



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL**

ESTUDIO DEL FENOTIPO CELULAR EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO DEL CABALLO DURANTE LA ANESTESIA GENERAL

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

OMAR ABED TORRES SEGURA

TUTOR:

Eugenio Quiroz Rothe

COMITÉ TUTORAL:

**Enrique Núñez Hernández
Carlos Gerardo García Tovar**

México D.F.

2011



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.

**ESTUDIO DEL FENOTIPO CELULAR EN
EL MÚSCULO ESQUELÉTICO DEL
CABALLO DURANTE LA ANESTESIA
GENERAL**

“La educación es la práctica de la libertad”

Paulo Freire 1967

DEDICATORIA

Prof. Víctor Manuel Torres Herrera

Lidia Segura Martínez

Simplemente por ser mis papás.

Porque gracias a ustedes he alcanzado mis mayores logros.

A mis hermanos:

Alayde Concepción Torres Segura y Víctor Israel Torres Segura

Porque son el motor y la razón de ser de mis padres

A mi familia

Torres-Herrera *** Segura-Martínez

*Ikus †

*Merlina *Mota * Monet

*Pichi *Macha *Mosa *Perlita *Gregorio *Camila†

AGRADECIMIENTOS

A la

Universidad Nacional Autónoma de México

Mi casa, Mi ser, Mi todo

Al Hospital de Medicina, Cirugía y Zootecnia del Departamento de Equinos de la FMVZ
Por haberme acogido durante mi estancia en el posgrado

A Verónica y su equipo del Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina

A mi comité tutorial:

Dr. Eugenio Quiróz Rothe

Dr. Enrique Núñez Hernández

Dr. Carlos Gerardo García Tovar

Al Dr. Enrique Núñez Hernández

Por todos los momentos de enseñanza y aprendizaje. Porque gracias a sus consejos y admoniciones salí adelante durante mi estancia en el posgrado.

A mis maestros:

MC. Alma García Lascuraín

Dra. Sara Caballero Chacón

Dra. Patricia Segura

Dr. Alejandro Rodríguez Monterde

Dr. José Luis Velázquez

*“Todo éxito en la vida, siempre tiene una pequeña parte y la influencia de todos los
que estuvieron a tu lado”*

José Alfredo García Cerna * Mauricio Villegas Mota

Adrian González Jiménez * Alejandra Campos Hernández

Julieta Pedernera * Ximena Padilla Fragoso * Liliana Ramírez Olivares

Aldo Torres Amos * Pamela Díaz * Gabriela Ruano

Cintia Sánchez * Ana Laura Tapia * Carlos Ayala * Elsa Gamboa

Iván Torres García * Isabel Villegas Mota

Elizabeth Moreno López * Gilberto Flores * Sergio Main

Gris Roldan * José Luis León Linares * Karla Moreno

Charo Mondragón * Mariana Otero * Marilú Bain

Moisés Valderrama Saborio * Oscar Órnelas

Ricardo Hernández Vizzuet * Gerardo Alcalá

Rosalba Aguirre * Gabriel Rueda * Lorena Jiménez Naranjo

Alicia Zúñiga * Zazil Ku Quintana * Analuz Pérez

Gracias por ser, y estar

RESUMEN

No existen estudios sobre cambios en el fenotipo de las fibras musculares en el caballo durante la anestesia. Por ello es necesario conocer el efecto morfológico, metabólico y contráctil sobre las miofibras, anticipándose a la presentación de miopatías post-anestésicas. El objetivo de este trabajo fue dar a conocer las características fenotípicas celulares del músculo esquelético del caballo durante la anestesia inhalada utilizando el protocolo anestésico de xilacina-ketamina-isofluarano, determinar el probable tiempo en el que se presentan los cambios morfológicos, metabólicos y contráctiles de las fibras musculares, correlacionar estos cambios entre los caballos colocados en decúbito dorsal (DD) y decúbito lateral (DL). Para ello, se realizó un muestreo no probabilístico donde se incluyeron 5 caballos clínicamente sanos, criollos, de entre 5 a 7 años y un peso promedio de 300 Kg. Los caballos fueron alimentados con forraje de avena y agua *add-libitum*, y se mantuvieron en condiciones de estabulación. Los caballos fueron anestesiados en dos ocasiones en dos diferentes posiciones: DL y DD. Se obtuvieron muestras musculares y sanguíneas de los caballos antes y durante la anestesia. Los parámetros basales se tomaron de los animales antes de la anestesia y se compararon con los obtenidos durante este proceso a los 20, 60, 90 y 120 minutos. Se llevaron a cabo técnicas especializadas para la obtención, conservación y transporte de las biopsias musculares. Se realizaron cortes histológicos así como de técnicas histológicas e histoquímicas para determinar la morfología, metabolismo y la capacidad contractil de las miofibras. La digitalización de las imágenes y el análisis de los cortes histológicos se realizaron mediante una cámara de alta resolución y un software especializado. Así, se determinó un valor de densidad óptica como referencia, como valor mínimo en cada muestra analizada. Se utilizó un programa (InfoStat-Statistical Software Inf) donde se hicieron cálculos de estadística descriptiva, medias y errores estándar de la media del área transversal fibrilar, número de capilares, núcleos, así como de los valores obtenidos de la densidad óptica del metabolismo celular. Estadísticamente, la mayoría de los cambios que se observaron fueron en el metabolismo muscular, presentándose pocos cambios a nivel de la arquitectura miofibrilar. Los cambios se presentaron principalmente en el metabolismo de las fibras musculares de los animales en ambos casos (DD y DL), con pocos cambios en su morfología. No se puede inferir con certeza si los cambios presentados en este trabajo están ligados a algún tipo de suceso que nos pueda dar un indicio que origine un problema patológico en el músculo esquelético. De esta manera, este estudio pretende dar las bases para que a futuro se pueda realizar un análisis más profundo en este sentido.

Palabras clave: Caballo, músculo, anestesia, metabolismo

Abstract

There are no studies on changes in the phenotype of muscle fibers in the horse during anesthesia. It is therefore necessary to know the effect morphological, metabolic and contractile myofibers on anticipation of the filing of post-anesthetic myopathies. The aim of this study was to report the phenotypic characteristics of skeletal muscle cell of the horse during anesthesia using inhaled anesthetic protocol xylazine-ketamine-isofluarano, determine the probable time when morphological changes occur, metabolic and contractile muscle fibers, correlate these changes among the horses placed in the supine position (DD) and lateral (DL). To do this, we performed a non-probability sampling which included 5 clinically healthy horses, Creole, ages 5 to 7 years and an average weight of 300 kg. The horses were fed forage oats and water *add libitum*, and kept in conditions of confinement. The horses were anesthetized twice in two different positions: DL and DD. Muscle samples were obtained and blood of horses before and during anesthesia. The baseline parameters were taken from animals before anesthesia and compared with those obtained during this process at 20, 60, 90 and 120 minutes. Were carried out specialized techniques for the collection, storage and transport of muscle biopsies. Histological sections were performed and histological and histochemical techniques to determine the morphology, metabolism and contractile capacity of myofibers. The digitization of images and analysis of histological cuts were performed using high-resolution camera and specialized software. Thus, we determined the optical density value as a reference, as a minimum value for each sample analyzed. We used a program (Statistical Software InfoStat-Inf), where estimates were descriptive statistics, means and standard errors of the mean fibril cross-sectional area, number of capillaries, nuclei, as well as the values obtained from the optical density of cell metabolism. Statistically, most changes were observed in muscle metabolism, with few changes at the myofibrillar architecture. The changes were mainly in the metabolism of muscle fibers of animals in both cases (DD and DL), with little change in morphology. Can not be inferred with certainty whether the changes presented in this paper are linked to some kind of event that can give us an indication that results in a pathological problem in skeletal muscle. Thus, this study aims to provide the foundation for the future can make a deeper analysis in this regard.

