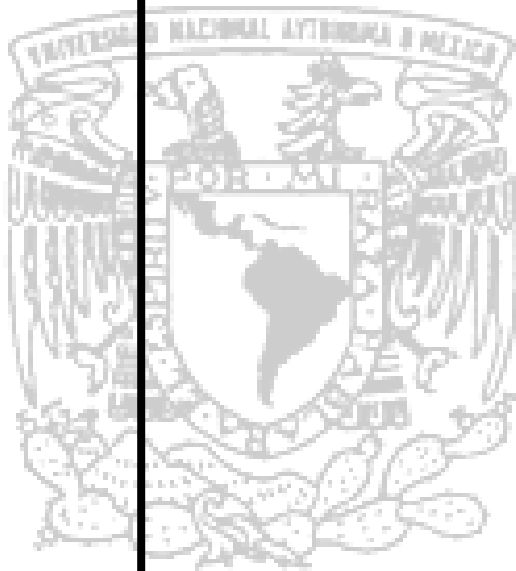




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA.

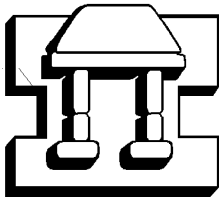
EFFECTO DE LA REALIMENTACIÓN SOBRE LA  
ACTIVIDAD CONTRÁCTIL DE LOS MÚSCULOS:  
EXTENSOR DIGITORUM LONGUS (EDL, RÁPIDO) Y  
SOLEO (LENTO), DE LA RATA EN DESARROLLO.



T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I O L O G O A  
P R E S E N T A:  
LUCERO CORTÉS VELÁZQUEZ.

IZTACALA

ASESOR DE TESIS: DRA. BERTHA SEGURA ALEGRÍA.



IZTACALA

MÉXICO, D. F.

2007.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

---

A mis padres Candelaria Velázquez Duran y Enrique Porfirio Cortés Espejel, por todo el apoyo, cariño y paciencia brindados día a día.



A mis hermanos Enrique Cortés Velázquez y Norberto Cortés Velázquez.



Al niño Emmanuel y al niño Jesús por cuidar de mi familia.

IZTACALAPA

---

---

---

## AGRADECIMIENTOS.

Con especial agradecimiento a la Doctora Bertha Segura Alegría por la excelente asesoría brindada durante la realización de esta tesis.

Al Doctor Ismael Jiménez Estrada por todas las facilidades proporcionadas para la realización de esta tesis.

A José Carlos Guadarrama Olmos por el excelente apoyo técnico durante toda la fase experimental de este proyecto.

A Silvia Mariscal Tovar por su amistad y asesoría.

A mis Sinodales: Dr. Jaime A. Barral Caballero, Dra. Mónica González Isais, Dra. Bertha Segura Alegría, M en C. Alfonso Reyes Olivera y Biol. Hugo Jesús Castro Cortes por el valioso tiempo dedicado a la revisión de esta tesis y por sus acertadas sugerencias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

Al departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, IPN.

A todos mis amigos por los momentos compartidos.

---

## **ÍNDICE.**

### **RESUMEN**

#### **INTRODUCCIÓN.**

- Generalidades sobre músculo esquelético
- Actividad contráctil del músculo esquelético
- Tipos de fibras musculares
- Ontogenia del músculo esquelético

### **ANTECEDENTES**

### **OBJETIVO GENERAL**

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

#### **MATERIAL Y MÉTODO.**

- Método de desnutrición y realimentación
- Procedimientos quirúrgicos
- Estimulación y registro
- Análisis de datos

#### **RESULTADOS.**

- Peso corporal
- Peso húmedo de los músculos EDL y soleo
- Peso muscular seco
- Cantidad de agua
- Tensión desarrollada durante una la sacudida simple
- Tensión desarrollada durante la contracción tetánica
- Índice de fatigabilidad

### **DISCUSIÓN**

### **CONCLUSIONES**

### **BIBLIOGRAFÍA**

## RESUMEN

En el presente trabajo se analizó el efecto que produce la rehabilitación alimenticia (alimentación *ad libitum* a partir del día cero postnatal), sobre las alteraciones que provoca la desnutrición perinatal en la respuesta contráctil de los músculos extensor digitorum longus (EDL; de sacudida rápida) y soleo (de sacudida lenta) de la rata en desarrollo. Para ello se cuantificó el peso corporal así como los pesos húmedo y seco de los músculos EDL y soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas de distintas edades postnatales (15, 25, 35, 60, 90 días). También se registró la tensión desarrollada por tales músculos durante la sacudida simple y la contracción tetánica y se determinó su índice de fatigabilidad.

Nuestros resultados muestran, que tanto el peso corporal, como los pesos húmedo y seco de los músculos EDL y soleo de los animales desnutridos disminuyeron significativamente respecto de las ratas control (entre 40% y 70%; ANOVA simple,  $p < 0.05$ ) y realimentadas, que tuvieron pesos similares (ANOVA simple,  $p > 0.05$ ). La tensión desarrollada por gramo de tejido durante la sacudida simple y la contracción tetánica, fue significativamente mayor en el músculo EDL de ratas desnutridas, con edades entre los 15 y los 35 días, que en el mismo músculo de animales control y realimentados; pero a los 60 y 90 días este músculo presentó tensiones similares en los grupos control, desnutrido y realimentado. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la tensión desarrollada durante la sacudida simple o la contracción tetánica por el músculo soleo de los animales control, desnutridos y realimentados, con edades entre 15 y 90 días postnatales. Por otra parte, los músculos EDL exhibieron mayores índices de fatigabilidad que los soleos, independientemente del tipo alimenticio empleado; pero el músculo EDL del grupo desnutrido mostró una menor fatigabilidad que el mismo músculo de los animales control y realimentados. Estos resultados hacen evidente que la desnutrición ejerce un efecto selectivo sobre los elementos contráctiles de las fibras de contracción rápida y nos permiten sugerir que el incremento en la tensión desarrollada por gramo de tejido, que presentan los músculos EDL de animales desnutridos, representa un mecanismo de adaptación a las condiciones alimenticias; así mismo, la ausencia de diferencias entre los grupos control y realimentado sugiere que la rehabilitación alimenticia revierte las alteraciones provocadas por la desnutrición, sobre los músculos de sacudida rápida.

## INTRODUCCIÓN

La nutrición juega un papel importante en la conformación anatómica y funcional de los organismos, por lo que es necesario tener un aporte de nutrimentos adecuado. Cada nutrimento es indispensable para el desarrollo ontogénico de los animales, incluyendo el ser humano. Las proteínas aportan aminoácidos, los cuales son esenciales para el crecimiento, el mantenimiento de la estructura celular y la construcción y/o reparación de los distintos sistemas enzimáticos. Las grasas, además de ser compuestos energéticos, contribuyen en el mantenimiento del almacén de glucógeno en el hígado y participan en la formación de algunas hormonas y vitaminas. Mientras que los carbohidratos proporcionan energía al organismo y participan en la formación de algunas enzimas y de proteínas conjugadas, presentes en el cartílago (Winick, 1979).

La proporción requerida de cada nutrimento varía en función de la edad y de la especie del animal. Por ejemplo la rata requiere, durante su desarrollo embrionario, de una mayor cantidad de carbohidratos que de grasas; esta relación se invierte durante la lactancia, mientras que la ingestión de proteínas es importante en ambas etapas del desarrollo (Koldousky y cols., 1995).

Es bien conocido, que si un organismo recibe un aporte insuficiente de alguno de los nutrimentos antes mencionados, durante su desarrollo embrionario y/o postnatal temprano, presentará alteraciones anatómicas, funcionales y conductuales de consideración (Bayol y cols., 2004; Park y cols., 2003; Bissonnette y Jeejeebhoy, 1998; Nishio y Jeejeebhoy, 1992; Morgane y cols., 2002).

A cualquier forma de alimentación deficiente, ya sea de uno solo o de varios elementos de la dieta, pero manteniendo invariable el aporte de energía, se llama malnutrición (dieta isocalórica). Por otra parte, se denomina desnutrición a la disminución de todos los nutrimentos de la dieta (alimentación hipocalórica). Ambos tipos de deficiencias nutrimentales son consideradas como uno de los problemas de salud pública de mayor prioridad, ya que más de mil millones de seres humanos en todo el planeta reciben un aporte insuficiente de alimento, especialmente en los países subdesarrollados o en vías de desarrollo (Blakburn, 2001).

Por lo anterior se ha puesto un considerable interés en el estudio de los efectos que desencadenan la reducción de la ingesta sobre los diversos órganos y tejidos, entre los que destaca el músculo esquelético (Goldspink, 1996; Segura, 2003).

## GENERALIDADES SOBRE MÚSCULO ESQUELÉTICO

El músculo esquelético es el tejido más abundante del organismo ya que constituye aproximadamente el 40% del peso corporal (seco) de un mamífero. Está conformado por células denominadas fibras musculares, estas son células cilíndricas, multinucleadas, que a su vez contienen múltiples miofibrillas. Tanto éstas como las fibras musculares e incluso el músculo completo, presentan bandas claras y oscuras asociadas a la presencia de dos proteínas filamentosas, llamadas actina y miosina (Figura 1). Ambas proteínas, están organizadas longitudinalmente en unidades llamadas sarcómeras. Cada sarcómera se encuentra limitada por dos líneas Z y constituye la unidad contráctil del músculo esquelético (Kandel y cols., 2001).

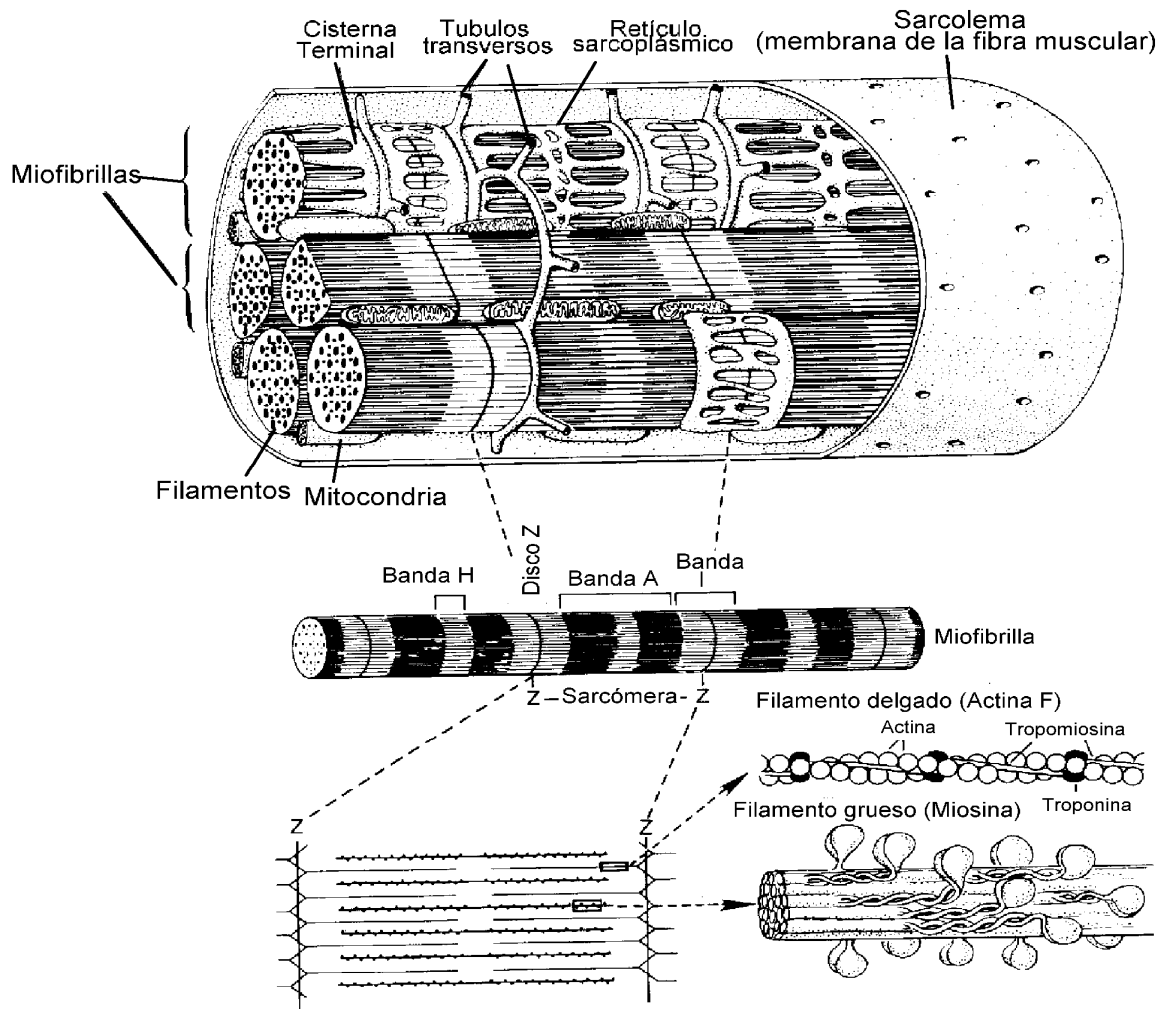


Figura 1.- Organización estructural del músculo esquelético (Modificado de Kandel y cols, 2001).



Otro elemento estructural importante en las fibras musculares, son los túbulos T, éstos son invaginaciones de la membrana celular a través de los cuales se propagan los impulsos nerviosos necesarios para efectuar la contracción muscular. En estrecha relación anatómica y funcional con éstos se encuentra el retículo sarcoplásmico, en cuyas cisternas terminales se almacenan grandes cantidades de calcio, que es liberado en respuesta al potencial de acción propagado a través del túbulo T. Una vez liberado este ión, se une al complejo troponina, lo cual modifica la posición de la tropomiosina (Ganong, 2006; Kandel y cols, 2001) y permite la formación de los puentes cruzados de la actina-miosina. La formación del puente cruzado provoca un movimiento de la cabeza de miosina, lo cual produce el deslizamiento del filamento de actina. Cabe señalar que la cabeza de miosina es muy afin al ATP y funciona como una poderosa ATPasa, de modo que en presencia de éste, la cabeza de miosina se separa de la actina y sufre un nuevo movimiento, regresando a su posición original; esto provoca la relajación del músculo (figura 2). El ciclo contracción-relajación se repite, siempre que llegue una señal nerviosa a través del túbulo T y existan calcio y ATP en el medio. El calcio liberado del retículo sarcoplásmico, en respuesta al potencial de acción y utilizado para iniciar la contracción, es recapturado hacia éste, mediante una bomba metabólica (bomba de calcio).

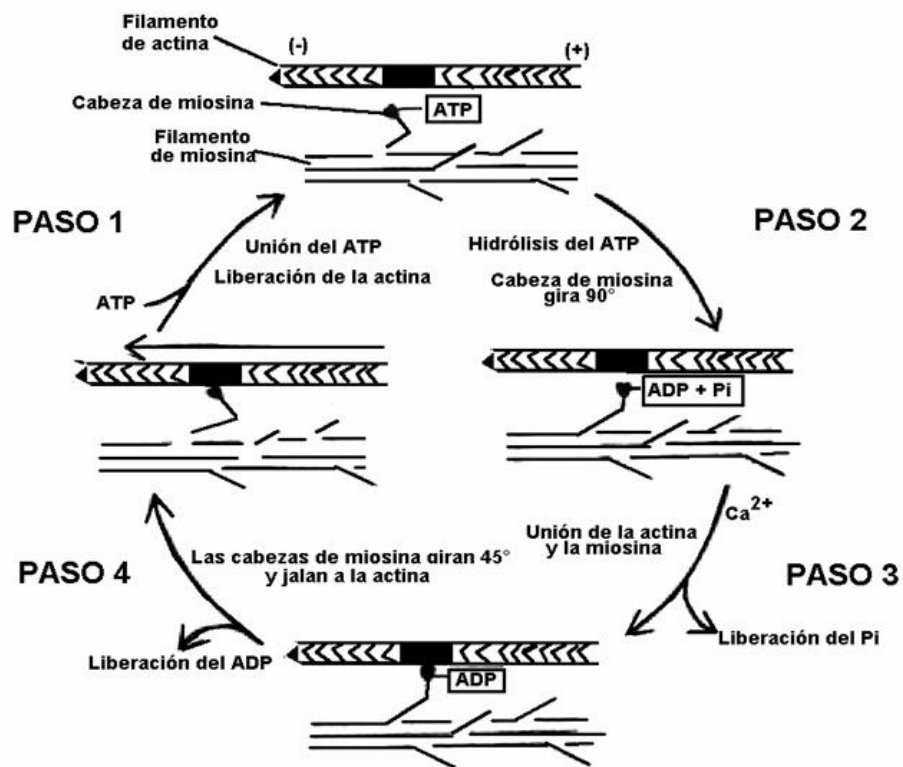


Figura 2.- Representación esquemática del ciclo contráctil en el músculo esquelético.

