDA DE PARTE DE LA PARED ENDOTELIAL (FLECHA CURVA), LO QUE CONLLEVA A LA EXTRAVASACIÓN DE LOS ERI-
TROCI- TOS. EL CITOPLASMA ENDOTELIAL EXHIBE CIS-
TERNAS EDEMATIZADAS (ÓVALO). SE PRESENTA UN
PERICITO (PR) DEGENERADO, ADEMÁS DE UNA MEM-
BRANA BASAL REDUPLICADA (CABEZA DE FLECHA) Y
ABUNDANTES FIBRAS DE COLÁGENO (CL). NÓTESE LA
LOCALIZACIÓN SUBSARCOLÉMICA DEL MIONÚCLEO
(N). (X15.600)/ IN THIS ELECTRON MICROGRAPH SEE A CA-
PIL- LARY WITH LOSS OF WALL SECTION (BENDED ARROW), WHICH
PROVOKES ERYTHROCYTE EXTRAVASATION. ENDOTHELIAL CYTO-
PLASM PRESENTS A VACUOLATED ASPECT (OVAL). THE PERICYTE
(PR) LOOKS DEGENERATED, BASEMENT MEMBRANE REDUPLICATED
(ARROWHEAD) AND COLLAGEN FIBRILS (CL) ARE ABUNDANT.
NOTE THE PRESENCE OF A MYONUCLEUS (NU) LOCATED IN THE
SUBSARCOLEMMAL SPACE. (X15.600).

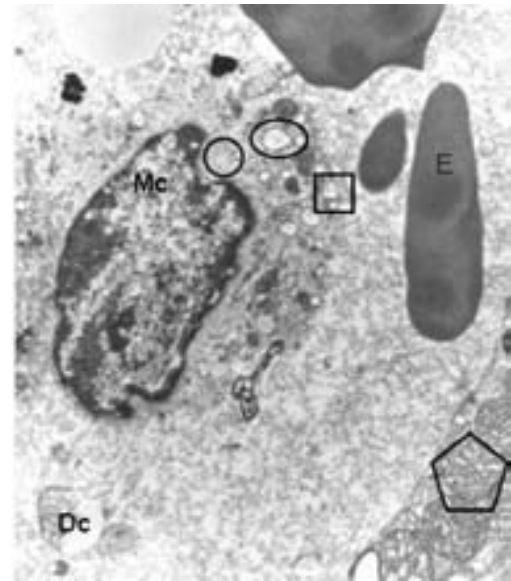


FIGURA 10. EN LA MICROGRAFÍA SE OBSERVA UN MA-
CRÓFAGO (MC) DEGENERADO CON UN CITOPLASMA
CON GRAN CANTIDAD DE RETÍCULO LISO (CÍRCULO),
ALGUNAS VACUOLAS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO
RUGOSO EDEMATIZADAS (ÓVALO), ASÍ COMO RESTOS
MITOCONDRIALES (CUADRADO). ALREDEDOR DEL MA-
CRÓFAGO SE NOTAN GLÓBULOS ROJOS (E) Y DESE-
CHOS CELULARES (DC) EN EL ESPACIO EXTRACELU-
LAR. NÓTESE HACIA UN EXTREMO UN SEGMENTO DE
UNA FIBRA MUSCULAR CON MUCHAS MITOCONDRIAS
CON CRESTAS TUBULARES (PENTÁGONO). (X20.000)/ IN
THIS MICROGRAPH OBSERVE A DEGENERATED MACROPHAGE
(MC) WITH THE CYTOPLASM SHOWING AN ABUNDANT SMOOTH EN-
DOPLASMIC RETICULUM (CIRCLE), SCARCE ROUGH ENDOPLASMIC
RETICULUM (OVAL) AND MITOCHONDRIAL DEBRIS (SQUARE). NEXT
TO THE MACROPHAGE SEE ERYTHROCYTES (E) AND CELLULAR
DEBRIS (DC). NOTE A SECTION OF MUSCLE FIBER WITH MANY MI-
TOCHONDRIA SHOWING TUBULAR CRISTAE. (X20.000).