Keywords: Horse, anesthesia, muscle, metabolism

CONTENIDO

Introducción.....	11
1. Marco teórico.....	13
1.1 Estructura del músculo esquelético del caballo	13
1.2 Metabolismo muscular.....	14
1.3 Adaptación del músculo esquelético.....	15
1.4 Clasificación de los tipos de fibras musculares en el caballo.....	17
1.5 Tinciones histológicas e histoquímicas.....	20
1.6 Anestesia.....	21
1.6.1 Xilacina.....	21
1.6.2 Ketamina.....	22
1.6.3 Combinación anestésica: xilacina-ketamina.....	23
1.6.4 Isoflurano.....	24
1.6.5 Metabolismo muscular durante la anestesia	25
2. Hipótesis.....	27
3. Objetivos.....	28
3.1 Objetivo general.....	28
3.2 Objetivos particulares.....	28
4. Materiales y métodos.....	29
4.1 Manejo de los animales	29
4.2 Obtención y manejo de las biopsias musculares antes de la anestesia.....	29
4.3 Manejo anestésico de los caballos.....	30
4.4 Obtención y manejo de las muestras musculares durante la anestesia....	32

4.5 Manejo de las muestras musculares en el laboratorio	32
4.6 Técnicas histológicas e histoquímicas.....	33
4.7 Tipificación de las fibras musculares.....	33
4.8 Análisis de los cortes histológicos	34
4.9 Análisis estadístico.....	35
5. Resultados	36
5.1 Arquitectura fibrilar.....	37
5.2 Metabolismo muscular.....	40
5.3 Resultados de las pruebas de histoquímica	41
6. Discusión.....	44
7. Conclusiones.....	49
8. Literatura citada	50
9. Anexo (cuadros y figuras).....	60

INTRODUCCIÓN

El estudio del músculo esquelético del caballo se ha orientado en comprender el proceso de adaptación de este tejido frente a estímulos fisiológicos, patológicos y farmacológicos. En este sentido es necesario conocer el efecto morfológico, metabólico y contráctil durante la anestesia, anticipándose a la presentación de miopatías post-anestésicas, las cuales representan un porcentaje importante como factor de riesgo o fracaso del proceso anestésico-quirúrgico en el caballo.

Los músculos que con mayor frecuencia suelen afectarse durante la anestesia general son el tríceps braquial, supraespinoso, infraespinoso, pectorales, braquiocefálico, deltoides o los maseteros, cuando los caballos son colocados en posición de decúbito lateral (DL). Los músculos glúteos o largo dorsal, resultan afectados cuando los caballos son colocados en decúbito dorsal (DD) (Muir, 1991; Mansmann et al., 1982,). Sin embargo, mantener un caballo en decúbito dorsal durante un largo período de anestésico, puede llegar a tener mayores complicaciones a nivel muscular, al momento de la recuperación. Así mismo, se sabe que dos de las complicaciones más comunes en el caballo durante la anestesia son: entre otros factores, hipotensión e hipoxemia (Richey et al. 1990; Rijkenhuizen y van Dijk, 1998; White, 1986; Grandy et al, 1987; Dodman et al. 1988; Lindsay et al. 1980), y están íntimamente relacionadas con necrosis muscular causada directamente por la isquemia (Friend, 1981; Branson y et al, 1992). La isquemia es causada por la disminución en la perfusión muscular como resultado directo de la anestesia debido a la hipotensión por la que algunos caballos pueden llegar a cursar durante este proceso. Hoy en día, estos cambios tienen dos componentes fisiopatológicos que los pueden originar: Una baja en la perfusión, secundaria a la hipotensión, y ocasionan un incremento en la presión muscular

intracompartamental (PMIC) (Lindsay et al, 1980, 1985; Grandy et al, 1987; Dodman et al, 1987; Richey et al, 1990).

El resultado de la hipotensión es la disminución en la perfusión a través de la red vascular. Si la presión dentro del músculo incrementa mientras que la presión arterial media permanece constante o disminuye, la perfusión vascular a través de los tejidos se va a ver disminuida, desencadenando el síndrome compartamental (Heppenstall et al, 1988). Además, cuando el caballo comienza a moverse o se incorpora, se produce un incremento transitorio del lactato sérico debido a reperfusión de las áreas comprimidas durante el decúbito (García, 2002; Núñez, 2002), lo que favorece a esta serie de cambios a nivel muscular.

Justificación

El análisis de las fibras del músculo esquelético del caballo durante la anestesia general permitirá diagnosticar de manera precoz las alteraciones morfológicas y metabólicas de este tejido frente al estímulo farmacológico de los anestésicos utilizados en el presente estudio. El estudio de estas nos puede orientar sobre las alteraciones o cambios que se pueden llegar a presentar después de la anestesia en el músculo esquelético del caballo.

No existen datos sobre los cambios morfológicos y metabólicos de las fibras musculares durante la anestesia en el caballo que detallen los cambios morfológicos y metabólicos frente a este estímulo farmacológico. Por otra parte diferentes estudios detallan cambios a nivel del metabolismo del caballo durante la anestesia, sin embargo estos trabajos se enfocan a evaluar los cambios enzimáticos como lactato, electrolitos y sustancias propias del estrés (cortisol y catecolaminas) en sangre durante y después de la anestesia (Lindsay, et al, 1980; White, 1986; Robertson, 1987; Richey, et al; 1990; Luna et al; 1996). Otros estudios hablan de los cambios que se presentan en el músculo esquelético con base algunos componentes del plasma, tales como glucosa, glicerol, urea y lactato posterior a un proceso anestésico de larga duración (Edner et al; 2005; Edner et al., 2009). Debido a lo anterior, se requiere de saber en qué momento, durante la anestesia, se pueden llegar a generar cambios a nivel de las fibras musculares en todos aquellos caballos que por algún proceso patológico puedan ser sometidos a un proceso de anestesia general inhalada. Así mismo, el

presente estudio pretende dar un enfoque objetivo sobre las modificaciones a las que se enfrenta el músculo esquelético durante la anestesia general inhalada, con el fin de ofrecer datos precisos a nivel celular, tanto morfológicos y metabólicos, los cuales puedan ser un apoyo de diagnóstico clínico en caballos que tengan una alta posibilidad de desarrollar alguna alteración muscular durante la anestesia general

MARCO TEÓRICO

1. ESTRUCTURA DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO DEL CABALLO

El músculo esquelético representa del 40 al 50% del peso corporal en los vertebrados. De este valor, del 75 al 90 % son miofibras (Dubowitz, 1985; Fawcett, 1986). Las miofibras son células alargadas, de varios milímetros, multinucleadas apariencia estriada en cortes longitudinales. Esto se debe a que sus unidades contráctiles, denominadas sarcómeros, están dispuestas en serie y están formados por miofilamentos gruesos (miosina) y delgados (actina), cuyo deslizamiento durante la contracción origina un acortamiento del sarcómero y la producción de fuerza activa a través del citoesqueleto, la cual es transmitida hasta el tejido conectivo extracelular primero y por medio de los tendones, hacia el esqueleto (Andrews, 1986; Fawcett, 1986).