## ACTIVIDAD CONTRÁCTIL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

La respuesta mecánica del músculo a un estímulo, aplicado directamente sobre éste o a través del nervio correspondiente, se denomina **contracción** o **sacudida simple**.

Durante una sacudida simple, el músculo desarrolla tensión o efectúa trabajo, por lo que se han descrito dos tipos de contracción muscular, la isotónica y la isométrica (Kernell, 2006). La **contracción isométrica** es aquella en la que el músculo desarrolla tensión sin cambiar de longitud. Este tipo de contracción se presenta en los músculos posturales, que requieren desarrollar fuerza para sostener una carga o para mantener una posición corporal constante. En cambio, durante una **contracción isotónica** se mantiene constante la tensión y lo que cambia es la longitud del músculo (figura 3). Este tipo de contracción la realizan los músculos cuya función es producir movimiento en las articulaciones, lo cual permite que el animal realice pautas conductuales estereotipadas, tales como la locomoción.

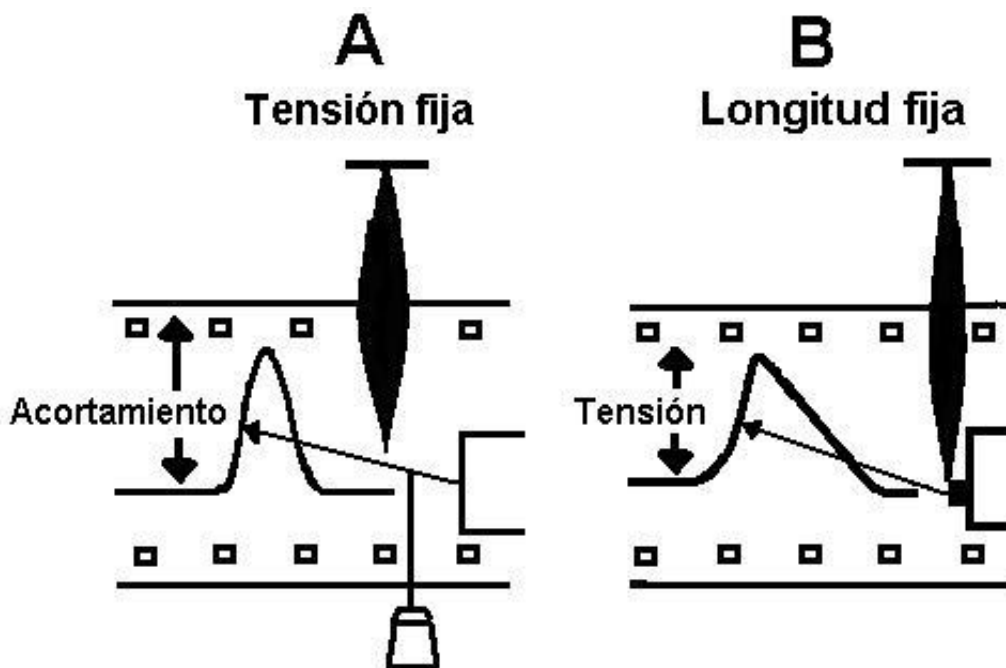


Figura 3.- Tipos de contracción muscular. A) *contracción isotónica* y B) *contracción isométrica* (Aidley, 1989).

El registro mecánico de una sacudida simple isométrica, muestra un incremento rápido en la tensión, seguido de una fase de relajación más lenta, tras la cual se restablece la tensión inicial. Comparativamente con el breve curso temporal del potencial de acción (entre 1 y 3 ms), el tiempo

necesario para efectuar una sacudida muscular es muy grande (entre 10 y 100 ms, dependiendo del tipo de músculo). Esto se debe a la presencia de los tendones y otros elementos elásticos, cuya resistencia debe ser vencida por los elementos contráctiles (Kernell, 2006), así como el tiempo requerido para recapturar al ión calcio hacia el interior del retículo sarcoplásmico. Esta característica de la contracción muscular provoca que durante la estimulación repetitiva, cada fibra muscular sea activada de nueva cuenta, antes de que ésta se relaje completamente. Dependiendo de la frecuencia de estimulación la fuerza producida por cada una de las sacudidas individuales se sumará, hasta alcanzar una meseta (figura 4). Esta forma de respuesta a la estimulación eléctrica repetitiva se denomina contracción tetánica o tétanos. Durante una contracción tetánica, el músculo desarrolla su fuerza máxima, debido a que cada fibra muscular presenta el número máximo de puentes cruzados que las miofibrillas son capaces de formar (Kernell, 2006).

## **TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES**

A simple vista es posible distinguir un músculo blanco de uno rojo, debido al color pálido del primero, pero las diferencias entre ambos tipos musculares no se limitan a su aspecto externo, sino también a sus características contráctiles y metabólicas. Cuando un músculo blanco es estimulado con un pulso único, éste responde con una sacudida de poca duración, mientras que un músculo rojo responde al estímulo con una sacudida de mayor duración (figura 4). Estas diferencias en la duración de la sacudida son debidas a distintas características fisiológicas y bioquímicas de las fibras musculares. En función de tales características, las fibras musculares de los mamíferos se han clasificado en:

Fibras musculares de contracción lenta (tipo I).- Tienen un tiempo de contracción prolongado y generan escasa fuerza durante la sacudida simple. Sin embargo, la fuerza desarrollada por estas fibras no decae al ser estimuladas con trenes de pulsos (figura 4A). Estas fibras musculares presentan numerosas mitocondrias y tienen una tasa muy baja en la utilización del ATP (West y cols., 1999; Goldspink y Harridge., 2004; Kandel y cols., 2001). Su metabolismo es de tipo oxidativo.

Fibras musculares de contracción rápida y fatigables (Tipo IIB).- Presentan un tiempo de contracción relativamente breve, su metabolismo es glucolítico y durante la sacudida simple

desarrollan una tensión hasta 100 veces mayor que la alcanzada por las fibras musculares del tipo I, pero se fatigan rápidamente cuando son estimuladas con trenes de pulsos (figura 4C; Fiorotto y cols, 2000).

Fibras musculares de contracción rápida, resistentes a la fatiga (Tipo IIA o IIX).- Estas fibras musculares presentan características contráctiles intermedias entre las fibras rápidas y las lentas. También presentan metabolismo dual, oxidativo y glucolítico, y dependiendo de la preponderancia de un tipo de metabolismo con respecto al otro, se les conoce como fibras oxidativo-glucolíticas o tipo IIA o bien como fibras glucolítico-oxidativas o tipo IIX (figura 4B; Fiorotto y cols., 2000).

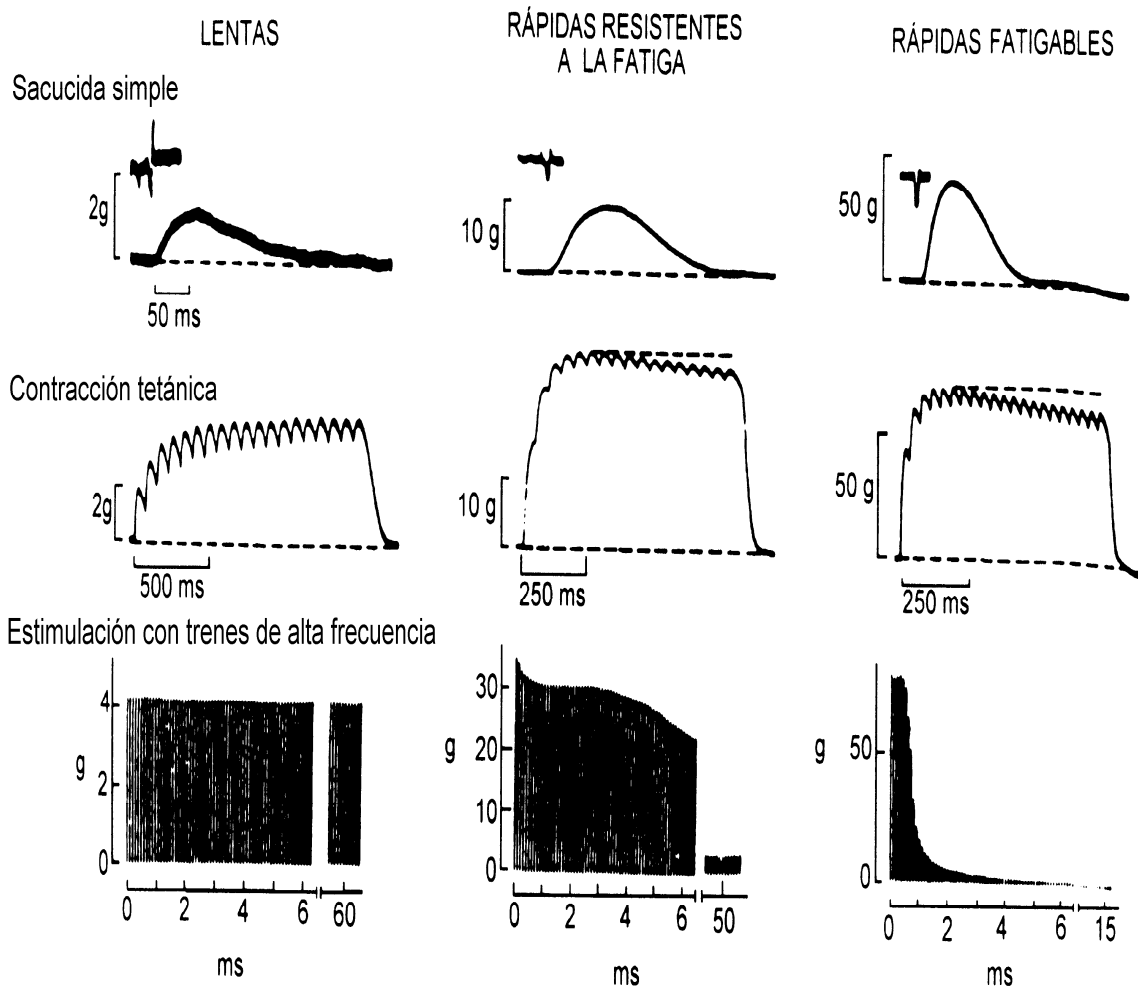


Figura 4.- Características contráctiles de las fibras musculares de sacudida lenta, rápidas resistentes a la fatiga y rápidas fatigables (Tomado de Kandel y cols., 2001)

## ONTOGENIA DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

El músculo esquelético tiene su origen embriológico en el mesodermo somático, que en las primeras fases de desarrollo se segmenta transversalmente desde la región cefálica a la caudal, formando numerosas somitas, cada una de estas contiene células epiteliales y a partir de éstas se forman el esclerotomo que dará origen a las vértebras, el dermatomo que formará la dermis y el miotomo del cual se originarán los músculos. Las células del miotomo sintetizan miosina y se transforman en mioblastos, los cuales empiezan a formar paquetes organizados de filamentos contráctiles, llamados miotubos. El primordio de los músculos esqueléticos de la rata contiene fascículos de dos a seis miotubos, cuyos sarcolemas se encuentran conectados entre sí mediante uniones comunicantes. Durante la histogénesis, los músculos presentan dos generaciones de miotubos: la primera se hace evidente a partir del día 15 de gestación; tales miotubos poseen una miosina (embrionaria) que presenta características inmuno-histoquímicas semejantes a las de la miosina rápida. A partir del día 17 de gestación, la miosina presente en los miotubos de la primera generación cambia gradualmente sus características inmuno-histoquímicas hacia las de la miosina lenta; al mismo tiempo rodeando a los miotubos primarios, surge la segunda generación de miotubos. Los miotubos secundarios presentan un núcleo central, una gran acumulación de glucógeno en el centro y miofibrillas periféricas (Condon y cols., 1990; De Lucas y cols., 1996; Pette y Staron, 2000; Schiaffino y Reggiani, 1994). Y están estrechamente relacionados con los miotúbulos primarios.

Los días posteriores al nacimiento, la mayor parte de las fibras musculares reaccionan tanto con el anticuerpo específico para la miosina rápida como con el de la miosina lenta. En las primeras tres o cuatro semanas de vida postnatal ocurre la diferenciación de las fibras musculares, manifestándose gradualmente un solo tipo de reacción inmunohistoquímica (miosina lenta o rápida). La diferenciación de las fibras musculares en lentas y rápidas depende de la localización corporal, de la función que desempeña cada músculo y de la acción de factores externos, tales como la alimentación (Sanusi y cols, 2007; Schiaffino y Reggiani, 1996; Pette y Staron, 2000).

Respecto a la actividad contráctil del músculo esquelético, se ha reportado que durante el desarrollo postnatal temprano de la rata todos los músculos de las extremidades pélvicas presentan tiempos de contracción similares, pero que éstos se modifican en las primeras cuatro semanas de vida postnatal en el momento en que se produce la diferenciación de los músculos a sus formas rápidas o lentas de tipo adulto (West y cols., 1999; Brown y Loeb., 2000; figura 5A). También se ha reportado que en los

animales adultos los músculos lentos pueden desarrollar sacudidas que presentan tiempos de contracción y de relajación 2 ó 3 veces mayores que los de músculos rápidos (West y cols., 1999). Al parecer la velocidad de contracción de un músculo completo refleja en forma indirecta el número y la proporción relativa del tipo de fibras (de sacudida rápida o de sacudida lenta) que contiene. El músculo extensor digitorum longus (EDL) tiene una mayor proporción de fibras del tipo II y por lo tanto se contrae y relaja rápidamente, mientras que el soleo es lento para contraerse y relajarse debido a que tienen una mayor proporción de fibras tipo I, (Mendias y cols., 2006). Además, se ha observado que a medida que los animales crecen, sus músculos son capaces de desarrollar mayor tensión durante la sacudida simple y de producir la sacudida tetánica con mayores frecuencias de estimulación (Pereyra, 2002; figura 5B).

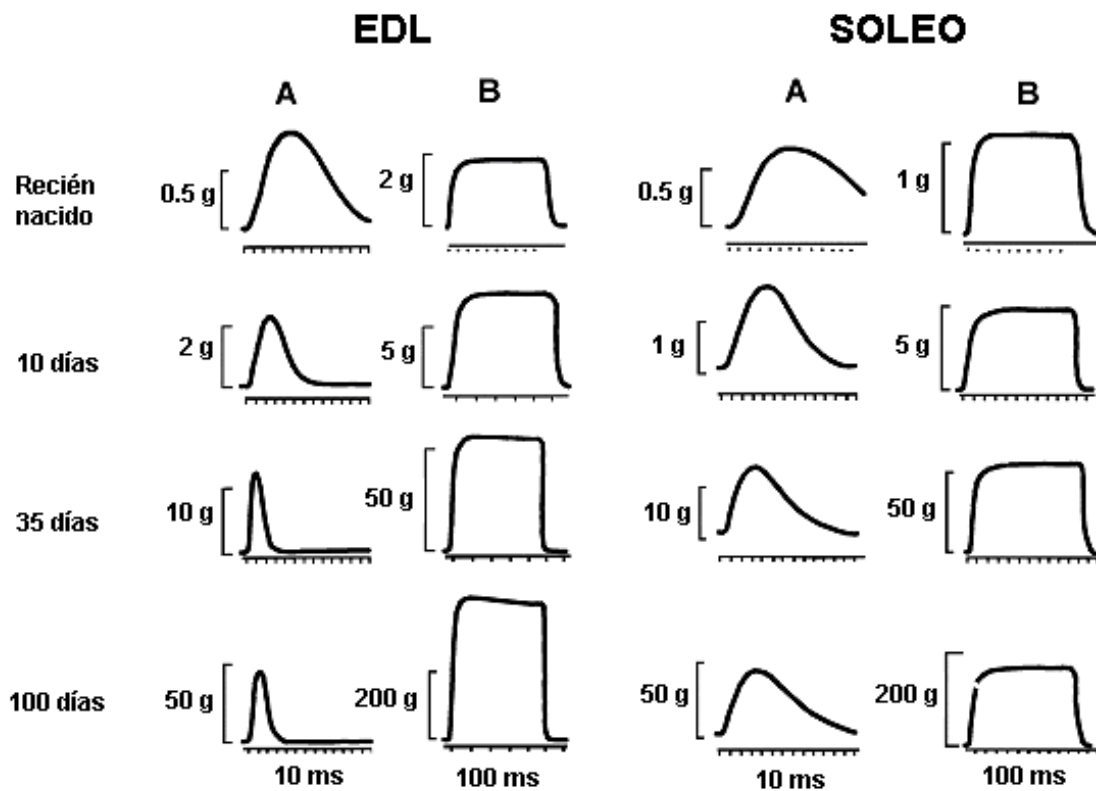


Figura 5. Los músculos de las extremidades posteriores modifican su patrón contráctil hasta las tres o cuatro semanas de vida postnatal. En A se ha representado la tensión desarrollada por los músculos EDL y soleo, durante una sacudida simple, mientras que B representa la tensión de estos músculos durante una contracción tetánica. Obsérvense los cambios ocurridos tanto en el curso temporal como en la fuerza desarrollada por ambos músculos en las diferentes etapas de desarrollo representadas (modificado de Close, 1964).