AGRADECIMIENTO

Proyecto financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (C.D.C.H.) a través de Complementos de Investigación N° 11.106/01, N° 11.160/02 y por el Programa Integrado de Postgrados en Salud Animal (PIPSA).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AFIFI, A.K.; BERGMAN, A.; HARVEY, J. C. Steroid myopathy. *Johns Hopkins Med. J.* 123:158-174. 1968.
- [2] AMBLER, M. W.; NEAVE, C.; SINGER, D. B. X-linked recessive myotubular myopathy: Muscle morphology and human myogenesis. *Human. Pathol.* 15: 1107-1120. 1984.
- [3] AYARZAGÜENA, J. La estación biológica El Frío, un reservorio de fauna llanera. *Natura.* 79:13-16. 1986.

- [4] BERGSTRÖM, J. Muscle electrolytes in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 68:1-110. 1962.
- [5] BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M.; ARUNDEL, J.H.; GAY, C.C. *Medicina Veterinaria*. Vol. II. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México, Pp. 379-381,864-868. 1992.
- [6] BRUZUAL, E.; FINOL, H.; ARCAY, L. Alteraciones ultraestructurales del músculo esquelético de ratones parasitados con una cepa considerada no patógena de *Toxoplasma gondii*. *Acta Biol. Venez.* 19:11-16. 1999.
- [7] CABRERA, A. Los Caballos Venezolanos. En: *Caballos de América*. Editorial Sudamericana. Buenos Aires, Pp. 269-282. 1945.
- [8] CANELÓN, J. Primer Informe sobre la Situación de los Recursos Zoogenéticos en Venezuela. En: *Los Recursos Zoogenéticos de Venezuela*. Ministerio del Poder Popular para el Ambiente. Caracas. 65 pp. 2007.