Mientras que el tamaño del músculo es importante para delimitar la fuerza de contracción, el arreglo estructural de la sarcómera es todavía más importante para generar esa fuerza de contracción (Sacks, 1982). Las fibras musculares se componen de una membrana plasmática (sarcolema), varios núcleos en posición periférica y una morfología alargada (Brooke, 1970). La red neurovascular penetra al tejido muscular a través de los septos del tejido conjuntivo. El sarcolema se continúa con un sistema de túbulos transversales (túbulos T), relacionados con el retículo sarcoplásmico, organelo cuya función es la movilización de calcio de esta estructura (Pette, 1980; Berchtold et al, 2000). Las fibras musculares esqueléticas se caracterizan por la presencia de miofibrillas. Estas estructuras son responsables de la contracción, tienen una forma cilíndrica alargada (1 a 3 μm de diámetro), corren paralelas al

eje longitudinal de la célula (Pette, 1980; Alberts et al, 2004). Las miofibrillas son estructuras proteicas que se localizan en el citoplasma fibrilar (sarcoplasma), que contiene grandes cantidades de potasio, magnesio y fosfato, enzimas de las rutas metabólicas y un elevado número de mitocondrias dependiendo del tipo celular (Reggianni, 2004;). Las miofibrillas están formadas por miofilamentos delgados y gruesos, los que muestran una apariencia de bandas claras y oscuras que se repiten a lo largo de cada miofibrilla, determinando la organización de las sarcómeras. Los miofilamentos se dividen en filamentos individuales, compuestos por proteínas contráctiles y no contráctiles. La miosina es la proteína contractil mayoritaria del músculo y es el principal constituyente del aparato contráctil. Otras proteínas miofibrilares son: actina, troponina, tropomiosina, titina y las proteínas de la línea Z y línea M y las extramiofibrilares como las que se hallan en el retículo sarcoplásmico (Reggianni, 2004; Talmadge et al, 1993).

Las miofibras se organizan funcionalmente en unidades motoras, que corresponden al grupo de miofibras inervadas por una misma α -motoneurona procedente de la médula espinal (Ashmore, 1971). El tipo y el número de unidades motoras activadas en cada contracción muscular dependen de la naturaleza, intensidad y duración del ejercicio realizado conforme al principio universal de economía biológica, esto es, a mayor carga o volumen de trabajo mayor tasa de activación neuromuscular, y viceversa (Ashmore, 1971).

1.2 METABOLISMO MUSCULAR

En los mamíferos los músculos comprenden un conjunto de células altamente especializadas que transforman la energía química en mecánica como respuesta a acontecimientos excitadores que ocurren en la membrana celular (Koolman, 2004). Esta característica básica determina que los músculos se contraigan generando tensión y produciendo movimiento, lo que permite al animal el sostén y movimiento del cuerpo (De Luca, 2005). La concentración intramuscular de ATP es limitada y se consume a los pocos segundos de aumentar la actividad metabólica celular. (López-Rivero, 1988). Los sustratos energéticos que la fibra muscular utiliza para la síntesis de ATP proceden de dos fuentes: una externa, representada

por la glucosa y los ácidos grasos de la sangre circulante y otra interna, que corresponde a los depósitos intracelulares de glucógeno y triglicéridos. Los residuos metabólicos, como el lactato e hidrogeniones, son evacuados del interior de la célula hacia el torrente circulatorio (Hoppeler et al, 1983).

El desempeño muscular eficaz del caballo depende la capacidad de su metabolismo para convertir la energía química en energía mecánica, y los componentes incluyen la interacción entre el metabolismo aeróbico y anaeróbico (De Luca, 2005).

El grado de actividad del músculo, está determinado de un metabolismo aeróbico o anaeróbico, con la consecuente variación en los productos finales. Por esto, durante el reposo o la actividad moderada intervienen mecanismos aeróbicos y anaeróbicos con gran eficiencia en la producción de ATP (Alberts, 2004). A medida que se va intensificando la deficiencia en el aporte de oxígeno, como consecuencia de una mayor actividad o durante la anestesia general (Edner et al., 2005), se producen una serie de mecanismos anaeróbicos que deprimen la eficiencia en la producción de ATP y tiene como producto final el ácido láctico (Edner et al., 2005).

El metabolismo anaeróbico presenta rutas metabólicas que se pueden dividir en dos mecanismos diferentes, uno que incluye la transformación de la energía de compuestos fosforilados, incluyendo la actividad de sistemas enzimáticos como la creatinin quinasa, la adenil quinasa y el AMP deaminasa (Alberts, 2004). La glucólisis anaeróbica utiliza glucosa, ya sea obtenida de la circulación o del glucógeno almacenado en el músculo para convertirlo en glucosa-1- fosfato mediante la glucogenólisis, y después convertirlo en glucosa-6- fosfato como substrato, y por medio de la glucólisis para obtener 2 moléculas de piruvato y éstas son transformadas en lactato generando 2 moléculas de ATP por glucosa, lo que hace a esta ruta metabólica poco eficiente para la obtención de ATP como fuente de energía (Alberts, 2004).

1.3 ADAPTACIÓN DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

Una de las características más notables de los organismos vivos es su capacidad para generar modificaciones de su estructura y función en aparente respuesta a los cambios de y las condiciones fisiológicas y bioquímicas del medio interno, y de aquellas físicas y medioambientales del exterior (Benowitz et al, 1997, Alho et al, 1993). El tejido muscular presenta una gran capacidad de adaptación a los cambios tanto internos como externos. A mediados del siglo XIX, el término plasticidad se adoptó en el lenguaje de la biología para referirse a la adaptabilidad de un organismo con relación a su ambiente (Kaas, 1991).

Las dos propiedades más destacadas del músculo equino son su diversidad estructural y plasticidad adaptativa (López-Rivero, 2007). La primera refleja la gran especialización que le permite ejecutar diferentes actividades en donde el tipo de fibras se puede modificar tanto funcional como en su estructura (trabajo, ejercicio etc.), y la segunda, su capacidad fisiológica por la que estos animales pueden optimizar sus características, p.e: deportivas por efecto del entrenamiento (Becker, 2004; López-Rivero, 2007).

Para comprender la capacidad de adaptación del músculo esquelético del caballo es importante entender que las características del fenotipo muscular están reguladas por múltiples factores, como la relación genética, la raza, la edad y otros como el entrenamiento, la nutrición y fármacos que alteran o modifican el músculo esquelético (Gunn, 1987; López-Rivero, 2007). De la interacción entre ellos se modifica el porcentaje de los diferentes tipos de fibras presentes en cada músculo (López-Rivero, 2007).

Los músculos del caballo también modifican espontáneamente sus poblaciones celulares durante el crecimiento y la maduración con el objetivo de hacer presente ante las cambiantes demandas funcionales impuestas por las distintas etapas de la vida (Hinchcliff, 2004).

El músculo esquelético del caballo tiene un gran potencial de adaptación a diferentes condiciones de esta manera, la magnitud de estas adaptaciones dependen de dos grupos de factores: 1) el estado basal del músculo, 2) las características del estímulo aplicado. (el tipo, la intensidad, la duración, y la frecuencia) (Booth et al., 1996; López-Rivero, 2007).

La respuesta adaptativa del músculo al entrenamiento puede ocurrir por dos mecanismos básicos, que a menudo ocurren simultáneamente. El primero es una respuesta cuantitativa,

que consiste en un proceso de hipertrofia fibrilar cuya consecuencia es un incremento de fuerza, y el segundo es una respuesta cualitativa por la que las fibras modifican sus propiedades metabólicas y/o contráctiles (Hencke, 1983). La adaptación metabólica más común consiste en un incremento de la capacidad aeróbica, expresada por un mayor contenido de mitocondrias, de capilares y de glucógeno intramuscular, aunque también se han descrito incrementos de la capacidad anaeróbica (Klausen et al., 1981). Otra forma de adaptación de este tejido es que coexisten fibras musculares de tipo I (o lentas) y fibras de tipo II (o rápidas), caracterizadas por su distinta tolerancia a la fatiga. Estas fibras pueden cambiarse de un tipo a otro mediante el fenómeno conocido como plasticidad muscular. Diferentes condiciones fisiológicas incrementan el estrés oxidativo del músculo esquelético, siendo las fibras lentas las más expuestas a este daño. Sin embargo, dichas fibras han desarrollado mecanismos eficaces para adaptarse a la oxidación (Low et al., 2008).