También se ha reportado que los músculos en desarrollo sufren cambios metabólicos importantes, sobre todo en la actividad de las enzimas glucolíticas y oxidativas que proporcionan la energía necesaria para efectuar la contracción muscular. Rosser y cols. (1992), reportaron que en los animales recién nacidos, la actividad de ambos grupos de enzimas es semejante en los músculos de contracción lenta y en los de contracción rápida, pero durante el primer mes de vida postnatal los músculos de sacudida rápida incrementan considerablemente la actividad de las enzimas glucolíticas y reducen la de las enzimas oxidativas; mientras que en los músculos de sacudida lenta el incremento en la actividad de las enzimas oxidativas se prolonga hasta las seis semanas de vida postnatal (Oron y cols., 1998). Lo anterior nos indica que si un animal en desarrollo recibe una alimentación deficiente, podría sufrir daños severos e irreparables en su músculo esquelético, debido a los múltiples cambios morfológicos, funcionales y metabólicos que ocurren durante los periodos prenatal y postnatal temprano (Schiaffino y Reggiani, 1994).

## ANTECEDENTES.

Es ampliamente aceptado que la diferenciación de las fibras musculares en lentas y rápidas depende de la interacción de éstas con las motoneuronas que las inervan, pero también está influenciada por factores externos, tales como la alimentación (Sanusi y cols, 2007), por lo cual no es sorprendente que animales experimentales alimentados con dietas hipocalóricas presenten una severa disminución en su peso corporal, con respecto a los animales alimentados con dietas balanceadas (Nishio y Jeejeebhoy, 1992; Dwyer y cols., 1995). La disminución en el peso corporal se ha asociado a una disminución en el diámetro, la longitud y el número de fibras musculares de los animales alimentados con dietas deficientes (Dwyer y cols., 1995). Así mismo, se ha mostrado que la pérdida de la masa muscular es proporcional a la pérdida de peso corporal (Barreto y cols 2000).

Por otra parte se ha mostrado, mediante técnicas inmunohistoquímicas, que la diferenciación de las fibras lentas resistentes a la fatiga a fibras rápidas fatigables, se ve enlentecida en los animales sometidos a desnutrición durante la etapa neonatal (Prakash y cols., 1993; Ward, 1993). También se ha reportado que la alimentación deficiente provoca mayores daños morfológicos en los músculos de sacudida rápida que en los de sacudida lenta, ya que los primeros mostraron una reducción importante en el tamaño y diámetro de las miofibras y/o en el número total de éstas, así como alteraciones en la proporción relativa de los distintos tipos de fibras musculares contenidas en tales músculos (Bedi y cols., 1982; Brozanski y cols., 1993; Dwyer y cols., 1995).

Además de los cambios estructurales antes mencionados, los músculos esqueléticos de animales desnutridos sufren alteraciones en sus características contráctiles; así Bissonnette y Jeejeebhoy (1998), reportan un incremento en la duración de la sacudida simple y en la fuerza desarrollada por el músculo gastrocnémio de ratas adultas alimentadas con dietas hipo-proteínicas. No obstante, Mendias y cols. (2006), encontraron que no existen cambios significativos en los tiempos de contracción y relajación durante la sacudida simple de los músculos EDL y soleo de ratas adultas, sometidas a desnutrición perinatal, pero sorprendentemente ambos músculos de animales desnutridos desarrollaron mayor fuerza por gramo de tejido húmedo que los de animales control. Observaciones similares fueron obtenidas previamente en nuestro laboratorio, para el músculo EDL (pero no para el soleo) de ratas de 15, 25 y 35 días de edad postnatal, que fueron sometidas a desnutrición perinatal (Segura, 2003). A diferencia de lo reportado por Mendias y cols. (2006), los músculos EDL y soleo de animales adultos (60 y 90 días) desnutridos, desde la gestación hasta el día del experimento, no presentaron alteraciones en la duración de la sacudida simple, ni en la



fuerza desarrollada por gramo de tejido húmedo, con respecto a las ratas control de edades semejantes (Segura, 2003), lo cual nos hace suponer que la desnutrición no provoca daños permanentes en el patrón contráctil del músculo esquelético rápido, pero si ocasiona un retraso en la diferenciación de las fibras musculares de lentas a rápidas. Ahora bien, es posible que esta alteración se revierta si los animales son realimentados durante el periodo postnatal temprano (a partir del día cero postnatal), ya que es en esta etapa del desarrollo de la rata cuando ocurre la diferenciación de las fibras musculares.

A este respecto se ha reportado que al realimentar a los animales adultos se revierten las alteraciones morfológicas producidas por la desnutrición (Bayol y cols., 2004; Bedi y cols, 1982). Sin embargo, también se ha observado que la disminución en el número, diámetro y longitud de las fibras musculares, así como en la proporción de fibras de sacudida rápida, son irreversibles cuando la restricción del alimento ocurre durante los períodos de gestación y lactancia (Haltia y cols, 1978; Bedi y cols, 1982). Sin embargo, se carece de información acerca de si la realimentación revierte o no las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre la actividad contráctil de los músculos esqueléticos de sacudida rápida y lenta.

Como se mencionó antes, la alimentación deficiente tanto en cantidad (desnutrición) como en calidad (malnutrición), es uno de los problemas de salud pública de mayor prioridad, y la padecen mas de mil millones de personas en el mundo (Blakburn, 2001), por lo cual deben establecerse los procedimientos clínicos o alimentarios que permitan mitigar o abatir los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo del músculo esquelético. Es por lo anterior que en el presente trabajo se pretende establecer si mediante la realimentación, iniciada desde la etapa postnatal temprana, se revierten las alteraciones causadas por la desnutrición prenatal sobre el músculo esquelético.

Con base a lo anterior se proponen los siguientes **objetivos**:

## **OBJETIVO GENERAL.**

Determinar si los efectos provocados por la desnutrición sobre la respuesta contráctil de músculos esqueléticos rápidos y lentos se revierten al realimentar a los animales a partir del día cero postnatal.

## **OBJETIVOS PARTICULARES.**

Establecer si la realimentación neonatal revierte las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre el peso corporal y el peso de los músculos EDL (rápidos) y soleo (lento) de la rata en desarrollo.

Establecer si la realimentación revierte las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre la actividad contráctil (tensión, tiempos de contracción y relajación, y fatigabilidad) de los músculos rápidos y lentos de la rata en distintas edades postnatales.

## MATERIAL Y MÉTODO.

La fase experimental del presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio 11 del departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, IPN, a cargo del Dr. Ismael Jiménez Estrada.

### MÉTODO DE DESNUTRICIÓN Y REALIMENTACIÓN.

Los experimentos fueron realizados en crías de ratas, (*Rattus norvegicus* cepa Wistar), para ello un conjunto de hembras adultas, nulíparas fue dividido al azar en tres grupos:

- a) **Grupo control.** Este grupo de ratas y sus crías tuvo libre acceso al agua y al alimento durante toda la fase experimental.
- b) **Grupo desnutrido.** Desde tres semanas previas al apareamiento y durante los períodos de gestación y lactancia se alimentó a las hembras con el 50% de la cantidad de alimento que en promedio, ingerían las ratas control. A partir del destete (día 30 postnatal), las crías también fueron alimentadas con el 50% de la cantidad de alimento que en promedio, ingieren las crías control de edades semejantes (Bedi, 2003).
- c) **Grupo realimentado.** Desde tres semanas previas al apareamiento y durante el período de gestación se alimentó a un grupo de ratas con el 50% de la cantidad de alimento que en promedio, ingerieron las ratas hembras control. A partir del nacimiento (día cero post-natal) la madre tuvo libre acceso al alimento. Las crías fueron alimentadas *ad libitum* a partir del día del destete (día 30 postnatal).

Cabe señalar que a todos los animales se les proporcionó agua *ad libitum*, y que el día del parto (día cero postnatal) todas las camadas se ajustaron a 9 crías.

## **PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS.**

El registro de la actividad contráctil de los músculos EDL y soleo de las crías control, desnutridas y realimentadas, se efectuó *in vivo* los días 15, 25, 35, 60 y 90 post-natales, los cuales comprenden el período de tiempo en el que se efectúa el proceso de diferenciación de las fibras musculares (West y cols., 1999). Los animales fueron anestesiados mediante la aplicación intra-peritoneal de uretano (1.6 g/kg de peso; Segura 2003). Los músculos EDL y soleo fueron expuestos mediante incisiones longitudinales en la piel de las extremidades posteriores. Los músculos se identificaron siguiendo las indicaciones anatómicas de Popesko y cols (1992) y se tuvo especial cuidado en mantener intacta la circulación sanguínea durante todo el experimento. Para evitar la aparición de artefactos de índole mecánico durante los registros, tanto la pelvis como la parte distal de la tibia se fijaron firmemente a la tabla de disección, con alfileres de acero inoxidable. Los músculos se mantuvieron en un ambiente húmedo mediante la aplicación de solución salina (cloruro de sodio 0.9%) a una temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante todo el experimento. El tendón localizado en la parte distal de cada uno de los músculos fue atado con un hilo resistente e indeformable a un miógrafo isométrico (Grass, FT 03B), conectado a un amplificador (Grass modelo RPS 107), y a su vez a un osciloscopio (Tektronix modelo TDS 460A) y a una computadora en la cual los datos fueron capturados para su posterior análisis.

## **ESTIMULACIÓN Y REGISTRO.**

Para provocar la sacudida simple y la respuesta tetánica de los músculos bajo estudio, se utilizó un par de electrodos de estimulación que se colocaron sobre la superficie de los músculos, a través de estos se aplicaron pulsos eléctricos únicos o trenes de pulsos con frecuencias crecientes (1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 y 100 Hz) durante tres segundos (West y cols., 1999; Park y cols., 2003). Para estimar la fatigabilidad de los músculos, se les provocó una contracción tetánica con un tren de pulsos de intensidad supra-máxima y 100 Hz de frecuencia, aplicado durante 10 segundos. Las respuestas contráctiles antes señaladas fueron capturadas y almacenadas para su posterior análisis en una computadora, mediante el programa WaveStar. Este programa cuenta con cursores, verticales y horizontales, que permiten medir la duración y la amplitud de la fuerza desarrollada por los músculos en estudio.

Cabe señalar que para poder registrar la tensión desarrollada por los elementos contráctiles, es necesario que los elementos elásticos en serie y en paralelo que los unen al hueso (tendones) o que los rodean (tejido conectivo), estén parcialmente estirados (Barclay, 1996; Huxley, 2007; Kernell, 2006). Por tal razón, antes de iniciar el registro de la tensión desarrollada por los músculos en estudio, éstos fueron estirados hasta encontrar la longitud óptima, a la cual el músculo puede desarrollar la tensión máxima durante una sacudida simple. Tal longitud óptima fue mantenida en todos los registros de las respuestas contráctiles.

Al finalizar los experimentos de mecánica muscular, los músculos estudiados fueron separados del animal, (previamente sacrificado mediante dislocación cervical), pesados (peso húmedo), y deshidratados para conocer el peso seco de los mismos.

#### **ANÁLISIS DE DATOS.**

Después de los experimentos se determinaron los siguientes parámetros de las respuestas contráctiles: a) tiempo al pico, b) tiempo de relajación, c) frecuencia de fusión de la respuesta contráctil, d) tensión al pico de la sacudida simple, e) tensión máxima desarrollada durante la contracción tetánica.

Los datos obtenidos fueron sometidos a una prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA simple) y a una postprueba de Tukey, con el objeto de determinar las posibles diferencias entre los grupos control, desnutrido y realimentado (Mckillup, 2006).

## RESULTADOS

### PESO CORPORAL.

La etapa de maduración de las ratas comprende dos períodos, el primero va desde el día cero hasta los 90 días de vida postnatal y se caracteriza por un incremento importante en el peso y en la talla, así como por un almacenamiento acelerado de lípidos y proteínas en los animales. El segundo período transcurre desde esa edad hasta los 180 días postnatales y se caracteriza porque se reducen significativamente el depósito de proteínas y el almacenamiento de grasas (Iossa y cols, 1999).

*Cuadro 1. Peso corporal promedio  $\pm$  la desviación estándar de ratas controles, desnutridas y realimentadas de distintas edades postnatales.*

PESO CORPORAL (g)			
EDAD (DÍAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	33.22 $\pm$ 0.07	20.19 $\pm$ 1.0	34.27 $\pm$ 2.85
25	78.37 $\pm$ 15.5	33.40 $\pm$ 4.1	78.17 $\pm$ 5.03
35	147.95 $\pm$ 17.9	39.41 $\pm$ 3.6	165.5 $\pm$ 26.6
60	360.62 $\pm$ 18.7	108.08 $\pm$ 4.7	374.07 $\pm$ 42.1
90	493.00 $\pm$ 65.6	175.34 $\pm$ 16.9	482.68 $\pm$ 28.9

En el presente trabajo se cuantificó el peso corporal de los animales control, desnutridos y realimentados de diferentes edades postnatales (figura 6 y cuadro 1 del anexo), encontrándose que las ratas desnutridas tienen un peso significativamente menor que el de los animales control y realimentados, especialmente entre los 35 y 90 días de edad (ANOVA simple  $p < 0.05$ ). Así mismo, se pudo apreciar que las ratas desnutridas presentaron una menor talla, lo cual coincide con lo reportado por Isselbacher y cols, (1998), y es posible suponer que siendo el músculo esquelético el tejido más abundante y el que representa el más alto porcentaje del peso corporal de un animal, la drástica reducción en el peso corporal de las ratas desnutridas podría estar asociada con un decremento en el peso de los músculos en estudio. Por esta razón fueron evaluados los pesos húmedo y seco de los músculos EDL y soleo.

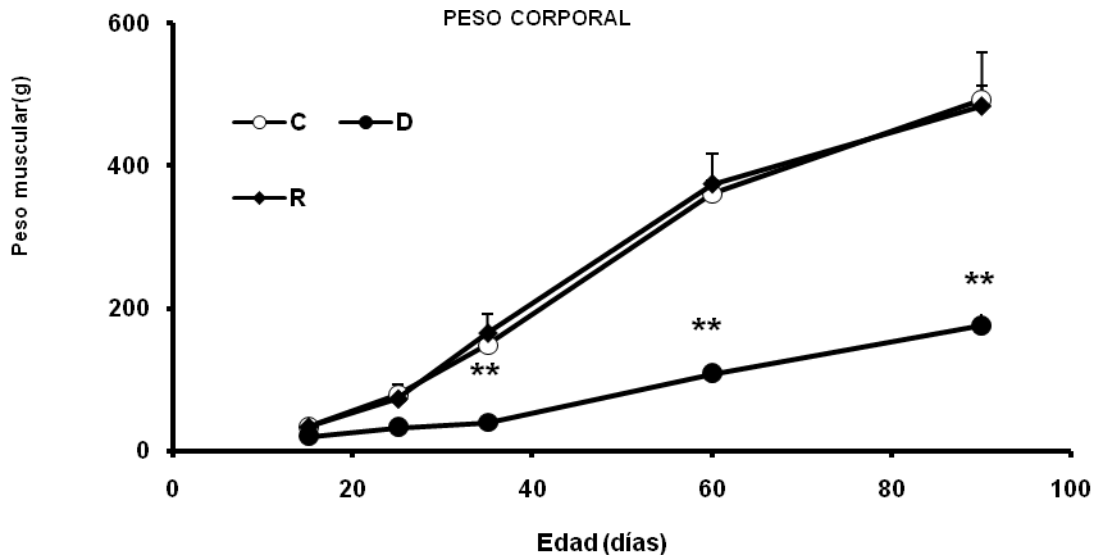


Figura 6. Peso corporal promedio de ratas controles(C), desnutridas (D) y realimentadas(R) de distintas edades postnatales. Las líneas verticales representan la desviación estándar,  $n= 8$  animales por edad y por tratamiento. Los asteriscos (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control (ANOVA simple, post-prueba de Tukey  $p<0.05$ ).