- [9] CLABOUGH, S.D. Equine Infectious Anemia. **Vet. Clinic. North Amer.: Equine Practice.** 9: 321-336. 1993.
- [10] COGGINS, L. Afecciones Generalizadas. Anemia Infecciosa Equina. En: Aiello S. (Ed.) **El Manual Merck de Veterinaria**, 5^{ta}. Ed. Océano. Barcelona, Pp. 558-559. 2000.
- [11] CONFER, A. W.; REAVIS, D. U.; PANCIERA, R. J. Light and electron microscopy changes in cardiac and skeletal muscle of sheep with experimental monensin toxicosis. **Vet. Pathol.** 20: 590-602. 1983.
- [12] CUELLO, L.; QUIÑONES, M.; FINOL, H.J.; SUÁREZ-CHACÓN R.; GÓMES, M.; RIVERA, H. Alteraciones de los capilares intramusculares en pacientes infectados con HIV. **Acta Cient. Venez.** 43 (1): 252. 1992.
- [13] CHENG, M. J.; SUH, Y, L. Ultrastructural changes of mitochondria in the skeletal muscle of patients with amyotrophic lateral sclerosis. **Ultrastruct. Pathol.** 26:1-2. 2002.
- [14] DE COSTER, W.; DE REUCK, J.; VANDER, E. H. Correlative study of the ultrastructural alterations of mitochondria and the variations of total LDH activities in experimental ischemia of the cross-striated muscle of the rat. **Arch. Biol.** 93: 175-183. 1982.
- [15] DE PALMA, L.; CHILLEMI, C.; ALBANELLI, S.; RAPALI, S. BERTONI-FREDDARI, C. Muscle involvement in rheumatoid arthritis an ultrastructural study. **Ultrastruct. Pathol.** 24:151-156. 2000.
- [16] FINOL, H. Efectos de la desnervación sobre la ultraestructura de un músculo rápido de la rata. **Acta Cient.Venez.** 31:229-39. 1980.
- [17] FINOL, H. Neurotomía y reinervación muscular: Aspectos ultraestructurales y dinámicos de la degeneración y la regeneración muscular. En: Urdaneta, A. (Ed) **Seminario Ingeniería Biomédica**, 25^{ta}. Ed. Comisión de Estudios Interdisciplinarios Publicaciones, Caracas, Pp.15-28. 2006.
- [18] FINOL, H. J.; BOADA-SUCRE, A.; ROSSI, M.; TEJERO, F. Skeletal muscle ultrastructural pathology in mice infected with *Trypanosoma evansi*. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** 33:65-71, 2001 a.
- [19] FINOL, H.; DE VENANZI, F.; PEREIRA, B.; ALFONSO, C.; SANCHEZ, J. Effects of Phosphorus deficiency on the ultrastructure of the rat fast twitch skeletal muscle. **Intercien.** 26: 62-66. 2001b.
- [20] FINOL, H.; GONZÁLES, N.; MÁRQUEZ, A., Effects of simultaneous denervation and tenotomy on the ultrastructure of a rat slow twitch muscle. **Acta Cient.Venez.** 43:26-33. 1992 a.
- [21] FINOL, H.J.; MÁRQUEZ, A.; BELLO, B.; RIVERO, H. Ultrstructure of skeletal muscle alterations surrounding a malignant fibrous histiocytoma. **J. Exp. Clin. Cancer Res.** 13:381-384. 1994.
- [22] FINOL, H.J.; MÁRQUEZ, A.; MÜLLER, B. MONTES DE OCA, I. Alteraciones ultraestructurales del músculo esquelético en un caso de anemia hemolítica autoinmune. **Acta Cient. Venez.** 43 (1): 252. 1992 b.
- [23] FINOL, H.J.; MÁRQUEZ, A.; NAVAS, E. NAVAS DE, N.R. Extraocular muscle Ultrastructural pathology in the paraneoplastic phenomenon associated with Retinoblastoma. **J. Exp. Clin Cancer Res.** 20: 281-285. 2001c.
- [24] FINOL, H.J.; MÁRQUEZ, A.; RIVERA, H.; MONTES DE OCA, I.; MÜLLER, B. Ultrastructure of systemic sclerosis inflammatory myopathy. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** 26:245- 253. 1994.
- [25] FINOL, H. J.; MONTAGNANI, S.; MÁRQUEZ, A. H.; MONTES DE OCA, I. MÜLLER, B. Ultrastructural pathology of skeletal muscle in systemic lupus erythematosus. **J. Rheumatol.** 17:210-219. 1990.
- [26] FINOL, H.J.; MÜLLER, B.; MONTES DE OCA, I.; MÁRQUEZ, A. H. Ultrastructure of skeletal muscle in rheumatoid myositis. **J. Rheumatol.** 15:552-555. 1988.
- [27] FINOL, H.J.; MÜLLER, B.; TORRES, S.H.; DOMÍNGUEZ, J.J.; PERDOMO, P.; MONTES DE OCA, I. Ultrastructural abnormalities in muscular vessels of hyperthyroid patients. **Acta Neuropathol.** 71:64-69. 1986.
- [28] FINOL, H.J.; TONINO, P.; MÁRQUEZ, A.; CORREA, M.; MÜLLER, B.; SOSA, L. Microvascular pathology in the skeletal muscle paraneoplastic phenomenon. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** 29:329-334. 1997.
- [29] GARCÍA, F.; RIVERA, M.; ORTEGA, M.; SUÁREZ, C. Tripanosomiasis Equina Causada por "Trypanosoma evansi" en tres Hatos Ganaderos del Estado Apure, Venezuela. **Rev. Fac. Cs. Vet.** 41: 91-99. 2000.
- [30] HEFFNER, R.R.; BARRON, S.A. The early effects of ischemia upon skeletal muscle mitochondria. **J. Neurol. Sc.**38:295-315. 1978.
- [31] HELD, I. P. Ataxia as the only clinical sign of cerebrospinal meningitis in a horse with equine infectious anemia. **J. Am. Vet. Med. Anim.** 183: 324-325. 1983.
- [32] KENNEDY, S.; RICE, D. A. Histopathologic and ultrastructural myocardial alterations in calves deficient in vitamin E and selenium and fed polyunsaturated fatty acids. **Vet. Pathol.** 29:129-138. 1992.
- [33] KUBES, V. Estudio acerca de la existencia de la Anemia Infecciosa de los Equinos en América del Sur. Su presencia en Venezuela y Confusión con la Tripanosomiasis Caballar. Las llamadas "Peste Boba" y "Derrengadera". Segunda Comunicación Preliminar. Ministerio de Agricultura y Cría. Venezuela. Pp. 1-35. 1939.