1.4 CLASIFICACIÓN DE LOS TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES EN EL CABALLO

La clasificación del músculo esquelético en el equino se basa en estudios histológicos, histoquímicos e inmunohistoquímicos. El desarrollo de técnicas histoquímicas ha permitido localizar los sistemas enzimáticos a nivel celular y relacionarlos con la actividad funcional de las miofibras y su morfología (Barlow, D.A., 1984; Raamsdonk W. van, 2004). Gracias a la combinación de estos análisis se ha encontrado que existen 5 tipos de fibras celulares del músculo esquelético de los caballos, las cuales se han caracterizado por la tipificación de las cadenas pesadas de miosina (MHC) la cual se le asigna la siguiente nomenclatura: I, I+IIA, IIA, IIAX y IIX (Quiroz et al, 2001).

Las fibras tipo I tienen una isoforma de cadenas pesadas de miosina que hidrolizan el ATP de forma lenta, generando un ciclo de los puentes cruzados de forma lenta, junto con una gran cantidad de capilares y una alta capacidad oxidativa. Con una baja capacidad glucolítica y un contenido de glucógeno relativamente bajo, dándole una alta eficiencia productiva en movimientos repetitivos lentos y de contracciones isométricas (Rome et al., 1990; Rivero et al., 1999).

En contraste las fibras tipo II, tienen unas cadenas de miosina con isoformas que generan ciclos de los puentes cruzados de manera rápida y como consecuencia una gran fuerza y velocidad en las contracciones. Dentro del grupo de las fibras tipo II, se encuentran las fibras IIX que generan máxima velocidad en corto tiempo y son tres veces más rápidas que las fibras IIA (Rome et al, 1990; Rivero et al, 1999). Las fibras IIX están adaptadas para generar mucha fuerza por un corto tiempo, porque tienen una capacidad oxidativa muy baja y una disposición de oxígeno muy limitada, esto se ve reflejado por unos puentes cruzados muy grandes y una baja capilaridad. Las fibras tipo IIA en cambio, tienen una alta capilaridad y una gran cantidad de mitocondrias, generando un alto metabolismo oxidativo y glucolítico, teniendo la capacidad de generar un movimiento sostenido y con fuerza, por un tiempo más prolongado que las fibras IIX. Las fibras híbridas que se conocen como fibras IIAX tienen propiedades metabólicas e histoquímicas intermedias entre las fibras IIA y las IIX (Quiroz et al., 2001; Kline, 1987). Además de la clasificación por la isoforma de las cadenas de miosina existen otros aspectos que ayudan a mantener las características funcionales de los tipos celulares de los músculos, como es la capacidad de síntesis proteica (Booth et al., 1996).

Cada uno de estos tipos celulares se caracteriza por tener una actividad metabólica diferente y son estas capacidades metabólicas, lo que les permiten trabajar bajo diferentes tipos de actividades y es por esto que se especializan y se reclutan mediante procesos plásticos, dependiendo del estímulo que se imprima en el músculo esquelético (Booth et al., 1996).

La actividad enzimática glicerol 3 fosfato deshidrogenasa (GPDH), ha sido utilizada como un marcador indirecto del potencial glucolítico de las fibras musculares, ya que la GPDH se correlaciona con otras enzimas de la glucólisis (Miyata et al, 1999). La GPDH está involucrada en las vías glucolíticas, interactuando con la transferencia de NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido en su forma reducida) de la glucólisis en el citosol en FADH (Dinucleótido Flavin Adenina en su forma reducida) en las mitocondrias del músculo esquelético (Quiroz et al., 2001). El metabolismo de la fibra se determina al evaluar la actividad de la succinato deshidrogenasa (SDH), enzima que se localiza en la membrana interna mitocondrial y que se usa como marcador de la capacidad oxidativa, ya que se relaciona con la cantidad total de mitocondrias. Las fibras identificadas de acuerdo a su reacción a mATP-asa y SDH se

clasifican según Peter, et al, (1972) en fibras oxidativas lentas, fibras que reaccionan fuertemente a mATP-asa después de pre-incubación ácida y actividad SDH, fibras glucolíticas oxidativas rápidas (FOG, fibras que no reaccionan a mATP-asa, después de pre- incubación ácida y que reaccionan con intensidad moderada a SDH) y fibras glucolíticas rápidas (FG, fibras que no reaccionan a mATP-asa, después de pre-incubación ácida y que reaccionan con intensidad baja a SDH) (figura 1 y cuadro 1).

Cuadro 1. Principales características del músculo esquelético en el caballo.

Características	Tipos de fibras			
	I	IIA	IIB	
A) HISTOLÓGICAS				
Tamaño	Pequeño	Intermedio	Grande	Barlow <i>et al.</i> , 1984
Color	Rojo	Intermedio	Blanco	Schuber 1971 /72
Densidad capilar	Alta	Intermedio	Bajo	Snow 1983 ^a
Mitocondrias	Numerosas	Numerosas y periféricas	Escasas	Hoppeler <i>et al.</i> , 1983
Densidad volumen mitocondrial	5.6 %	6.7 %	0.7 % - 3.25 %	Hoppeler <i>et al.</i> , 1983
B) FISIOLÓGICAS				
Velocidad de contracción	Lenta	Rápida		Howald 1982
Tiempo de contracción	99 – 140 ms	40 – 88 ms		Garnett <i>et al</i> 1979
Veloc. de relajación	Lenta	Rápida		Wiles <i>et al</i> 1979
Máxima tensión	12 g	25 g		Garnett <i>et al</i> 1979
Velocidad Conducción de membrana.	2.5 m/s	5.4 m/s		Howald 1982
Elasticidad	Alta	Baja		Barlow <i>et al</i> 1984
Fuerza/intensidad	Lento des. Baja int.	Rápido desarrollo		Barlow <i>et al</i> 1984
Función	Aplomos y resistencia	Propulsión y velocidad		Aberle <i>et al</i> 1976
C) METABÓLICAS				
Cap. Oxidativa	Alta	Intermedia	Baja	Snow 1983
Cap. Glucolítica	Baja	Intermedia	Alta	Valberg <i>et al</i> 1985
Cont. Glucógeno	Inermedio	Alta	Alta	Andreas/Spurgeon 19985
Cont. M- ATPasa	Baja	Alta	Alta	Rose 1985
Ac. Glucógeno sintet	Baja	Alta	Alta	Snow <i>et al</i> 1982b
Act. LDH	Baja	Alta	Alta	Valberg/Essén-G 1985
Act. GPDH	Baja	Baja	Alta	V.D.Hoven <i>et al</i> 1985
Act. CS	Alta	Alta	Baja	Valberg/Essén-G 1985
D) HISTOQUÍMICAS				
Act. NADH – TR	(Alta)	Intermedia	(Baja)	Essén <i>et al.</i> , 1980
Act. SDH	(Alta)	Intermedia	(Baja)	Snow/Guy 1980

*Rivero JLL, Ruz A, Martí-Korff S, Estepa JC, Aguilera.Tejero E, Werkman J, Sobotta M, Lind-ner A. Effects of intensity and duration of exercise on muscular responses to training of thoroughbred racehorses. *J Appl Physiol.* 2007, 102: 1981-1982