## PESO HÚMEDO DE LOS MÚSCULOS EDL Y SOLEO.

Al cuantificar los pesos húmedos de los músculos EDL y SOL de los lotes de animales en estudio, se comprobó que efectivamente los músculos de ratas desnutridas presentaron una disminución significativa en su peso, comparativamente con el de los músculos de animales control (ANOVA simple  $p< 0.05$ ); mientras que los músculos del lote realimentado presentaron pesos semejantes al de los animales control (figuras 7 y 8; cuadro 2). Por otro lado, el músculo soleo presentó una disminución significativa en su peso a los 35, 60 y 90 días postnatales.

La disminución registrada en el peso de los músculos de animales desnutridos podría ser ocasionada por la incapacidad del músculo desnutrido para sintetizar proteínas (Dwyer y cols., 1995). Por otro lado se ha reportado que la síntesis de proteínas se restablece al realimentar a los animales, lo cual explica que los músculos EDL y soleo de nuestros lotes realimentados presenten pesos similares al de los animales control (Magnusson y cols., 1990; Fiorotto y cols., 2000). No obstante, no podría descartarse la posibilidad de que el decremento observado en el peso muscular de animales desnutridos estuviese relacionado con una disminución en el contenido de agua en las

fibras musculares. Por tal motivo, en el presente estudio se deshidrataron los músculos EDL y soleo de animales controles, desnutridos y realimentados y se cuantificó su peso seco.

Cuadro 2. Peso húmedo promedio  $\pm$  desviación estándar del músculo EDL y soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas de distintas edades postnatales.

PESO HÚMEDO MÚSCULO EDL (g)			
EDAD (DIAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	0.011 $\pm$ 0.002	0.0053 $\pm$ 0.009	0.0085 $\pm$ 0.003
25	0.040 $\pm$ 0.017	0.011 $\pm$ 0.002	0.032 $\pm$ 0.003
35	0.064 $\pm$ 0.008	0.013 $\pm$ 0.002	0.073 $\pm$ 0.014
60	0.158 $\pm$ 0.007	0.048 $\pm$ 0.004	0.164 $\pm$ 0.013
90	0.200 $\pm$ 0.026	0.083 $\pm$ 0.015	0.222 $\pm$ 0.024
PESO HÚMEDO MÚSCULO SOLEO (g)			
EDAD (DIAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	0.012 $\pm$ 0.002	0.0065 $\pm$ 0.002	0.010 $\pm$ 0.002
25	0.027 $\pm$ 0.003	0.012 $\pm$ 0.003	0.030 $\pm$ 0.005
35	0.067 $\pm$ 0.010	0.015 $\pm$ 0.004	0.065 $\pm$ 0.016
60	0.150 $\pm$ 0.018	0.046 $\pm$ 0.007	0.170 $\pm$ 0.023
90	0.152 $\pm$ 0.034	0.071 $\pm$ 0.011	0.277 $\pm$ 0.024

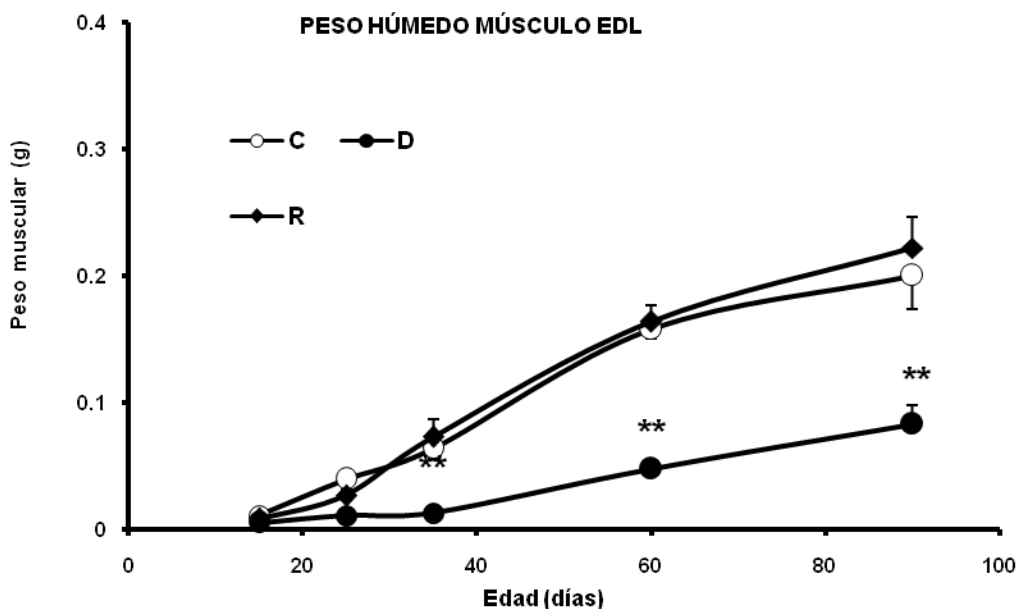


Figura 7. Peso húmedo promedio del músculo EDL de ratas controles(C), desnutridas (D) y realimentadas(R) de distintas edades postnatales. Las líneas verticales representan la desviación estándar (n= 8 animales por edad y por tratamiento). Los asteriscos (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control.



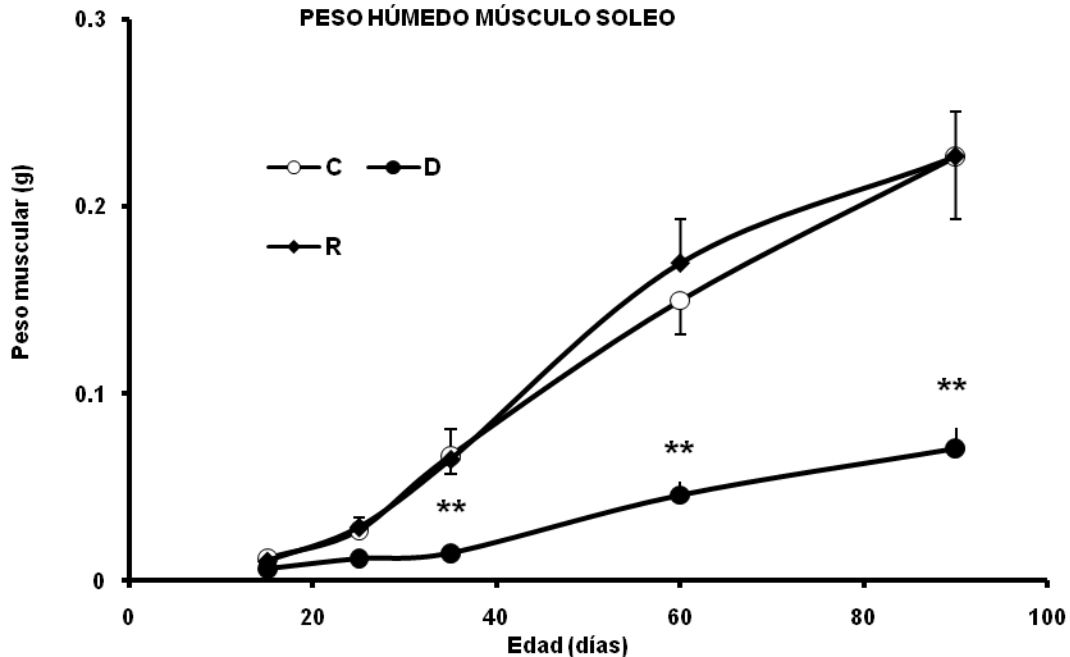


Figura 8. Peso húmedo del músculo soleo de ratas controles(C), desnutridas (D) y realimentadas (R), de distintas edades postnatales. Cada punto es el promedio de 8 animales; las líneas verticales representan la desviación estándar. Los asteriscos (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control.

### PESO MUSCULAR SECO.

La figura 9 muestra que en las distintas edades postnatales analizadas el peso seco del músculo EDL de ratas desnutridas es significativamente menor (ANOVA simple,  $p < 0.05$ ) que el mismo músculo de los animales controles y realimentados, que tienen pesos similares. El músculo soleo (figura 10 y cuadro 3) de ratas desnutridas también mostró una disminución significativa en su peso seco, con respecto al mismo músculo de animales control.

Por otra parte, los músculos soleos de animales realimentados presentaron una tendencia a incrementar su peso con respecto al de los músculos control (especialmente a los 60 y 90 días postnatales). Este incremento no fue estadísticamente significativo (ANOVA simple,  $p > 0.05$ ), pero podría suponerse que fue provocado por la realimentación, ya que se ha reportado que ésta puede inducir sobrepeso (Desai y cols, 1996 y Stickland y cols., 1991), luego de un tiempo de iniciada.

Los resultados antes presentados sugieren que la disminución registrada en los pesos húmedo y seco de los músculos EDL y soleo de animales desnutridos podría ser provocada tanto por la pérdida de agua como por una reducción en la cantidad de proteínas de tales músculos.

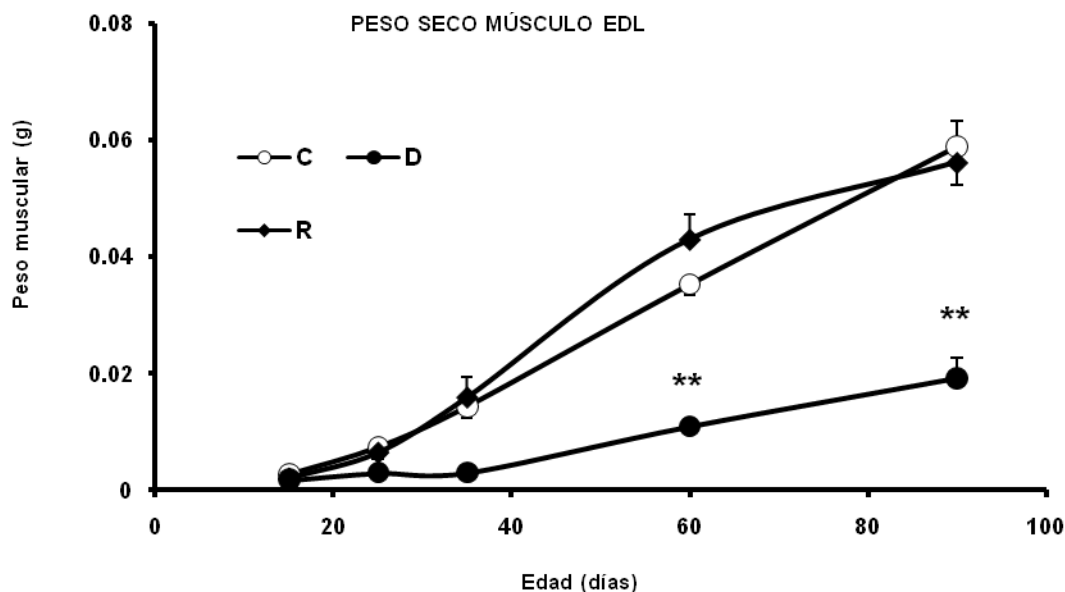


Figura 9. Peso seco promedio del músculo EDL de ratas controles (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) de distintas edades postnatales; las líneas verticales representan la desviación estándar; n= 8 animales por edad y por tratamiento. Los (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control

Cuadro 3. Peso seco promedio  $\pm$  desviación estándar del músculo soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas de distintas edades postnatales.

PESO SECO MÚSCULO EDL (g)			
EDAD (DIAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	0.002	0.001	0.002
25	0.007 $\pm$ 0.001	0.002	0.006 $\pm$ 0.001
35	0.014 $\pm$ 0.001	0.003	0.015 $\pm$ 0.003
60	0.035 $\pm$ 0.001	0.010	0.043 $\pm$ 0.004
90	0.058 $\pm$ 0.006	0.019 $\pm$ 0.003	0.056 $\pm$ 0.007
PESO SECO MÚSCULO SOLEO (g)			
EDAD (DIAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO.
15	0.002	0.002	0.002
25	0.005	0.002 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.004
35	0.012 $\pm$ 0.001	0.003	0.015 $\pm$ 0.004
60	0.031 $\pm$ 0.003	0.010 $\pm$ 0.001	0.043 $\pm$ 0.008
90	0.035 $\pm$ 0.008	0.014 $\pm$ 0.002	0.055 $\pm$ 0.005

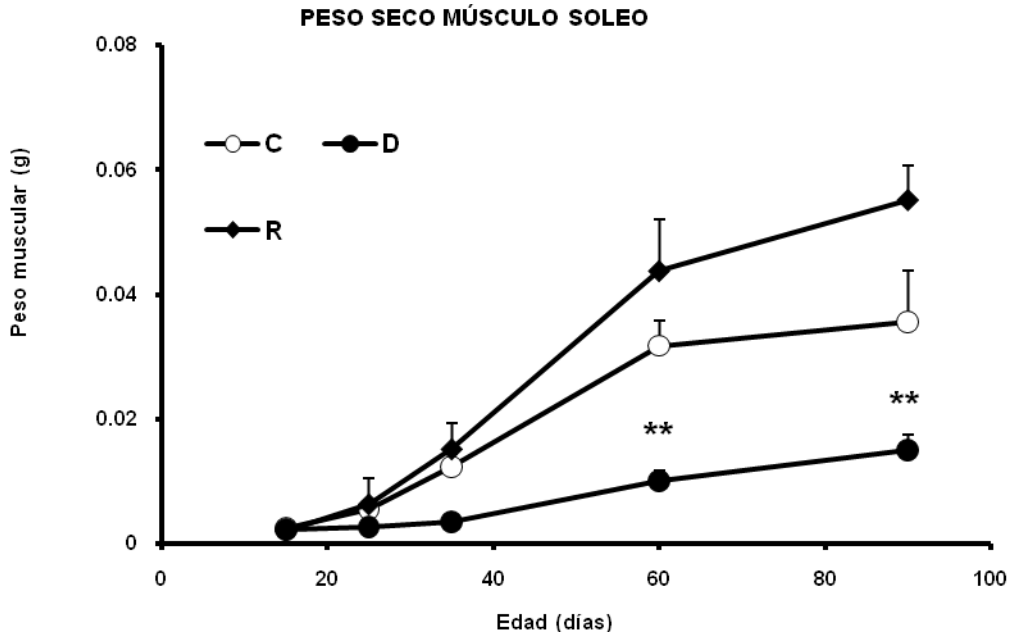


Figura 10. Peso seco promedio del músculo soleo de ratas controles (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) de distintas edades postnatales; las líneas verticales representan la desviación estándar; n= 8 animales por edad y por tratamiento. Los (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control.

## CANTIDAD DE AGUA.

Por lo anterior en la presente tesis se cuantificó la diferencia entre los pesos húmedo y seco de los músculos EDL y soleo con el objeto de conocer, de manera indirecta, la cantidad de agua contenida por los músculos de animales control, desnutridos y realimentados de las distintas edades estudiadas. Esto nos permitió establecer sí las diferencias encontradas en el peso de los músculos en estudio eran debidas a un decremento en la cantidad de agua o de tejido muscular.

Las figuras 11A y 12A muestran que en efecto, en los músculos EDL y soleo de ratas desnutridas se redujo la cantidad de agua, pero que tal decremento fue proporcional a la disminución de otros elementos presentes en estos músculos. Esto puede corroborarse al observar que los cambios registrados en los músculos de animales desnutridos, presentan un patrón similar tanto para los pesos húmedo (figs. 7 y 8) y seco (figs. 9 y 10), como para la cantidad de agua contenida en éstos (fig.11A y 12A), lo cual nos indica que la desnutrición afectó de igual manera a cada uno de estos parámetros.