- [34] LEROUX, C.; CADORE, J-L.; MONTELARO, R. Equine infectious anemia virus (EIAV): what has HIV's country cousin got to tell us? **Vet. Res.** 35: 485-512. 2004.
- [35] LINDHOLM, A.; PIELHL, K. Fibre composition, enzyme activities and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of Standardbred horses. **Acta Vet. Scand.** 15:287-309. 1974.
- [36] LLORETA, J.; ROQUER, J.; COROMINAS, J.; SERRANO, S. Hyperthyroid myopathy with mitochondrial paracrystalline rectangular inclusions. **Ultrastruct. Pathol.** 20:61-65. 1996.
- [37] MÁRQUEZ, A.; TORRES, S.; FINOL, H.; FIGUEROA, L.; DE BLANCO, M. Capillary alterations and mononuclear cell infiltrate in a case of diabetic amyotrophy. **Acta Cient. Venez.** 40:251-253. 1989.
- [38] MÁRQUEZ, A.; FINOL, H.J.; DE BLANCO, M.C.; ADJOUNIAN, H.; PULIDO-MÉNDEZ, M. Skeletal muscle microvascular alterations in euthyroid and hypothyroid patients with autoimmune thyroid disease. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** 33: 425-432. 2001.
- [39] NEUMARK, T. Ultrastructural study of neuromuscular and vascular changes in connective-tissue diseases. **Int. J. Tissue React.** 8: 111-117. 1986.
- [40] OUMI, M.; MIYOSHI, M.; YAMAMOTO, T. Ultrastructural changes and glutathione depletion in the skeletal muscle induced by protein malnutrition. **Ultrastruct. Pathol.** 25:431-436. 2001.
- [41] OUMI, M.; YAMAMOTO, T. Ultrastructural changes in myocardial cells of rat fed a low protein diet. **Virchows Arch.** 434:159-165. 1999.
- [42] PIÑATE, P. Salvemos a los Caballos. **Venez. Bov.** 13: 62-64. 1998.
- [43] QUIÑONES, M.; FINOL, H.J.; SUCRE, L.E.; TORRES, S.H. Muscular changes in venezuelan wild horses naturally infected with *Trypanosoma evansi*. **J. Comp. Path.** 110: 79-89. 1994.
- [44] RUIZ M., C. El Fomento Pecuario. En: **Veterinaria Venezolana**. Editorial Sucre. Caracas. 360-397 pp. 1966.
- [45] SUCRE, L.E.; FINOL, H.J. Anormalidades ultraestructurales en el músculo glúteo medio de un caballo pura sangre de carrera, asociadas con corticoterapia prolongada. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** X (1): 19-29. 2000.
- [46] SUCRE, L.E.; FINOL, H.J.; PÉREZ, R. PACHECO, I. Análisis ultraestructural del M. *gluteus medius* del caballo de tiro mestizo Chileno, sometido a trabajo de labranza posterior a un período prolongado de inactividad. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IX (3): 205-214. 1999.
- [47] SUCRE, L.E.; FINOL, H.J.; THOMPSON, K.N. Ultrastructural aspects of equine exertional rhabdomyolysis. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** XII(4): 254-264. 2002.
- [48] VON BIERBRAUER, A.; BARTH, P.; WILLERT, J.; BAERWALD, C.; MENNEL, H.D.; SCHMIDT, J.A. Electron microscopy and capillaroscopically guided nailfold biopsy in connective tissue diseases: detection of ultrastructural changes of the microcirculatory vessels. **J. Rheumatol.** 37:1272-1278. 1998.