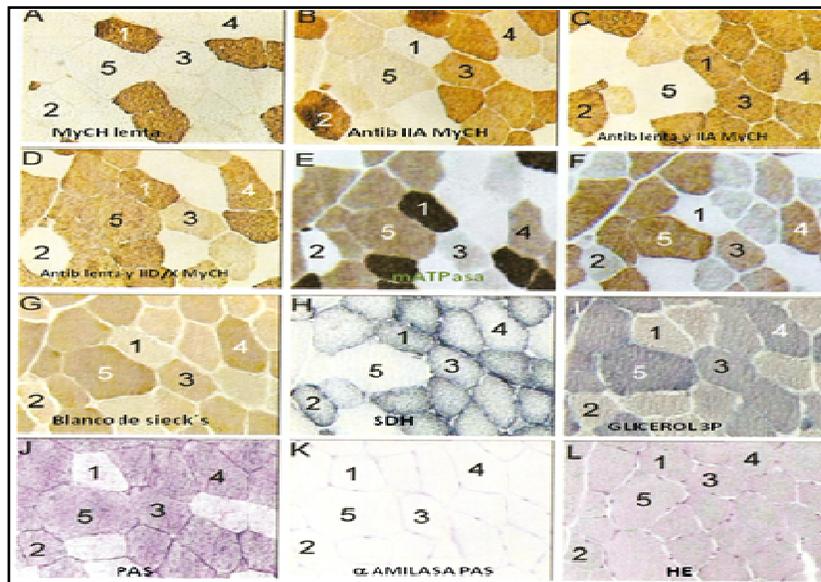


Figura 1. Cortes de músculo glúteo medio con tinciones inmunohistoquímica, histoquímica e histológica, para su clasificación y análisis (Quiroz et al., 2001).

1.5 Tinciones histológicas e histoquímicas

Las tinciones histológicas e histoquímicas comúnmente utilizadas son hematoxilina –eosina (HE) (Dubowitz 1985), miosin-ATPasa con pre-incubaciones ácidas y alcalinas a distintos pH (Brooke, 1970), succinil deshidrogenada (SDH), glicerol fosfato deshidrogenada, ácido periódico de Schiff (PAS), α PAS amilasa. La HE permite determinar las características morfológicas, contabilizar los núcleos, verificar la arquitectura fibrilar, y el diámetro trasversal. Dependiendo de la especie y del músculo a analizar existe un rango de labilidad

de pH para la demostración de la actividad mATPasa, además la temperatura del medio de pre-incubación puede cambiar completamente el patrón histoquímico de tinción del músculo (Guth, 1970; Erzen, 1986). Se menciona que es conveniente realizar variaciones de una décima de este pH en la preincubación ácida. La combinación óptima de valores de pH del medio de preincubación, es definida como aquella que proporciona el mejor contraste para la diferenciación de los tres tipos principales de fibras (López Rivero, 1988). Con la técnica de mATPasa ácida se identifican fibras oscuras ácido lábiles (tipo I), ácido lábiles claras (tipo IIA) y ligeramente ácido lábiles, intermedias (tipo IIX). Esta técnica se ha correlacionado directamente con la velocidad de contracción muscular (López Rivero, 1988). Mediante la tinción de SDH o NADH tetrazolium reductasa (NADH-TR) (Dubowitz; 1985; Brooke, 1970), se pueden diferenciar fibras de reacción oxidativa. La capacidad glucolítica de las fibras se indica con una tinción oscura indicada por la precipitación catalizada por la enzima alfa-glicerofosfato deshidrogenasa (α GPDH). Las modificaciones a esta técnica de Sigel (1969), permite diferenciar diferentes tonalidades de intensidad reactiva.

1.6 ANESTESIA

1.6.1 Xilacina

Este fármaco está clasificado dentro del grupo de los alfa 2 adrenérgicos. Estos fármacos se caracterizan por ser excelentes sedantes y analgésicos. Y su poder de analgesia es mejor, incluso que el de los analgésicos opiáceos (Greene, 1988). Los efectos de estos agentes son dosis-dependientes y su manifestación es rápida: 3-5 min después de aplicarlos por vía I.V y 10-15 min después de la aplicación intramuscular (IM) (Greene, 1988). Sus efectos sedantes son evidentes, lo que los ha convertido en los tranquilizantes pre-anestésicos de primera elección en caballos. La sedación que se logra es profunda, pero es dosis dependiente. El caballo baja la cabeza y cuello e incluso intenta recargar la cabeza, los párpados y belfos se relajan y la deambulación es vacilante por la ataxia que inducen, dado que estos agentes son

relajantes musculares (Matthews 1991). La xilazina (0.5-1.1 mg/kg) produce un decremento tanto en la frecuencia respiratoria como en el volumen corriente; por ende, el volumen minuto y la PaO₂ disminuyen (por debajo de 80 mmHg), mientras que la PaCO₂ puede incrementarse pasajeramente (mayor a 35 mmHg), regresando a valores basales en unos minutos si el caballo no es anestesiado (Sarazan, 1989). Los agonistas α -2 adrenérgicos inducen un decremento de la presión arterial con ligera bradicardia dosis dependiente (20-22 latidos/min), seguido de una elevación de la presión arterial y finalmente una normalización de la frecuencia cardiaca y tensión arterial en 15- 20 min. Estos fenómenos son más marcados con la aplicación intravenosa (IV) de los agentes α -2 agonistas que con la inyección intramuscular (Lumb, 1999). Estas respuestas están mediadas inicialmente por barorreceptores, vasoconstricción periférica y por activación parcial o completa de receptores α -1 y α -2 adrenérgicos, responsables de la constricción de la cama capilar (Lumb, 1999).

1.6.2 Ketamina

La ketamina constituye un anestésico derivado de las ciclohexilaminas, que es referido como disociativo (Dyke, 1993; Aubin, 2002). El término “anestesia disociativa” se refiere a que el uso de ketamina, en pacientes humanos, es descrita como una disociación funcional y electrofisiológica entre los sistemas límbico y tálamo-neocortical (Domino 1965). Deprime la corteza cerebral y el tálamo, mientras que estimula el sistema límbico como el hipocampo, y produce una desorganización funcional de las vías del cerebro medio y las áreas talámicas(Domino 1965). La ketamina como anestésico único produce un estado cataléptico con nistagmus y reflejos intactos en la cornea y reflejo pupilar a la luz (White, 1982). Es un potente analgésico a concentraciones plasmáticas subanestésicas y sus efectos analgésicos y anestésicos pueden ser mediados por diferentes mecanismos. La analgesia puede ser debida a una interacción entre la ketamina y receptores opiáceos tanto centrales como medulares (Bion, 1984).

La característica y valor fundamental de la ketamina es el que se trata del único anestésico

con acción simpático mimética, que produce estimulación del sistema cardiovascular, tanto a nivel de corazón como en las resistencias periféricas (Toft, 1987). Numerosas publicaciones reportan aumento de todas las constantes: frecuencia cardíaca, presión arterial sistémica, resistencias vasculares sistémicas, presión arterial pulmonar y resistencias vasculares pulmonares (Reves, 1987). La ketamina produce mínima depresión respiratoria. Se han encontrado periodos de incremento ventilatorio alternado con periodos de apnea, sin alterar en ningún momento la normalidad de la PaCO₂ expirado (Burrows, 1986; Bourke 1987). Aunque la ketamina sola produce un incremento en el tono muscular, esta aumenta la acción de los bloqueadores neuromusculares como succinilcolina White, 1985). Cronnelly (1973) postuló que la ketamina decreta la sensibilidad de la placa motora terminal, mientras que Marwaha (1980) reporta que la molécula inicialmente potencia, y luego bloquea la respuesta de contracción a la estimulación muscular directa.

1.6.3 Combinación anestésica: Xilacina-ketamina

La combinación anestésica de xilacina-ketamina es una de las combinaciones más utilizadas en la práctica diaria para procedimientos quirúrgicos de corta duración en la medicina equina (Carranza, 1995; Torres, 2006). El paciente permanece con los ojos abiertos, mantiene el reflejo tusígeno, corneal y de deglución. Con esta combinación (xilacina-ketamina), los parámetros fisiológicos cardiovasculares (frecuencia cardíaca, presión arterial, gasto cardíaco) disminuyen inmediatamente después de la aplicación de los fármacos, pero después regresan a sus rangos normales y se mantienen estables a dosis de 1.1mg/kg y 2.2mg/kg respectivamente (Aubin, 2002).