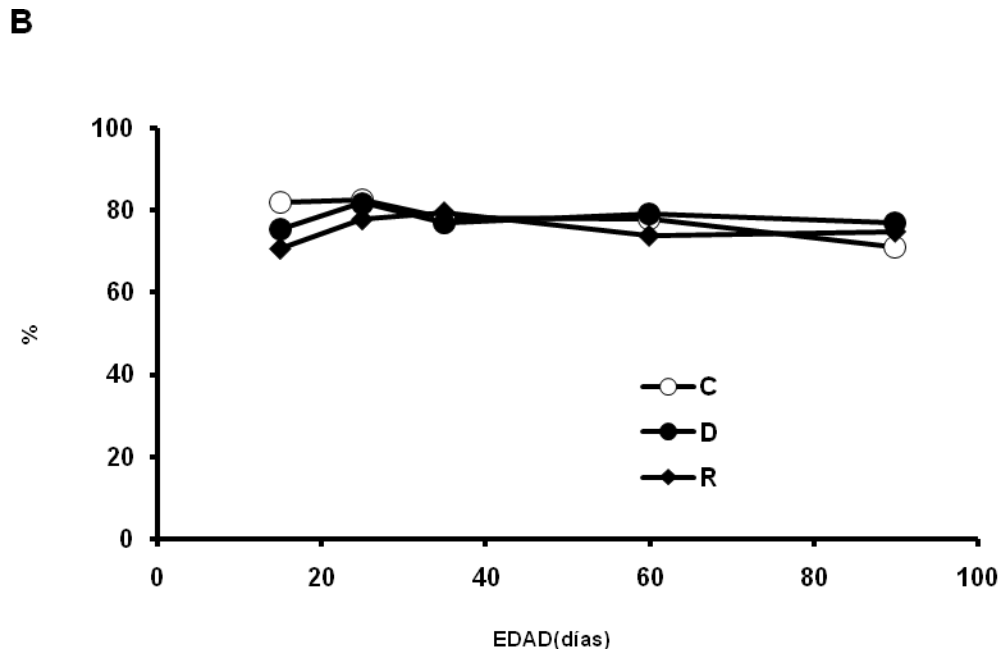
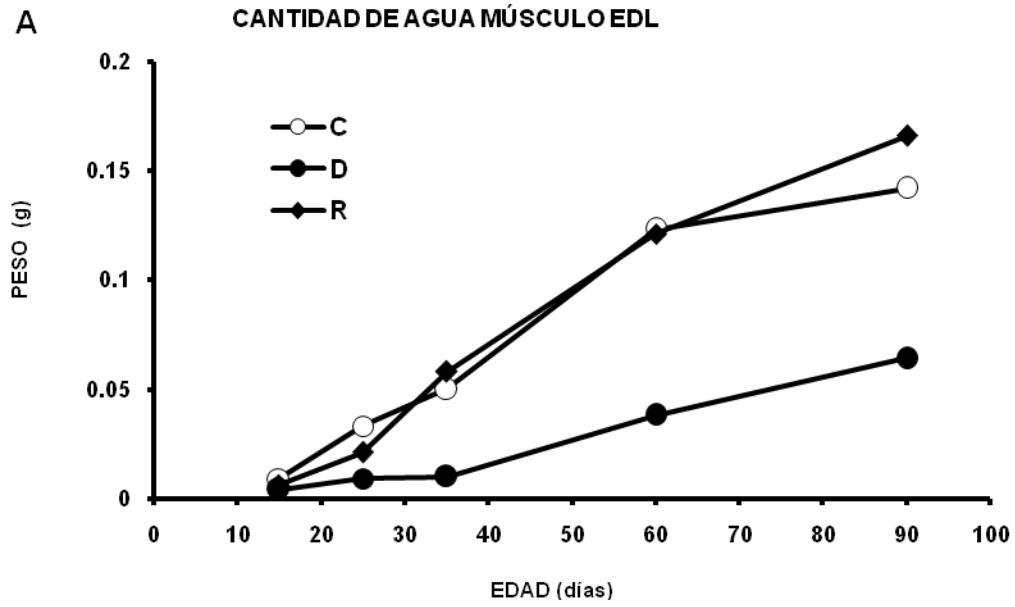


Figura 11. A) Cantidad de agua (g) contenida por el músculo EDL de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R). B) Porcentaje (%) de agua contenido en el músculo EDL de ratas sometidas a diferentes tipos de alimentación.

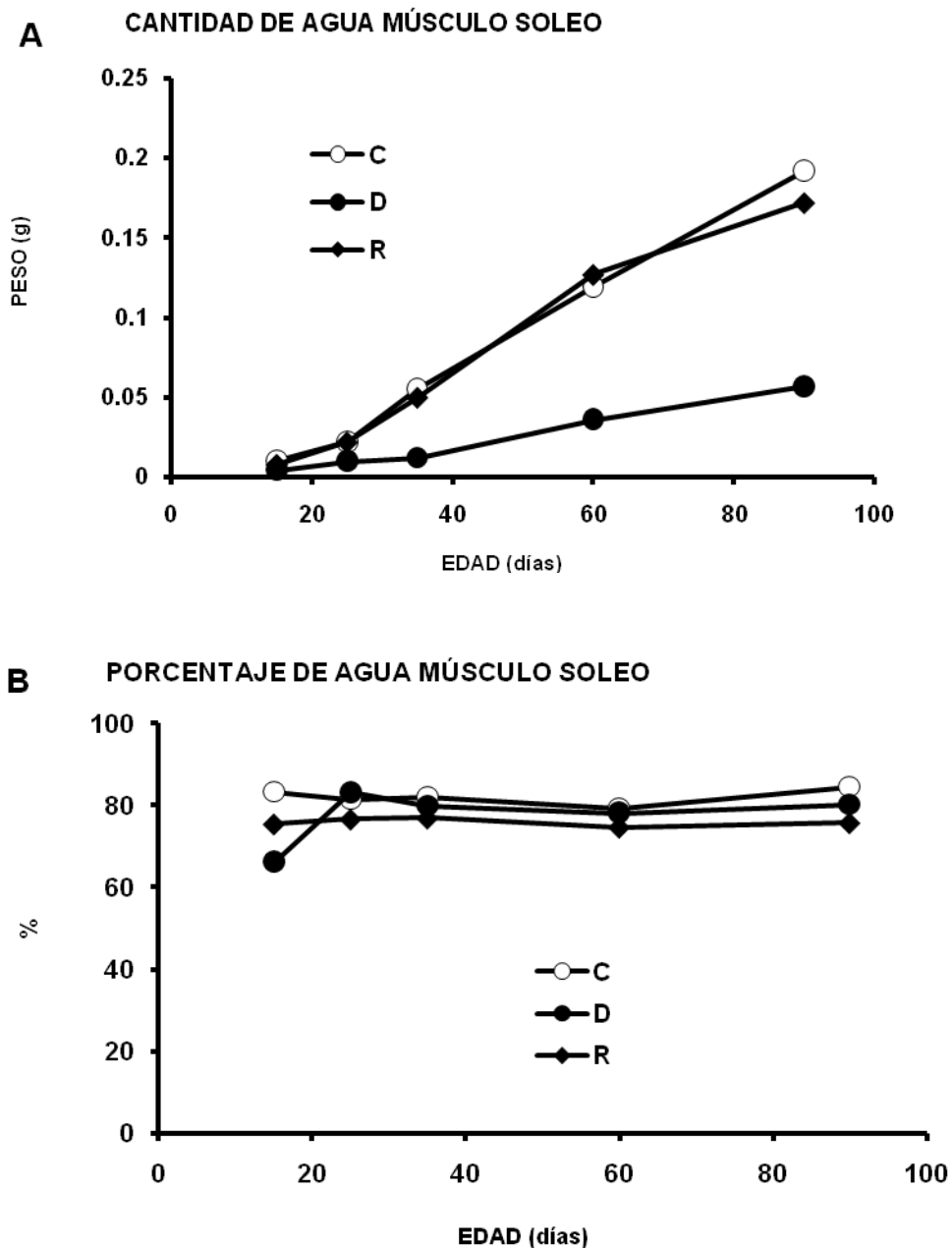


Figura 12. A) Cantidad de agua (g) contenida por el músculo soleo de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R). B) Porcentaje (%) de agua contenido en el músculo soleo de ratas sometidas a diferentes tipos de alimentación.

Por otra parte, a partir de la cantidad de agua (g) contenida por los músculos en estudio, se calculó el porcentaje de este elemento por edad y por tratamiento. Las figuras 11B y 12B muestran que el porcentaje de agua es semejante para los músculos EDL y soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas (ANOVA simple  $p > 0.05$ ), lo cual nos indica que las variaciones observadas en el peso

de tales músculos no están relacionadas con alteraciones en su contenido de agua y nos permite suponer que la desnutrición probablemente alteró la cantidad de proteínas presentes en los músculos de ratas desnutridas de distintas edades postnatales. Sin embargo, para probar esta hipótesis es necesario cuantificar la concentración de proteínas contenidas en los músculos EDL y soleo de los animales de distintas edades y sometidos a distintos tipos de alimentación.

### **TENSIÓN DESARROLLADA DURANTE UNA SACUDIDA SIMPLE.**

La fuerza generada por un músculo completo depende de su tamaño y de su peso, por lo que en el presente trabajo se normalizó la fuerza desarrollada por los músculos de animales control, desnutridos y realimentados con respecto al peso húmedo de cada uno de ellos. Nuestros resultados muestran que durante la sacudida simple, el músculo EDL de animales desnutridos con edades entre los 15 y los 35 días, genera una tensión/ g de tejido húmedo significativamente mayor que el mismo músculo de ratas control (figura 13 y cuadro 4), sin embargo, a los 60 y 90 días no se observaron diferencias significativas entre los grupos control y desnutrido. En cambio el músculo EDL de ratas realimentadas desarrolló una tensión por gramo de tejido húmedo semejante a la de los músculos de los animales control entre los 15 y 35 días de edad postnatal, pero a los 60 y 90 días mostró una tendencia a incrementarla.

El músculo soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas desarrolló una tensión estadísticamente igual en todas las edades registradas (figura 12 y cuadro 4), lo cual nos permite suponer que la desnutrición provoca alteraciones en el patrón de contracción del músculo EDL pero no del soleo.

El aumento en la tensión por gramo de tejido, en los músculos de sacudida rápida de animales desnutridos, podría estar relacionado con un posible incremento en la cantidad de elementos contráctiles contenidos por gramo de tejido; sin embargo esta explicación no es congruente con los resultados encontrados en relación a los pesos húmedo y seco de los músculos en estudio, ya que estos muestran una disminución proporcional en estos pesos para los músculos EDL y soleo de ratas desnutridas, con respecto a los de las ratas control y realimentadas. Lo anterior sugiere que los músculos de animales desnutridos presentan la misma proporción de elementos contráctiles por gramo de tejido húmedo, que los músculos de animales control y realimentados y que en los músculos rápidos de animales desnutridos fueron alterados los mecanismos que generan la fuerza

contráctil, por ejemplo éstos podrían presentar un incremento en la liberación del calcio o un enlentecimiento en la recaptura de éste ión.

Cuadro 4. Promedios  $\pm$  desviación estándar de la tensión generada durante la sacudida simple de los músculos EDL y soleo de animales control, desnutridos y realimentados de distintas edades postnatales.

SACUDIDA SIMPLE MÚSCULO EDL (TENSIÓN /g TEJIDO)			
EDAD (DÍAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	75.39 $\pm$ 13.36	220.93 $\pm$ 75.98	79.01 $\pm$ 47.60
25	79.24 $\pm$ 11.92	236.25 $\pm$ 54.20	132.26 $\pm$ 54.33
35	134.2 $\pm$ 27.45	297.67 $\pm$ 80.63	161.44 $\pm$ 36.23
60	98.73 $\pm$ 26.10	124.77 $\pm$ 35.00	175.82 $\pm$ 64.76
90	92.84 $\pm$ 20.28	107.58 $\pm$ 23.14	155.21 $\pm$ 90.46
SACUDIDA SIMPLE MÚSCULO SOLEO (TENSIÓN /g TEJIDO)			
EDAD (DÍAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	69.53 $\pm$ 34.05	66.37 $\pm$ 13.65	59.80 $\pm$ 55.25
25	87.60 $\pm$ 19.46	136.92 $\pm$ 26.78	107.36 $\pm$ 58.21
35	61.05 $\pm$ 16.15	126.96 $\pm$ 26.46	77.98 $\pm$ 28.01
60	50.64 $\pm$ 11.36	83.71 $\pm$ 9.78	88.80 $\pm$ 43.16
90	56.23 $\pm$ 8.47	92.78 $\pm$ 22.40	70.63 $\pm$ 21.48

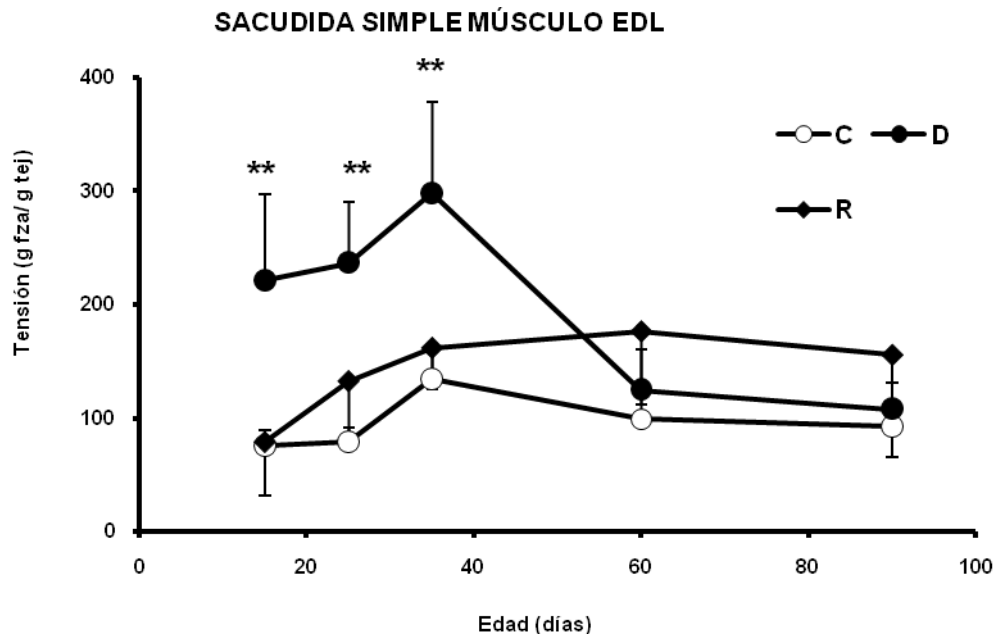


Figura 13. Tensión promedio generada por el músculo EDL de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) de distintas edades postnatales durante una sacudida simple. Las barras verticales representan la desviación estándar,  $n= 8$  animales por edad y tratamiento. Los asteriscos (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control.

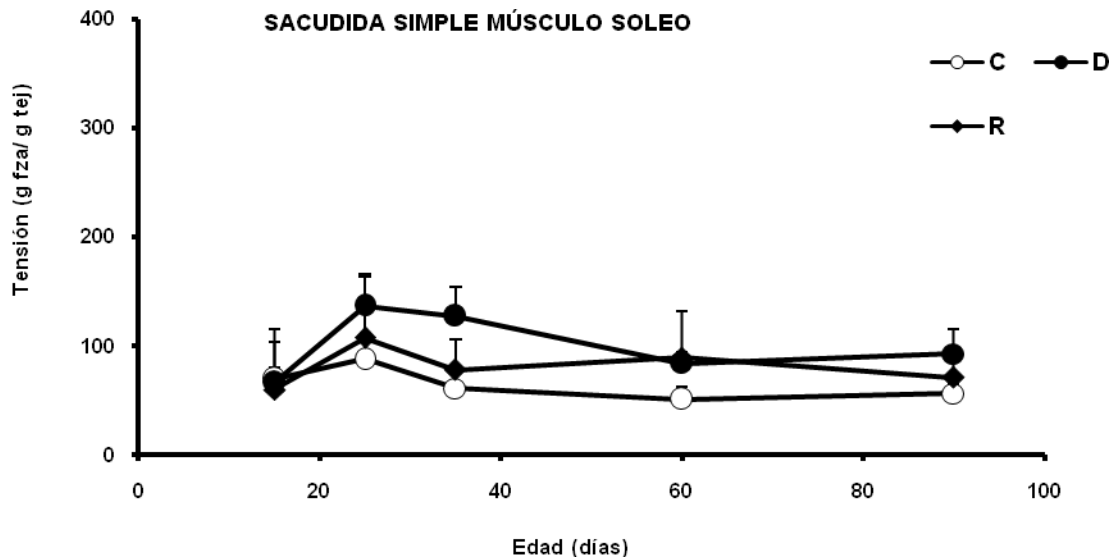


Figura 14. Tensión promedio generada por el músculo soleo de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) de distintas edades postnatales durante una sacudida simple. Las barras verticales representan la desviación estándar,  $n = 8$  animales por edad y tratamiento. Los (\*\*) indican diferencias significativas, respecto al grupo control.

### TENSIÓN DESARROLLADA DURANTE UNA CONTRACCIÓN TETÁNICA.

Durante una contracción tetánica los músculos alcanzan la máxima tensión que son capaces de desarrollar. Experimentalmente, un tétanos completo se obtiene estimulando al músculo en estudio con un tren de pulsos de alta frecuencia (entre 40 y 100 Hz). Por lo anterior, en el presente estudio los músculos EDL y soleo de ratas de diferentes edades y tratamientos fueron estimulados con trenes de pulsos de intensidad supra-máxima y frecuencia creciente, hasta lograr una contracción tetánica.