Aunque se observa un patrón apnéustico no se llega a la apnea completa. Sin embargo, la ketamina induce una muy mala relajación muscular, e incluso aumenta el tono muscular general, en un efecto parecido a un estado convulsivo. Por ello no debe usarse como único agente anestésico en caballos (Wan, 1992; Waterman, 1987). La pre-medicación con xilacina produce relajación muscular y sedación que son necesarias para complementar el efecto de la ketamina cuando se es aplicada por vía intravenosa (IV), una vez que se ha logrado la

tranquilización en el caballo. Es común encontrar con esta combinación, alteraciones cardiovasculares mínimas. La combinación causa una acidosis moderada con un decremento evidente en la PaO₂ (57-70 mmHg). Para lograr el mejor efecto de esta combinación (xilacina-ketamina), se aconseja administrar la ketamina, hasta haber logrado los efectos de sedación con el alfa 2 adrenérgico. (Cuvelliez, 1995; Broke, 1990). Los caballos adoptan el decúbito en tan sólo 90 a 120 segundos y la anestesia dura 15 a 20 min, aproximadamente. Es importante mencionar que si no se administran secuencialmente la xilacina, y luego la ketamina, se tendrá tetania, rigidez, excitación y finalmente inmovilidad de poca utilidad para la cirugía (Muir, 1991).

1.6.4 Isoflurano

En caballos los anestésicos inhalados, como el isoflurano, se utilizan para producir anestesia general. Posee un mínimo de efectos adversos en los sistemas nervioso central, cardiovascular, respiratorio y muscular, aun en pacientes en estado crítico (Bowen, 1986). El isoflurano se considera como uno de los anestésicos generales inhalados con mejores propiedades clínicas: Rápida inducción, con amplio margen de seguridad, cambios rápidos en la profundidad de la anestesia, buena relajación del músculo estriado y recuperación rápida y sin excitación (Benson 1992). Durante este período hay una excelente coordinación muscular al incorporarse y aún no se han documentado efectos tóxicos a dosis terapéuticas (Benson 1992). En los procedimientos quirúrgicos de media y larga duración, el uso de la anestesia inhalada resulta más adecuada debido las ventajas que proporcionan los anestésicos inhalatorios frente a los parenterales. No obstante, para utilizar cualquier anestésico inhalado, se requiere de la administración previa de una combinación anestésica inyectable, como lo es la combinación de xilacina y ketamina. La administración de anestésicos inhalados favorecen el manejo de la profundidad anestésica, sin embargo los ajustes de la profundidad anestésica son relativamente más lentos a comparación con otras especies como perros y gatos (Steffey et al., 2003). Los anestésicos inhalados, no están desprovistos de efectos secundarios, y la sobredosificación produce depresión

cardiovascular o respiratoria (Steffey Et al., 2003). Muchos estudios han demostrado que debido al uso del Isoflurano, la perfusión muscular se reduce tanto a nivel arterial como microvascular, además de ser asociado con una disminución en el gasto cardiaco y la presión arterial media.

La hipotensión (PAM <70 mmHg) es basada en muchos estudios clínicos en caballos anestesiados con halotano (Richey et al, 1990) en el cual la presión arterial media se mantiene por debajo de 70mmHg en donde se asocia a un incremento en el riesgo de una miopatía post-anestésica debido a la hipoperfusión muscular.

En varios estudios, investigadores encontraron que la perfusión muscular con Isoflurano es mayor, incluso cuando la presión arterial y los niveles de oxígeno son bajos. Esto indica que existe una menor incidencia de miopatía post-anestésica con este agente (Cribb, 1998; Dunlop et al., 1987). Sin embargo en otros estudios, Rasis, et. al; 2000 b; Steffey Et al., 2003; Kronen, 2003; Rasis, 2005, hallaron que el isoflurano es más hipotensivo que el halotano, aunque el gasto cardiaco y la perfusión fueron mayores. Esto sugiere que el gasto cardiaco tiene un mayor efecto sobre la perfusión muscular que con la presión arterial y explica en parte que la incidencia de miopatía post-anestésica es más baja en caballos hipotensos durante la anestesia con Isoflurano.

1.6.5 METABOLISMO MUSCULAR DURANTE LA ANESTESIA

El estudio del metabolismo muscular en el equino durante la anestesia, se ha enfocado a evaluar los cambios enzimáticos como lactato, electrolitos y sustancias propias del estrés (cortisol y las catecolaminas) en sangre durante y después de la anestesia (Lindsay et al, 1980; White NA, 1986; Robertson, 1987; Richey MT, et al, 1990; Luna et al., 1996). En estos estudios, se ha visto que durante la inducción y la recuperación existe una asociación en el incremento sanguíneo de ácido láctico y ureico, lo cual es un indicativo de la respuesta anaeróbica del metabolismo muscular. Edner (2005), mediante las técnicas de fluometría, Doppler y biopsias musculares, evaluó el metabolismo muscular, donde se presentó un aumento en el lactato plasmático debido a la hipoperfusión, infiriendo que este problema podría ser el principal factor en el incremento del lactato como resultado de la hipoxia e

incluso de la isquemia muscular. Una disminución en la creatinin fosfatasa (CP) en el músculo, indica que el ATP ha sido regenerado mediante el desdoblamiento de este fosfato. Si los niveles de ATP también se encuentran disminuidos hay indicios de que existe una situación de estrés metabólica que se ha desarrollado como resultado de una limitación en el restablecimiento de la síntesis de ATP de otras rutas metabólicas (Edner A. et al; 2005).

Los cambios musculares a nivel metabólico después de la anestesia prolongada por inhalación se deben a una disminución en el suministro de oxígeno, provocado por la hipoperfusión (Duke et al., 2006). El uso de la combinación anestésica de xilacina-ketamina e isoflurano existe un aumento de la presión intracraneana, hiperglicemia, hipoinsulinemia, incremento transitorio de la ADH en plasma, aumento de la diuresis, glucosuria, aumento de la excreción urinaria de Na^+ , K^+ , y Cl^- , hipotermia en potros y una disminución pasajera del flujo sanguíneo en músculo esquelético (Mama et al., 1998, Nuñez E, Garcia A, 2000).

Con respecto al uso de los relajantes musculares como la xilacina; actúa a nivel de la membrana celular muscular: interrumpe la transmisión neuromuscular produciendo una despolarización más prolongada de la placa motora. La relajación se obtiene manteniendo la fibra despolarizada. El estado de relajación cesa cuando el relajante es eliminado de la placa terminal por medio de la enzima pseudocolinesterasa. En humanos, el estado de relajación es muy pronunciado pero de corta duración (Bevan, 1995). En este mismo sentido se sabe que los cambios a nivel metabólico que se pueden presentar son la hipertermia maligna (HM), que es un trastorno provocado por agentes como los anestésicos volátiles (Halotano, Isoflurano) y los relajantes musculares despolarizantes (xilacina), que inducen una respuesta hipermetabólica en el músculo esquelético (Robinson et al., 2006). Aunado a ello, esta patología es autosómica y más de 200 mutaciones han sido identificadas en el receptor de rianodina 1 (RYR1) de genes que se expresan en el músculo esquelético (Stowell, 2008; Robinson et al., 2006). De esta manera existen numerosos estudios que han demostrado que muchos de los anestésicos volátiles como el Isoflurano y el halotano, activan el receptor RYR1, lo cual provoca cambios a nivel de la membrana celular muscular, liberando el calcio del retículo sarcoplásmico al espacio extracelular (Kunst et al.,1999. Matsui et al., 1991).

Durante la anestesia con Isoflurano, se ha observado que existe un aumento en el lactato, posiblemente debido a la hipoperfusión como ya se ha mencionado anteriormente (Edner et al., 2005). La hipoperfusión puede conducir a un aumento de la producción de lactato como consecuencia de la hipoxia o incluso isquemia. La hipoperfusión puede ser general y se ha demostrado que se produce durante la anestesia con isoflurano (Weaver, 1984) o puede ser localizada en cualquier músculo que se encuentre ceñido durante la anestesia (Goetz, 1989).

2. HIPÓTESIS

El fenotipo celular de las fibras musculares en el caballo, se pueden modificar desde el punto de vista morfológico, metabólico y contráctil durante la anestesia inhalada.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Conocer las características fenotípicas celulares del músculo esquelético del caballo durante la anestesia inhalada utilizando el protocolo anestésico de xilacina-ketamina-isofluarano.

3.2 Objetivos particulares

Determinar el tiempo en el que se presentan los cambios estructurales o morfológicos, metabólicos y contráctiles de las fibras musculares, y así mismo correlacionar estos cambios entre los caballos colocados en decúbito dorsal y decúbito lateral.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se estuvo basado de acuerdo a las normas de la legislación Mexicana vigente para el uso de animales de experimentación NOM 062-200- 1999 y de acuerdo a la normatividad aprobada por el Subcomité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales para Experimentación (SICUAE).

4. 1 Manejo de los animales

Se realizó un muestreo no probabilístico, en el cual se incluyeron 5 caballos clínicamente sanos (cuatro hembras y un macho), criollos, con un rango de edad de 5 a 7 años ($SD \pm 0.83$) y un peso promedio de 300 kg ($SD \pm 48.2$). Para determinar el estado de salud de los animales se realizó un examen físico general y pruebas complementarias como hemogramas y química sanguínea.

Los caballos fueron alimentados con forraje de avena y agua *add-libitum*, y se mantuvieron en condiciones adecuadas de estabulación durante la investigación en el Hospital del Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Équidos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, donde se llevó a cabo el estudio experimental.

Los caballos fueron muestreados antes y durante la anestesia, donde los parámetros basales se tomaron de los caballos que fueron muestreados antes de la anestesia y se compararon

con los datos obtenidos cuando los mismos caballos fueron colocados en decúbito dorsal y decúbito lateral durante la anestesia.

4.2 Obtención y manejo de las biopsias musculares antes de la anestésia

La obtención de las muestras de los caballos antes de la anestesia se realizó una semana antes de cada proceso anestésico. Se obtuvieron 5 muestras del músculo glúteo (una por cada caballo): se rasuró y se realizó asepsia en un área de 5cm². Se administró 1ml de lidocaína intradérmica en un espacio de 3cm lineales. Se realizó una incisión de 3cm con una navaja para bisturí del No. 12 sobre la piel hasta encontrar las fascias musculares. Posterior a este procedimiento, mediante el uso de tijeras de Mayo rectas y pinzas de Alis, se obtuvieron las muestras musculares de 1cm³ a una profundidad de 3cm, aproximadamente, la muestra muscular se colocó por unos minutos en una gasa con solución salina fisiológica, un par de minutos, para permitir la relajación de las fibras, y se recubren sobre el émbolo de una jeringa pequeña con una solución de *Tissue-Tek OCT compound* a fin de proteger la integridad celular. Se procedió entonces a congelar de manera indirecta la muestra de acuerdo a la técnica de Dubowitz (1973) modificada. La muestra se colocó dentro en un vaso de precipitado (100ml) una cantidad suficiente de 2 metilbutano (isopentano). Este vaso se introdujo en un termo tipo Coleman el cuál contiene nitrógeno líquido (-196° C). Para ello fue importante no permitir que el nitrógeno contamine el isopentano. Este hidrocarburo se dejó enfriar durante unos minutos observando el escarchamiento o congelación del fondo y paredes del vaso de precipitado, en este momento se introdujo la muestra muscular en el isopentano para lograr su congelación indirecta y evitar el posible daño celular que se puede ocasionar por el enfriamiento rápido. Con esto se evita la formación interfibrilar de artefactos por congelación. La muestra se dejó sumergida en el isopentano durante 2 minutos a -70°C; se identificaron y se colocaron en tubos Ependorf. Posteriormente se congelaron en nitrógeno líquido a -196°C para su transporte al laboratorio donde se almacenaron a -70°C en el laboratorio de genética molecular del Departamento de Genética y Bioestadística de la FMVZ-UNAM para su posterior procesamiento y análisis.

4.3 Manejo anestésico de los caballos

Los 5 caballos fueron anestesiados dos veces colocándose en dos diferentes posiciones (Decúbito dorsal y decúbito lateral) durante 120 min, existiendo una semana de descanso entre cada procedimiento, realizando así 10 procesos anestésicos. Previo al proceso de inducción anestésica, se rasuró un área de 2cm² en la arteria transversa facial, se realizó la asepsia de la zona y mediante el uso de una jeringa de 1ml se obtuvieron las muestras sanguíneas para determinar los valores gasométricos arteriales (PaO₂, PaCO₂ y pH). Posteriormente, para la inducción de la anestesia, se colocó un catéter del No. 14 (Gx2" 51mm) en la vena yugular izquierda, previa asepsia y rasurado del área del tercio medio del canal yugular. El catéter se sujetó mediante el uso de sutura no absorbible (ácido poliglicólico) con puntos separados. En este, se conectó una extensión para catéter previamente heparinizada, con su respectivo tapón, la cual también fue sujeta con puntos separados de sutura de nylon. De esta manera, se administró xilacina (1.1mg/kg, IV). Al presentarse los signos característicos por la administración de este fármaco (5min después), se administró ketamina (2.2mg/kg IV). Una vez colocado el caballo en decúbito (1min después), se le introdujo un tubo endotraqueal previamente lubricado y se trasladó a la mesa del quirófano. Estando en la mesa de cirugía, se obtuvieron gases arteriales, para ello, se realizó la asepsia en la arteria transversa facial y se introdujo un catéter del No. 20 donde se colocó una llave de tres vías sujeta mediante tres puntos simples de sutura con nylon del No. 00. La obtención de estas muestras sanguíneas arteriales se tomó a los 20, 60, 90 y 120 minutos y así mismo las muestras musculares.

El mantenimiento de la anestesia se llevó a cabo con Isoflurano y Oxígeno (3ml/kg/min) a un porcentaje entre 3 y 5% del dial del vaporizador para mantener un plano anestésico adecuado. Para administrar el Isoflurano, se utilizó un circuito anestésico cerrado, conectado al tubo endotraqueal mediante una pieza en "Y". Durante la anestesia, se administró una terapia de líquidos de mantenimiento (Solución Hartman, 3ml/kg/hr). También, se administró una infusión continua de 250mg de dobutamina en 500 ml de solución Hartman

(dosis-efecto). Durante el procedimiento se realizó un monitoreo continuo (cada 5min) de los parámetros fisiológicos de cada caballo (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial media, saturación de oxígeno SO_2 , presión arterial de oxígeno PaO_2 , presión arterial de dióxido de carbono $PaCO_2$ y pH). Después de los 120 minutos del proceso anestésico y 5 minutos después de haber terminado, se trasladó al animal mediante la grúa del quirófano a la sala de recuperación, aquí se obtuvieron muestras gasométricas arteriales una vez que el caballo se levantó.

4.4 Obtención y manejo de las muestras musculares durante la anestesia

Durante la anestesia, las biopsias musculares se obtuvieron quirúrgicamente de los músculos que se encontraban por encima de la mesa quirúrgica (músculos semimembranosos). Para ello previamente se rasuró y se realizó asepsia en un área de 10cm^2 ; se hizo una incisión de 3cm con una navaja de bisturí del No. 12 sobre la piel hasta encontrar las fascias musculares, y mediante el uso de tijeras de Mayo rectas y pinzas de "Alis" se cortó a cada tiempo establecido (20, 60, 90, 120 minutos) una muestra del tejido muscular de 1 cm^3 aproximadamente, cada una, a una profundidad de 3 cm.