El músculo EDL del grupo desnutrido desarrolló mayor tensión entre los 15 y 35 días de edad (figura 15; cuadro 5), con respecto al grupo control. Lo mismo ocurrió con el músculo soleo, pero a los 25 y 35 días de edad (figura 16). En cambio a los 60 y 90 días de edad postnatal tanto el músculo EDL como el soleo, de animales control y desnutridos, desarrollan la misma tensión por gramo de tejido (figuras 15 y 16, cuadro 5). El grupo realimentado presentó tensiones similares a las del grupo control para ambos músculos en todas las edades registradas.



Los resultados antes descritos indican que la desnutrición provocó alteraciones de índole mecánico solamente en las etapas tempranas del desarrollo postnatal de la rata, las cuales en el caso del músculo EDL, probablemente estén asociadas con un retraso en el proceso de diferenciación de las fibras musculares lentas (predominantes en la etapa neonatal) a rápidas (características del animal adulto).

*Cuadro 5. Tensión desarrollada durante la contracción tetánica provocada sobre los músculos EDL y soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas de distintas edades postnatales.*

<b>CONTRACCIÓN TETANICA MÚSCULO EDL (TENSIÓN /g TEJIDO)</b>			
EDAD (DÍAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	282.20 ± 47.63	706.09 ± 293.00	350.79 ± 190.56
25	276.06 ± 158.77	589.94 ± 196.02	430.46 ± 201.01
35	415.16 ± 154.70	776.88 ± 283.76	371.06 ± 115.18
60	218.98 ± 24.29	467.09 ± 90.19	322.33 ± 139.89
90	456.16 ± 130.81	380.10 ± 70.33	395.06 ± 181.99
<b>CONTRACCIÓN TETANICA MÚSCULO SOLEO (TENSIÓN /g TEJIDO)</b>			
EDAD (DÍAS)	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	297.17 ± 99.04	349.73 ± 86.62	303.28 ± 175.44
25	404.34 ± 125.27	695.52 ± 241.82	436.16 ± 277.38
35	311.78 ± 104.72	669.84 ± 182.41	304.28 ± 158.27
60	257.85 ± 39.16	347.41 ± 94.76	431.08 ± 165.57
90	399.39 ± 93.14	429.63 ± 129.93	415.01 ± 116.52

*Cada valores representa el promedio ± la desviación estándar de 8 músculos.*

En el caso del músculo soleo, tal observación podría indicar la existencia de alteraciones metabólicas, ya que como es bien conocido, tanto los músculos de sacudida lenta como los de contracción rápida, modifican su metabolismo durante el desarrollo postnatal temprano (Rosser y cols., 1992). Tales alteraciones en la actividad metabólica de los músculos en desarrollo también podrían provocar el incremento en la tensión por gramo de tejido húmedo registrado en el músculo EDL de animales desnutridos.

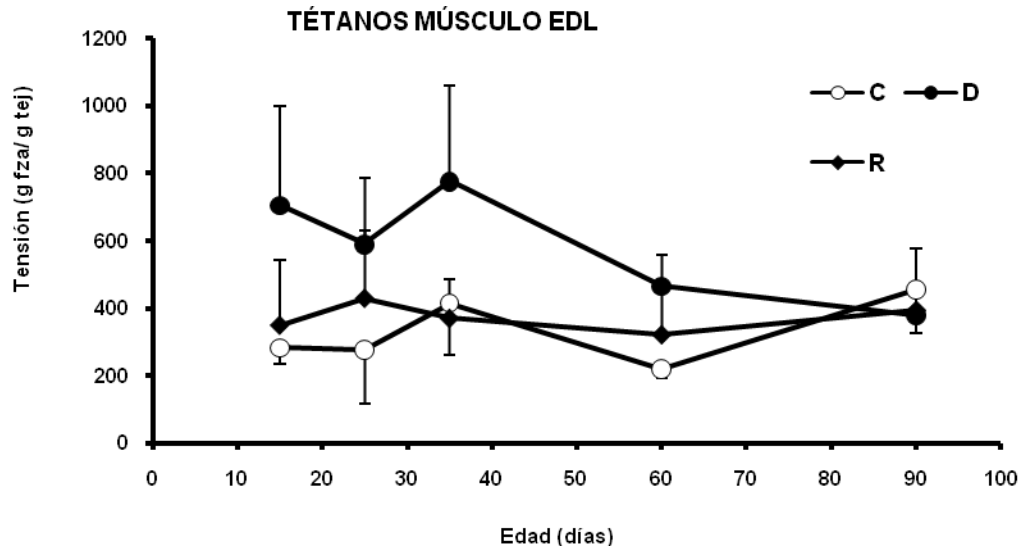


Figura 15. Tensión promedio generada por el músculo EDL de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) de distintas edades postnatales durante la contracción tetánica. Las barras verticales representan la desviación estándar,  $n = 8$  animales por edad y por tratamiento.

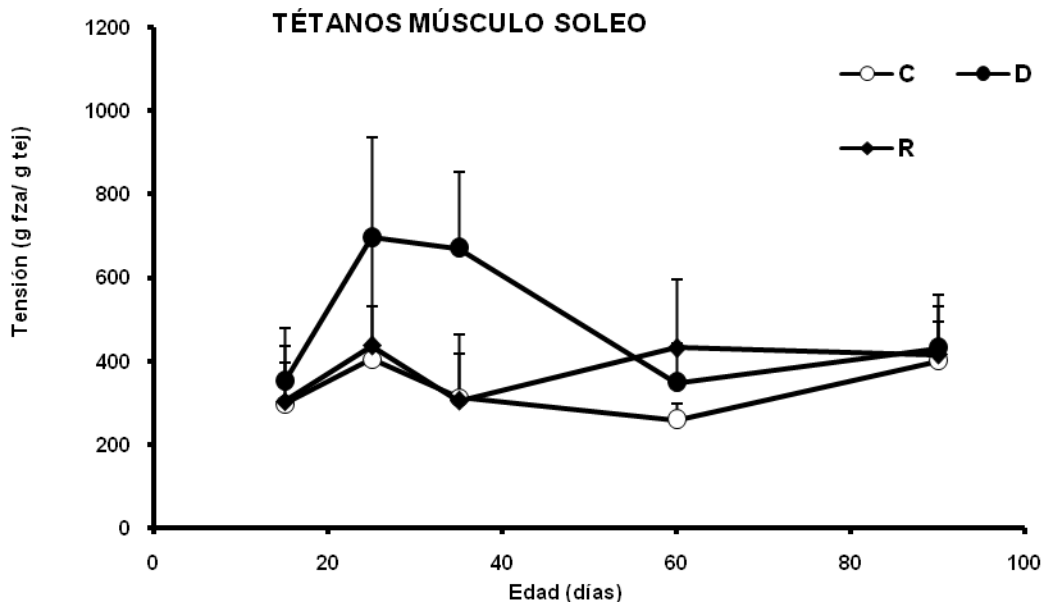


Figura 16. Tensión promedio generada por el músculo soleo de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) de distintas edades postnatales durante la contracción tetánica. Las barras verticales representan la desviación estándar,  $n = 8$  animales por edad y por tratamiento.

## TIEMPOS DE CONTRACCIÓN Y RELAJACIÓN.

Para establecer si la desnutrición perinatal afecta la duración del acople excitación–contracción, y si la realimentación postnatal contrarresta estos posibles efectos, se analizaron los tiempos al pico y de relajación durante una sacudida simple provocada por un estímulo único de intensidad supramáxima, en los músculos EDL y soleo de ratas con distintas edades y tratamientos. Nuestros resultados mostraron en primer lugar, que el músculo EDL presenta tiempos de contracción menores en comparación con los del soleo, lo anterior nos comprueba que a pesar de las alteraciones de la respuesta mecánica provocadas por la desnutrición, los músculos EDL de animales control, desnutridos y realimentados, presentan predominancia de fibras de sacudida rápida y los soleos de fibras lentas, respectivamente, (Takekura y Kasuga, 1999).

*Cuadro 7. Tiempos de contracción y relajación registrados en los músculos EDL y soleo de ratas de distintas edades y tratamientos.*

TIEMPOS DE CONTRACCIÓN						
	MÚSCULO EDL			MÚSCULO SOLEO		
EDAD (DIAS)	CONTROL	DESNUT	REALIMENT	CONTROL	DESNUT	REALIMENT
15	59.48 ± 8.16	97.86±38.8	87.72 ± 26.07	97± 21.8	150± 33.4	104.27 ± 43.63
25	51.27 ± 14.61	85.39 ± 38.8	74.2 ± 16.75	74.75 ± 21.78	149.02 ± 33.43	114.88 ± 27.9
35	56.75 ± 5.96	80.45 ± 20.37	81.81 ± 18.26	87.21 ± 13.49	157.67 ± 57.31	108.53 ± 22.85
60	64.81 ± 12.65	87.53 ± 18.52	86.06 ± 21.97	83.88 ± 24.46	184.55 ± 56.29	121.26 ± 18.48
90	68.51 ± 22.09	86.99 ± 22.95	81.45 ± 9.61	87.43 ± 50.96	179.31 ± 23.19	117.09 ± 34.68
TIEMPOS DE RELAJACIÓN.						
	MÚSCULO EDL			MÚSCULO SOLEO		
EDAD (DIAS)	CONTROL	DESNUT	REALIMENT	CONTROL	DESNUT	REALIMENT
15	119 ± 29.8	122 ± 39.1	165.25 ± 69.7	119	583	204.75 ± 76.9
25	129.19 ± 29.16	195.5 ± 87.65	131.23 ± 42.9	205 ± 38.37	457.79 ± 117.01	231.09 ± 109
35	101.88 ± 21	179.17 ± 50.52	132.24 ± 28	194.74 ± 83.72	421.51 ± 200.26	263.98 ± 51.4
60	104.57 ± 27.02	176.52 ± 68	149.5 ± 21	191.36 ± 63.15	422.02 ± 150.73	342.95 ± 96.3
90	125.22 ± 41.57	192.49 ± 64.92	141.23 ± 32.87	159.08 ± 86.52	420.02 ± 77.28	236.07 ± 86.6

*Cada valores representa el promedio ± la desviación estándar de 8 músculos.*

No obstante, el tiempo de contracción registrado en los músculos EDL y soleo de animales desnutridos y realimentados tiende a ser mayor que el de las ratas control (figuras 17 y 18, cuadro 7), lo cual nos permite suponer que los músculos tanto de sacudida rápida como de sacudida lenta de animales desnutridos y realimentados, tienden a presentar una mayor proporción de fibras lentas que los músculos de animales control. Ahora bien, también es posible que las diferencias encontradas en los tiempos de contracción de los músculos en estudio, sean provocadas por un incremento en la cantidad de elementos elásticos en los músculos desnutridos y realimentados, pero para probar esta hipótesis es necesario efectuar la cuantificación de los elementos elásticos contenidos por los músculos en estudio.

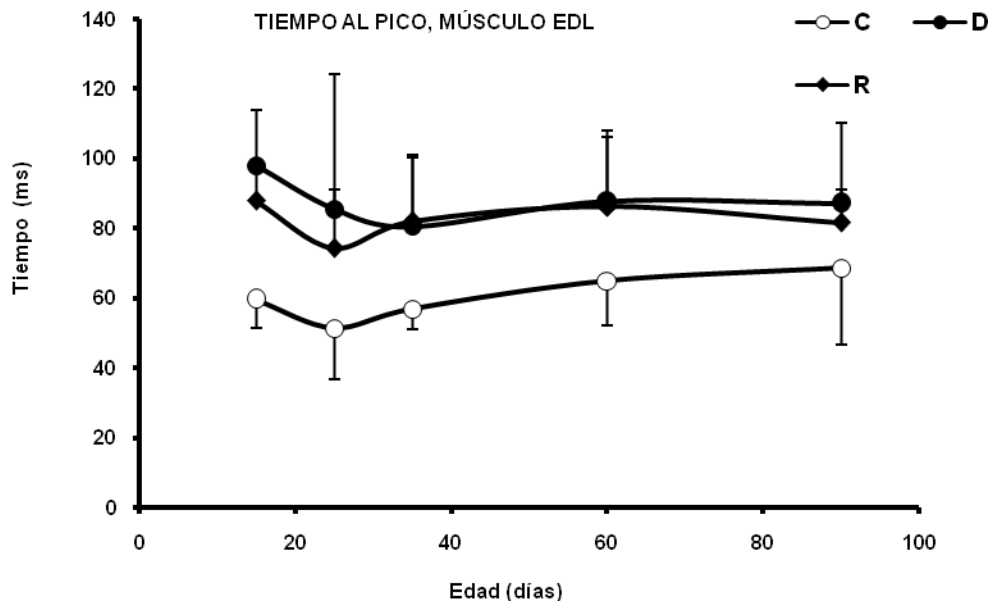


Figura 17. Tiempo de contracción durante la sacudida simple del músculo EDL, de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) con distintas edades postnatales. Cada punto representa el promedio de 8 animales, las líneas verticales representan la desviación estándar. Nótese la ausencia de diferencias estadísticamente significativas.

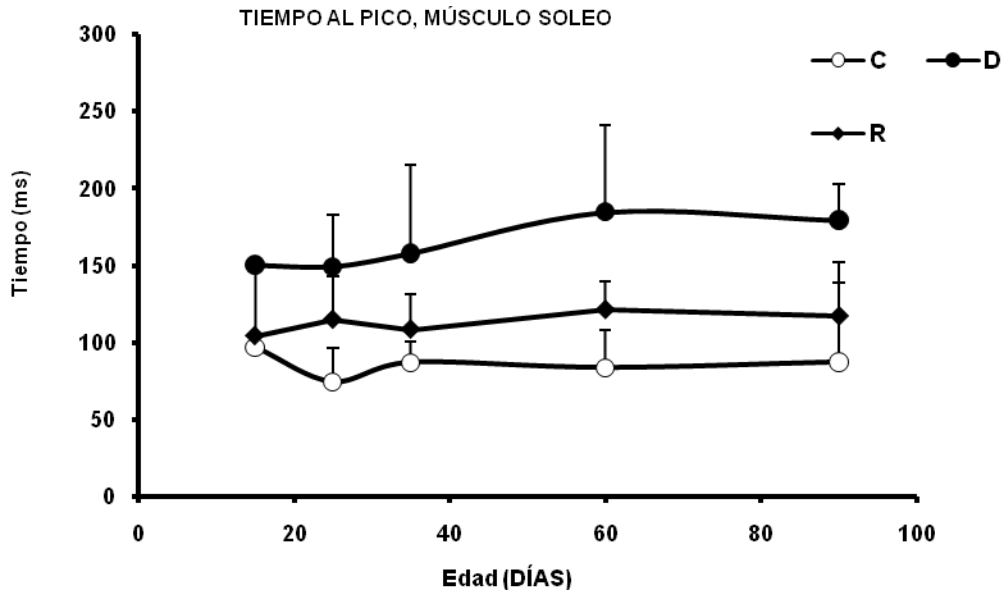


Figura 18. Tiempo de contracción durante una sacudida simple, del músculo soleo de ratas control(C), desnutridas (D) y realimentadas (R) con distintas edades postnatales. Cada punto representa el promedio de 8 animales, las líneas verticales representan la desviación estándar. Nótese que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos.

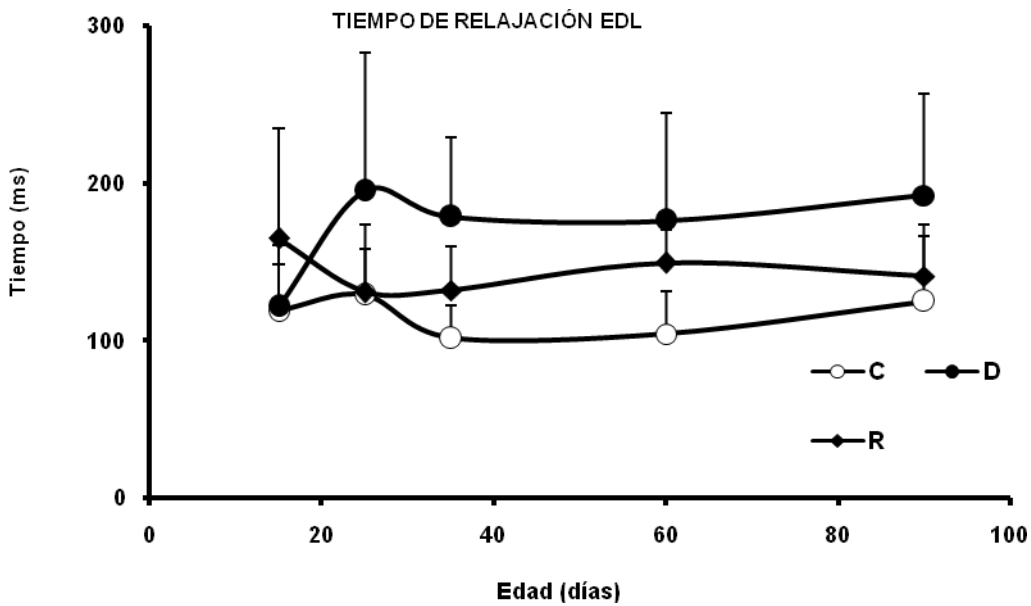


Figura 19. Tiempos de relajación durante una sacudida simple, del músculo EDL de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) con distintas edades postnatales. Cada punto es el promedio de 8 animales, las líneas verticales representan la desviación estándar.

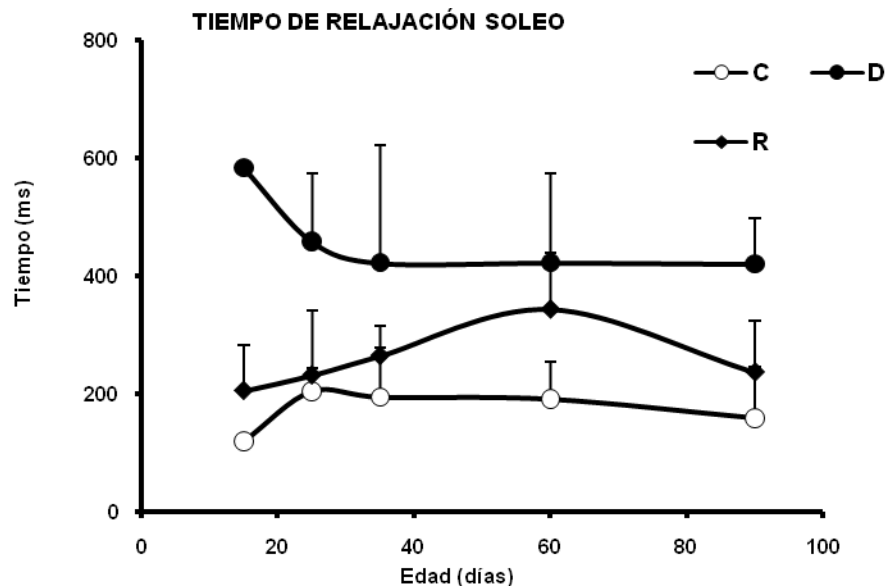


Figura 20. Tiempo de relajación, durante una sacudida simple, del músculo soleo de ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) con distintas edades postnatales. Cada punto es el promedio de 8 animales, las líneas verticales representan la desviación estándar.

Por otra parte, las figuras 19 y 20 muestran que los tiempos de relajación tanto para el músculo EDL como para el soleo fueron ligeramente mayores en el grupo desnutrido con respecto al control, pero dichas diferencias no fueron significativas; por otra parte, los animales realimentados presentaron tiempos de relajación muy similares a los del grupo control.

Todo lo anterior nos indica que las dietas administradas no afectan la reabsorción del ión calcio hacia el interior del retículo sarcoplásmico. Sin embargo, los resultados mostrados para el tiempo de contracción del músculo EDL fortalecen la hipótesis de que la desnutrición afecta selectivamente a las fibras de sacudida rápida (Mendias y cols., 2006; Prakash y cols, 1993; Ward, 1993).

### ÍNDICE DE FATIGABILIDAD.

El índice de fatigabilidad se ha utilizado como una medida indirecta de la proporción de fibras de sacudida lenta no fatigables (tipo I), de sacudida rápida no fatigables (tipo IIA o IIX) y de sacudida rápida fatigables (tipo II) presentes en los músculos (Bissonnette y Jeejeebhoy 1998). Este índice se obtiene a partir de la declinación en la fuerza desarrollada por los músculos durante una estimulación tetánica aplicada durante 10 segundos (Bissonnette y Jeejeebhoy 1998; Elder y Kakulas, 1993), utilizando para ello la siguiente relación:

Índice de fatigabilidad =  $100 - [(tensión\ al\ final\ de\ la\ meseta / tensión\ al\ inicio\ de\ la\ meseta) * 100]$

Este índice fue utilizado en el presente estudio para establecer de manera indirecta el tipo de fibra muscular predominante en los músculos EDL y soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas.

Cuadro 6. Índices de fatigabilidad de los músculos EDL y soleo de ratas de diferentes edades y tratamientos.

ÍNDICE DE FATIGABILIDAD.						
EDAD (DÍAS)	MÚSCULO EDL			MÚSCULO SOLEO		
	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO	CONTROL	DESNUTRIDO	REALIMENTADO
15	73.6 ± 19.7	51.3 ± 13.1	54.6 ± 29	29.6 ± 7.2	36.3 ± 9.9	36.5 ± 16.5
25	82.4 ± 11.9	51.5 ± 7.3	87.8 ± 20	38.7 ± 19.3	49.2 ± 32.7	63.8 ± 39.2
35	82.6 ± 15.1	42.6 ± 21.6	73.1 ± 31.2	27.9 ± 16.9	25.6 ± 9.6	45.1 ± 39.8
60	64.9 ± 8.8	53.8 ± 7.4	73.7 ± 24.2	25.4 ± 10.1	21.4 ± 7.8	33.5 ± 14.8
90	63.3 ± 8.9	56.4 ± 11.1	68.5 ± 18.9	20.5 ± 9.8	25.4 ± 8.2	23.7 ± 17.9

Cada par de valores representa el promedio ± la desviación estándar de 8 músculos.

Nuestros resultados muestran que el índice de fatigabilidad del músculo EDL de animales desnutridos, tiende a ser menor que el de las ratas control, desde los 15 hasta los 35 días de edad postnatal (figura 19 y cuadro 6), lo cual podría indicar que la desnutrición provoca un retraso en el proceso de diferenciación de las fibras de sacudida lenta (predominantes al nacimiento) a fibras de sacudida rápida (presentes en este músculo de animales adultos).

Por otro lado, los animales realimentados presentan los mismos índices de fatigabilidad que los animales control, pero únicamente a partir de los 25 días de edad postnatal. Este resultado sugiere que la realimentación neonatal es capaz de revertir las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre algunos parámetros (tensión desarrollada por gramo de tejido, tiempos al pico y de relajación) de la actividad contráctil de los músculos de sacudida rápida de la rata, sin embargo otros (como el índice de fatigabilidad) requieren de cierto tiempo para revertir las alteraciones que les provocó la dieta hipocalórica. En el caso del músculo soleo, encontramos que la desnutrición no alteró la fatigabilidad del mismo (figura 20 y cuadro 6), lo cual comprueba que la desnutrición afecta selectivamente a las fibras musculares de sacudida rápida.

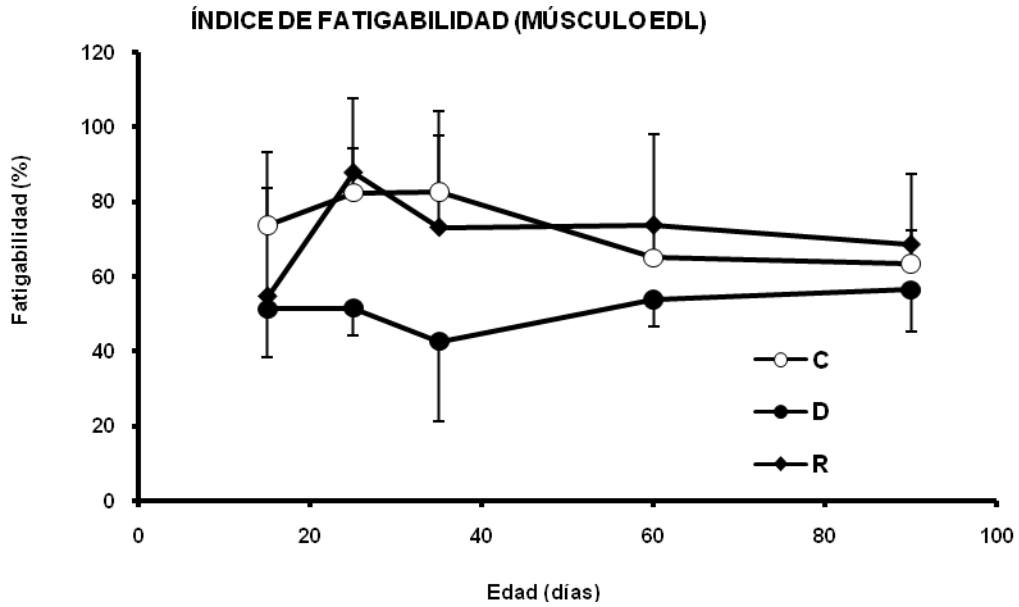


Figura 19. Índice de fatigabilidad del músculo EDL de ratas, controles (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) a distintas edades postnatales. Cada punto representa el promedio de 8 animales; las líneas verticales representan la desviación estándar.

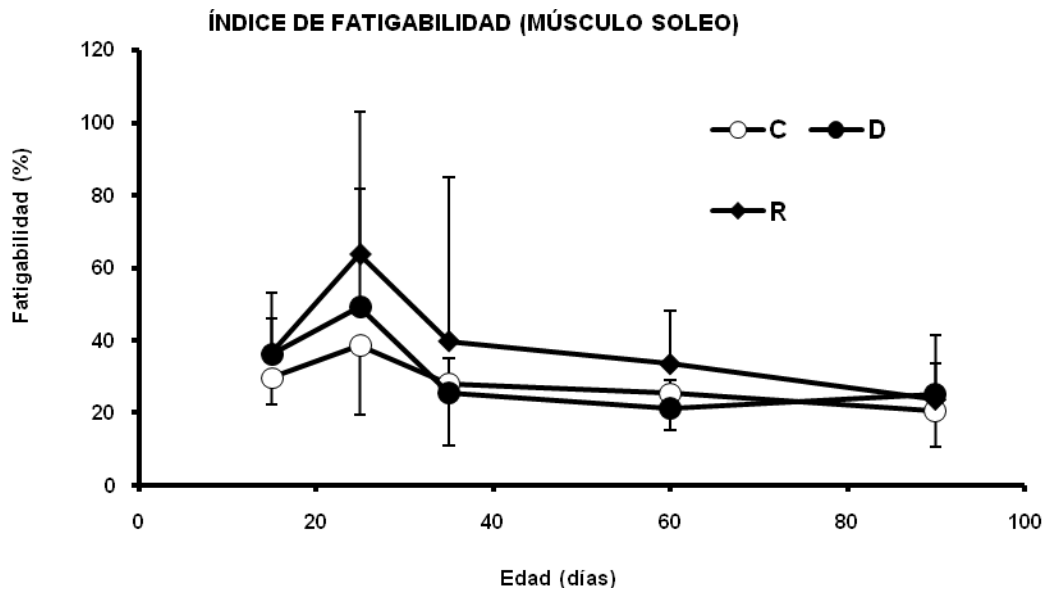


Figura 20. Índice de fatigabilidad del músculo soleo de ratas, controles (C), desnutridas (D) y realimentadas (R) a distintas edades postnatales. Cada punto representa el promedio de 8 animales; las líneas verticales representan la desviación estándar.



## DISCUSIÓN.

Las situaciones adversas en los periodos críticos del crecimiento prenatal definen permanentemente algunos cambios en el metabolismo del organismo. Los factores de crecimiento, los nutrientes y los agentes hormonales, son los principales elementos participantes en la programación intrauterina. El retraso en el crecimiento fetal, provocado por la desnutrición materna, aumenta el riesgo de padecer enfermedades crónicas en el animal adulto. Concretamente, la desnutrición ocurrida en etapas tempranas de la gestación, incrementa el riesgo de obesidad y no puede descartarse la predisposición a enfermedades cardiovasculares, del sistema nervioso y del sistema muscular de los animales desnutridos, ya que muchas de estas no son causadas por defectos genéticos, sino por alteraciones en la expresión génica, como respuesta a cambios ambientales ocurridos durante el desarrollo fetal, los cuales pueden afectar profunda e irreversiblemente las características fisiológicas y metabólicas del adulto (Zambrano y Guzmán, 2002).

Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran que los animales desnutridos en la etapa perinatal tuvieron un déficit de peso corporal de aproximadamente el 60 por ciento, y siendo el músculo esquelético el tejido más abundante del organismo y el que representa el mayor porcentaje del peso corporal (Mattiuzzi, 2000; Bissonnette, y cols, 1997), no es sorprendente la estrecha relación encontrada entre el decremento en el peso corporal y la reducción en los pesos húmedo y seco de los músculos EDL y soleo.

La considerable reducción en los pesos húmedo y seco de los músculos en estudio, posiblemente fue causada por una disminución en el diámetro, la longitud y/o el número de fibras musculares (Dwyer y cols, 1995; Brozanski y cols., 1993; Dwyer y Stickland., 1994; Koerts De Lang y cols., 1998; Ameredes y cols., 1999). Estas alteraciones a su vez podrían relacionarse con el decremento reportado en la síntesis de proteínas miofibrilares, en los músculos de animales desnutridos (Isselbacher y cols, 1998; Fiorotto y cols., 2000). Por otra parte, se ha reportado que los cambios derivados del aporte insuficiente de proteínas y de carbohidratos a través de la dieta, podrían provocar la activación de diversos mecanismos destinados a proporcionar la energía que los alimentos no brindan al organismo y que éste necesita para sobrevivir, entre ellos el catabolismo proteínico y la gluconeogénesis, (Desai y cols., 1996; Clapes, 1994; Ward, 1993). Además este efecto catabólico podría interferir con el proceso de formación de fibras musculares a partir de los depósitos de proteínas (Fiorotto y cols., 2000); lo cual explicaría la considerable reducción en el peso

de los músculos de animales desnutridos y hasta podría alterar la secuencia de cambios en la composición y funcionalidad de tales proteínas, que normalmente ocurren en el periodo postnatal temprano (Desai y cols., 1996; Brameld y cols., 1998; Lewis y cols., 2000). No obstante se ha reportado que la rehabilitación alimenticia restablece la tasa normal de síntesis y acumulación de proteínas e incluso puede provocar desequilibrios metabólicos que inducen el sobrepeso de los animales realimentados (Magnusson y cols., 1990; Desai y cols., 1996; Stickland y cols, 1991), por lo que no causa ninguna sorpresa el que los músculos de animales realimentados a partir del día cero postnatal presenten un peso igual o incluso mayor al de los animales control.

Por otra parte, el hallazgo de que el porcentaje de agua contenida en los músculos EDL y soleo de animales control, desnutridos y realimentados, se mantiene constante nos permite suponer que la disminución en el peso muscular observada en los animales desnutridos es debido a un decremento en la cantidad de proteínas contenidas en estos músculos. Sin embargo, para probar esta hipótesis es necesario cuantificar la concentración de proteínas contenidas en los músculos EDL y soleo de ratas control, desnutridas y realimentadas de las distintas edades.

En cuanto a la actividad contráctil del músculo esquelético de la rata en desarrollo, la observación más importante obtenida en este trabajo fue que el músculo EDL, de animales desnutridos desarrolla mayor fuerza por gramo de tejido que el mismo músculo de ratas control, tanto durante una sacudida simple como durante una contracción tetánica, lo cual no ocurrió en el músculo soleo. Esta observación nos permite proponer que la desnutrición ejerció un efecto selectivo sobre los elementos contráctiles de las fibras musculares de sacudida rápida y no sobre los elementos contráctiles de las fibras musculares lentas. Además podemos suponer que la preservación de las fibras musculares de sacudida lenta está relacionada con el hecho de que éstas son las principales componentes de los músculos antigravitatorios y cualquier alteración en su función podría comprometer la vida del animal, ya que le impediría estabilizar su cuerpo en respuesta a cambios en el medio ambiente o durante el inicio de movimientos voluntarios, como la locomoción (Brocard y cols., 1999).

No obstante, el incremento en la tensión desarrollada por gramo de tejido por los músculos rápidos de animales desnutridos, con respecto a los controles y realimentados, es inconsistente con la drástica disminución en el peso de éstos, pero podría explicarse suponiendo que los músculos de animales desnutridos presentaron una reducción en su volumen, pero aumentan la densidad de miofibrillas en las células musculares y por lo tanto la concentración de proteínas contráctiles por gramo de tejido, se mantiene inalterada en estos músculos (Segura 2003), siendo esta modificación

en el contenido miofibrilar lo que contribuye al incremento en la fuerza desarrollada por unidad de peso en el músculo EDL de las ratas desnutridas; sin embargo para comprobar esta hipótesis es necesario realizar mediciones de tipo histológico, que permitan conocer si la alimentación deficiente modifica el número y/o diámetro de las fibras de sacudida rápida, así como cuantificar la concentración de proteínas contenidas en los músculos de animales control, desnutridos y realimentados con el objeto de establecer si en efecto los músculos de ratas desnutridas contienen una mayor densidad de proteínas.

Ahora bien, el tiempo que le lleva a un músculo contraerse y/o relajarse refleja la proporción relativa de las fibras de sacudida rápida o de sacudida lenta que éste presenta (Goldspink, 2004; Bedi y cols., 1982), de manera que los músculos de sacudida rápida, como el EDL, presentarán tiempos de contracción y relajación menores que los de músculos de sacudida lenta como el soleo (Bedi y cols., 1982). La evidencia experimental obtenida en este estudio, muestra que los músculos EDL y soleo de los animales desnutridos y realimentados, tienden a contraerse y relajarse más lentamente que los mismos músculos de las ratas control, esto significa que la desnutrición prenatal modificó la proporción de fibras de sacudida rápida o lenta contenidas en cada músculo (Takekura y Kasuga, 1999) y que la rehabilitación alimenticia postnatal no fue capaz de revertir totalmente esta alteración. Por otro lado, el índice de fatigabilidad también nos permite inferir la proporción de fibras de sacudida rápida y de sacudida lenta presentes en un músculo, ya que la resistencia a la fatiga es otra de las propiedades contráctiles que distinguen a las fibras lentas oxidativas de las rápidas glucolíticas (Sieck y cols., 1996). El cálculo del índice de fatigabilidad nos permitió establecer el grado de transformación postnatal de las fibras musculares de lentas en rápidas y como ya se mencionó en la sección de resultados, el músculo EDL de animales control presenta índices de fatigabilidad mayores que los registrados en el músculo soleo, lo cual indica que en los animales alimentados con dietas *ad libitum*, predominan las fibras de sacudida rápida en el músculo EDL y de sacudida lenta en el soleo (Bissonnette y cols., 1997). Sin embargo el músculo EDL del grupo desnutrido presentó una menor fatigabilidad que el mismo músculo de animales control, mientras que los músculos de ratas realimentadas presentaron índices de fatigabilidad similares a los registrados en músculos control. Estas observaciones son consistentes con estudios de tipo histológico en los que se reporta que los músculos de animales sujetos a desnutrición prenatal exhiben una proporción reducida de fibras blancas, principales contribuidoras en el volumen de los músculos de sacudida rápida (Bedi y cols., 1982; Dwyer y cols., 1995). Además también se ha

reportado que la realimentación revierte esta alteración (De Lucas y cols., 1996). Lo anterior sugiere que la dieta deficiente provoca que los músculos de sacudida rápida presenten una mayor proporción de fibras lentas que los músculos de animales control y realimentados. No obstante, nuestros resultados muestran que esto ocurre únicamente entre los días 15 y 35 de edad postnatal, ya que los músculos de animales desnutridos de 60 y 90 días no mostraron diferencias respecto de los controles y los realimentados. Estos resultados nos permiten proponer que la desnutrición provoca un retraso en el proceso de diferenciación de las fibras musculares de lentas a rápidas. Sin embargo, para probar esta hipótesis es indispensable realizar observaciones de tipo histológico o inmuno – histoquímico que permitan comparar la proporción de fibras de sacudida rápida y lenta contenidas en los músculos de animales control, desnutridos y realimentados.

## **CONCLUSIONES.**

1. La desnutrición provocó una disminución significativa en el peso corporal de las ratas, pero esta se revierte con la realimentación a partir del día cero postnatal.
2. La desnutrición perinatal también provocó una disminución significativa en el peso de los músculos EDL y soleo de la rata en desarrollo, mientras que la realimentación revierte esta alteración.
3. La desnutrición perinatal provocó un aumento en la tensión desarrollada por gramo de tejido en el músculo EDL, lo cual podría asociarse con la alteración en el proceso de diferenciación de las fibras de sacudida rápida.
4. La realimentación neonatal, permitió que las fibras de sacudida rápida, presentes en el músculo EDL tuvieran un desarrollo postnatal semejante al de las fibras presentes en dicho músculo de animales controles.
5. La desnutrición no causó alteraciones aparentes sobre el patrón contráctil de las fibras de sacudida lenta (músculo soleo).

## BIBLIOGRAFÍA.

Aidley, D. J. (1989). The physiology of excitable cells. Second ed. Cambridge University Press. England.

Ameredes, B. T., J. F. Whatchko, M. J., Daood, J.F., Rosas, M.P., Donahoe y R. M., Rogers. (1999). Growth hormone restores aged diaphragm myosin composition and performance after chronic undernutrition. *J. Appl. Physiol.* 87(4) 1253 – 1259.

Barclay, C. J. (1996). Mechanical efficiency and fatigue of fast and slow muscle of the mouse. *J. Physiol.* 497 (pt 3) : 781 - 794.

Barreto, P. J., Santana, P. S., Martínez, G. C., Salas, I. A. M. (2000) Grupo de Apoyo Nutricional Hospitalario: Diseño, composición y programa de actividades. *Rev. Cubana. Aliment. Nutr.*; 14 (1): 55-64.

Bayol, S., Jones, D., Goldspink, G., y Stickland N. C. (2004). The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. *Br J Nutr.* 91 (3): 331 - 339.

Bedi, K. S. (2003). Nutritional effects on neuron numbers. *Nutr. Neurosci.* 6(3): 141 – 152.

Bedi, K. S., Birzgalis, A. R., Mahon, M., Smart, J. L., y Wareham, A. C. (1982). Early Undernutrition in rats. Quantitative histology from underfed young and refeed adult animals. *Br. J. Nutr.* 47: 417 – 431.

Bissonnette, D. J., y Jeejeebhoy, K. N. (1998). Feeding a low energy diet and refeeding a control diet affect glycolysis differently in the slow and fast – twitch muscles of adult male Wistar rats.

Bissonnette, J. D., Madapallimatam, A., y Jeejeebhoy, K. N. (1997). Effect of hypoenergetic feeding and high carbohydrates refeeding muscle tetanic tension, relaxation rate, and fatigue in slow and fast twitch muscles in rats. *Am. J. clin. Nutr.* 66: 293 – 303.

Blakburn, G. L. (2001) Pasteur quadrant and malnutrition. *Nature* 409 (18): 397 – 401.

Brameld, J. M., Buttery, J.P., Dawson, M. J., y Harper, M.M. (1998). Nutritional and hormonal control of skeletal muscle cells growth and differentiation. *Proc. Nutr. Soc.* 57: 207 – 217.

Brocard, F., Vinay, L., y Clarac, F. (1999). Development of hindlimb postural control during the first postnatal week in the rat. *Dev. Brain. Res.* 117: 81 – 89.

Brown, I. E., y Loeb, G. E. (2000). Measured and modeled properties of mammalian skeletal muscle: IV. dynamics of activation and deactivation. *J Muscle Res Cell Motil.* 21 (1): 47 – 33.

Brozanski, B. S., Watchko, J. F., O'Day, T. L., y Guthrie, R.D. (1993). Effect of undernutrition on contractile and fatigue properties of rat diaphragm during development. *J Appl Physiol.* 74 (5): 2121 – 2126.

- Clapes, E. J. 1994. Nutrición en la enfermedad respiratoria crónica. Arch Bronconeumol. 30: 70 – 73.
- Close, R. (1964). Dynamic properties of fast and slow skeletal muscles of the rat during development. J. physiol. 173: 74 – 95.
- Condon, K., Silberstein, L., Blau, H. M., Thompson, W. J. (1990). Development of muscle types in the prenatal rat hindlimb. Dev Biol. 138 (2): 256 - 274.
- De Lucas, R. P., Rodríguez, G. M. J.M., Calle, R. M. (1996). Fatiga muscular. En: Caminero, L. J.A., Fernández, F. L., editores. Actualizaciones SEPAR. Vol 2. Barcelona: Prous Science, pp. 97 - 122.
- Desai, M., Crowtheler, N.J., Lucas, A. y Hales, N. (1996). Organ selective growth in the offspring of protein restricted mothers. Brit. J. Nutr. 76:591 – 603.
- Dwyer, C. M., y Stickland, N.C. (1994). Supplementation of a restricted maternal diet with protein or carbohydrate alone prevents a reduction in fetal muscle fibre number in the Guinea pig. Br. J. Nut. 72(2): 173 – 180.
- Dwyer, C. M., Madgwick, A. J., Ward, S. S., y Stickland, N. C. (1995). Effect of maternal undernutrition in early gestation on the development of fetal myofibres in the guinea-pig. Reprod Fertil Dev. 7 (5): 1285 – 1292.
- Elder, G. C., y Kakulas, B. A. (1993). Histochemical and contractile property changes during human muscle development. Muscle Nerve. 16 (11): 1246 -1253.
- Fiorotto, M. L., Davis, T.A., y Reeds, P. J. (2000). Regulation of miofibrillar protein turnover during maturation in normal and undernourished rat pups. Am. J physiol. Regul. Integr. Comp. physiol. 278: 845 – 854.
- Ganong, W. F. (2006) Fisiología Médica. El manual moderno S.A, 20° edición. México D. F. pp 67 – 87.
- Goldspink, G. (1996) Muscle growth and muscle function: a molecular biological perspective. Res. Vet. Sci. 60: 193 – 204.
- Goldspink, G. (2004). Age-related loss of skeletal muscle function; impairment of gene expression. J Musculoskelet Neuronal Interact. 4 (2): 143 - 147.
- Goldspink, G., y Harridge, S. D. (2004). Growth factors and muscle ageing. Exp Gerontol. 39 (10): 1433 - 1438.
- Haltia, M., Berlin, O., Schucht, H., y Sourander, P. (1978) Postnatal differentiation and growth of skeletal muscle fibres in normal and undernourished rats. J. Neurol. Sci. 36: 25 - 39.
- Huxley, H. E. (2007). Evidence about the structural behavior of myosin cross bridges during muscle contraction. Adv Exp Med Biol. 592: 315 - 326.

Iossa, S., Lionetti, L., Mollica, M.P., Barletta, A., y Liverini, G. (1999) Energy intake and utilization vary during development in rats. *J. Nutr.* 129 : 1593 – 1596.

Isselbacher, K. J., Braunwal, E., Wilson, J. D., Martin, J. B., Fauci, A. S., y Kasper, D. L (1998). (ed). Harrison. *Principios de Medicina Interna*. Interamericana. Mc Graw – Hill, 13 ° edición vol. I pp 551 – 559.

Kandel, R.E., Schwartz, H. J., y Jessell, M.T. (2001). *Principios de neurociencia*. Editorial McGraw – Hill Interamericana. Madrid; México. pp. 674 – 693.

Kernell, D. (2006). *The motoneurone and its muscle fibres*. Capítulos 2 y 3. Oxford Univ. Press. Great Britain. Pp. 5-65.

Koerts De Lang, E., Schools, A. M., Wouters, E. F., Gayan, R. G., y Decramer, M. (1998). Contractile properties and histochemical characteristics of the rat diaphragm after prolonged triamcinolone treatment and nutritional deprivation. *J. Muscle. Res. Cell. Motil.* 19(5):549 –555.

Koldousky, O., Hahn, P., Hromadova, M., Krecek, J., y Macho, L. (1995). Late effects of early nutritional manipulations. *Physiol Res.* 44 (6): 357 - 360.

Lewis, A. J., Wester, T. J., Burn, D. G., y Dauncey, M. J., (2000). Exogenous growth hormone induces somatotrophic gene expression in neonatal liver and skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. comp.. Physiol.* 278 : 838 – 844.

Magnusson, K., Wahren, J., y Ekman, L. (1990). Protein synthesis in skeletal muscle during starvation and refeeding: comparison of data from intact muscle and muscle biopsy material. *Metabolism.* 39 (11): 1113 – 1117.

Mattiazzi, R. A. (2000). Músculo esquelético, cardíaco y liso (cap 4). En Cingolani, E.H y Houssay, B. A. Eds. *Fisiología humana*. Ed. El ateneo. 7 ° ed. Buenos Aires, Argentina pp 60 – 93.

Mckillup, S. (2006). *Statistics explained an introductory guide for life scientists*. Cambridge. pp. 96 – 149.

Mendias, C. L., Marcin, J. E., Calderon, D. R., y Faulkner, J. A. (2006). Contractile properties of EDL and soleus muscles of myostatin – deficient mice.

Morgane, P. J., Mokler, D. J., y Galler, J. R. (2002). Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampus formation. *Neurosci Biobehav Rev.* 26 (4): 471 - 483.

Nishio, M. L., y Jeejeebhoy, K. N. (1992). Effect of malnutrition on aerobic and anaerobic performance of fast and slow twitch muscles of rats.

Oron, U.; Maltz, L.; Shefer, G. y Eilam, D. (1998). Histology and enzymatic activity in the postnatal development of hindlimb muscles in rodents. *Physiol. Behav.* 15: 651-657.



Pereyra, V. J. (2002). Efecto de la desnutrición perinatal sobre el desarrollo postnatal de la respuesta contráctil de los músculos lentos y rápidos de la rata. Tesis de maestría en ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM.

Pette, D. y Staron, R.S. (2000). Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Mic. Res. Tech.* 50: 500-509.

Park, K. S., Kim, S. K., Kim, M. S., Cho, E. Y., Lee, K. U., Lee, J. H., Pak, Y. K., y Lee, H. K. (2003). Fetal and early postnatal protein malnutrition cause long-term changes in rat liver and muscle mitochondria. *J Nutr.* 133 (10): 3085 – 3090.

Popesko, P., Rajtová, V., y Horák, J. (1992) A colour atlas of the anatomy of small laboratory animals. Vol 2: rat, mouse and golden hamster (London: Wolfe Publishing Ltd).

Prakash, Y.S., Fournier, M., y Sieck, G. C. (1993). Effect prenatal undernutrition on developing rat diaphragm. *J. Appl. Physiol.* 75(3): 1044 –1052.

Rosser, B. W., Norris, B. J., y Nemeth, P. M. (1992).Metabolic capacity of individual muscle fibers from different anatomic locations. *J. Histochem Cytochem.* 40 (6): 819 – 825.

Schiaffino, S. y Reggiani, C. 1994. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 77: 493-501.

Schiaffino, S. y Reggiani, C. (1996). Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.* 76: 371-423.

Sanusi, J., Slawinska, U., Navarrete, R., y Vrbova, G. (2007). Effect of precocious locomotor activity on the development of motoneurons and motor units of slow and fast muscles in rat. *Behav Brain Res.* 178 (1): 1 – 9.

Segura, A. B. (2003). Efectos de la desnutrición y malnutrición sobre la actividad contráctil del músculo esquelético y el potencial de acción compuesto de nervios cutáneos en la rata en desarrollo. Tesis de doctorado. Instituto de Neurobiología, UNAM.

Sieck, G. C., Fournier, M., Prakash, Y.S., y Blanco, C. E., (1996). Myosin phenotype and SDH enzyme variability among motor unit fiber. *J. Apple. Physiol.* 80: 2179 – 2189.

Stickland, N. C., Widdowson, M. E., y Golspink, G. (1991). Effect of severe energy and protein deficiencies on the fibres and nuclei skeletal muscle of pigs. *Br. J. Nutr.* 34: 421 – 428.

Takekura, H., y Kasuga, N. (1999). Differential response of the membrane systems involved in excitation – contraction coupling to early and later postnatal denervation in rat skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil.* 20 (3): 279 – 289.

Ward, S. S. (1993). The effect of undernutrition in the early postnatal period on skeletal muscle tissue. *Br J Nutr.* 69 (1): 141 – 150.

West, J. M., Barclay, C. J., Luff, A.R., y Walker, D. W. (1999). Developmental changes in the activation properties and ultrastructure of fast- and slow - twitch muscles from fetal sheep. *J Muscle Res Cell Motil.* 20 (3): 249 - 264.

Winick, M. (1979). *Human Nutrition. Nutrition pre and postnatal development.* Plenum. Press. New York. U.S.A.

Zambrano, E., y Guzmán, C. ( 2002). Desnutrición intrauterina y factores de riesgo de la obesidad. *Nutrición clínica.* Volumen 5. Número 4. p 241.