***El proceso de congelación indirecta de las muestras se ha descrito anteriormente (4.2)**

Durante la anestesia se obtuvieron 40 muestras: 20 durante la anestesia en decúbito dorsal y 20 en decúbito lateral, además, 5 muestras antes de la anestesia, que en total sumaron 45 muestras musculares.

4.5 Manejo de las muestras musculares en el laboratorio

Para llevar a cabo las tinciones histológicas, las muestras musculares se procesaron en el Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

La única condición para llevar a cabo este procedimiento es que las fibras estén orientadas en una posición transversal e identificar que la congelación se haya realizado de manera

correcta mediante observación directa en fresco o auxiliado de tinciones histológicas (hematoxilina–eosina).

Estas muestras fueron cortadas de manera transversal con un criostato a -20°C donde se realizaron 10 cortes seriados para cada muestra obtenida de los caballos antes y durante la de la anestesia, con un grosor de 10 micras. Estas se colocaron en porta-objetos que fueron previamente tratados con polilisina para mejora su permanencia en el portaobjetos. De esta manera, se obtuvieron 300 cortes transversales seriados de los cuales se seleccionaron 60 (30 cortes de caballos en DD y 30 en de caballos en DL) y se estudiaron en casa uno 50 gibras dando un total de 3000 células musculares analizadas.

4.6 Técnicas histológicas e histoquímicas

Las tinciones histológicas e histoquímicas que se utilizaron fueron hematoxilina – eosina (HE), miosin-ATPasa (mATPasa) con pre-incubaciones ácidas con un pH de 4.6, succinil deshidrogenada (SDH), ácido peryódico de Schiff (PAS) y α amilasa PAS. La HE permitió determinar las características morfológicas y contabilizar los núcleos. Con la técnica de mATPasa ácida se identificaron fibras oscuras ácido lábiles (tipo I), ácido lábiles claras (tipo IIA) y ligeramente ácido lábiles, intermedias (tipo IIX). Esta técnica se ha correlacionado directamente con la velocidad de contracción muscular.

Mediante la tinción de SDH (Dubowitz, 1973), se pudieron diferenciar fibras de reacción oxidativa. La capacidad glucolítica de las fibras se analizó con una tinción oscura debido a la precipitación catalizada por la enzima alfa-glicerofosfato deshidrogenasa (α GPDH). Las modificaciones a esta técnica de Sigel (1969), permitieron diferenciar diferentes tonalidades de intensidad reactiva.

Las muestras se analizaron con las técnicas histológicas previamente mencionadas, las cuales permitieron realizar una caracterización fibra a fibra con base a su morfología (arquitectura fibrilar, cantidad de núcleos y capilares), características contráctiles (actividad mATPasa) y metabólicas (actividad oxidativa o glucolítica y determinación de sustratos energéticos) (Cuadro 2).

4.7 Tipificación de las fibras musculares

Para identificar el tipo de fibras se realizaron pruebas histoquímicas de mATPasa ácida, la cual dio tres diferentes rangos de densidad óptica. Dicha densidad se basa en lo siguiente: las células más oscuras corresponden a las fibras tipo I, el tipo IIA, son de densidad óptica clara, y el tipo IIX corresponden a una tonalidad intermedia.

Cuadro 2.

Resumen de las tinciones utilizadas para el análisis estructural y metabólico en el presente estudio

Tinción Histológica	Objetivo de la aplicación
HE (hematoxilina y Eosina)	Observación de la arquitectura muscular (área, núcleos y capilares).
PAS (Acido Peryódico de Schiff)	Visualizar el glucógeno del citoplasma
Alfa-amilasa PAS	Observación de la actividad glucolítica celular
GDP (guanosa di-fosfato)	Enzima de marcaje para observar la capacidad glucolítica de las fibras musculares.
SDH (Succinil Deshidrogenasa)	Enzima de marcaje para observar la capacidad oxidativa celular.
ATP asa ácida (pH 4.6)	Usado como marcador para la observación de la velocidad de contracción de las fibras musculares.

Resumido de: Quiroz R. E. Rivero J.L.L. 2001, Blanco, 1988 y 1992, Martin T.P. 1985, Nwoye L. 1982

4.8 Análisis de los cortes histológicos

A cada una de las laminillas teñidas se les tomaron fotografías con una cámara digital de alta resolución mediante un programa software **MacBiophotonics Image J. versión 1.41^a**. De todos los cortes histológicos donde se buscaron las mejores zonas (libres de artefactos) y dentro de estas, procurando fotografiar la misma área celular con 50 miofibras en todas las tinciones.

Con las imágenes digitalizadas, se llevó a cabo el análisis morfométrico visual de las células musculares. La medición de las formas de las células (morfometría), permite comprender procesos fisiológicos, patológicos o realizar el seguimiento de tratamientos, a través de los cambios citológicos observados en diferentes tejidos. Además para realizar el estudio de las

características metabólicas y contráctiles de la fibra, se debe de determinar un valor de densidad óptica como referencia, es decir; se calculó un valor blanco en cada tinción que fue considerado como valor mínimo en cada muestra analizada, así mismo la cuantificación de reacciones colorimétricas permite identificar determinadas estructuras, establecer su número o área de tinción y su densidad óptica (Wells 1993). Para ello, se eligieron 50 miofibrillas para su análisis (área de la célula, cantidad de núcleos, capilares y densidad óptica OD), se asignó un número a cada célula del 1 al 50. Posteriormente, por medio del programa mencionado anteriormente, se rodeó el borde de cada célula con la ayuda de una Wacom (tableta magnética para diseño), con el propósito de tener una mayor precisión al momento de delimitar el área de la misma; de esta manera se obtuvo el área total de la miofibrilla en micrómetros (μm) y la densidad óptica (OD) de las células mediante el punteo de las mismas con el lápiz magnético. Estos datos posteriormente se colocaron a una hoja de cálculo (Windows Excel 2007) para su posterior análisis.

4.9 Análisis estadístico

Se utilizó un programa (InfoStat-Statistical Software Inf) donde se hicieron cálculos de estadística descriptiva, medias y errores estándar de la media del área transversal fibrilar, número de capilares, núcleos, así como de los valores obtenidos de la densidad óptica del metabolismo celular.

5. RESULTADOS

A continuación se muestran los datos del comportamiento fisiológico de los caballos durante la anestesia:

**Promedio de las constantes fisiológicas de los caballos
anestesiados en decúbito dorsal**

Constante	VR	Control	20'	60'	90'	120'
FR	8- 20	12	8	7	6	5
FC	30-45	39	35	42	44	38
PAM _(mmHg)	70-110	sd	66-71	68-73	69-76	60-66
SpO ₂ (%)	91.6	sd	98	97	95	93
PaO ₂ (mmHg)	66.6	66.1	142	135	114	101
PaCO ₂ (mmHg)	36.1	33.6	70	63	74	72
pH	7.4	7.4	7.1	7.1	7.1	7.1

**Promedio de las constantes fisiológicas de los caballos
anestesiados en decúbito lateral**

Constante	VR*	Control	20'	60'	90'	120'
FR	8- 20	11	8	8	9	9
FC	30-45	39	36	48	49	49
PAM _(mmHg)	70-110	sd	74-80	70-80	74-79	67-74
SpO ₂ (%)	91.6	sd	98	97	98	97
PaO ₂ (mmHg)	66.6	64	214	256	233	218

PaCO ₂ (mmHg)	36.1	33	57	50	56	57
pH	7.4	7.4	7.2	7.3	7.3	7.2

Nomenclatura:

PAM (Presión arterial media), SpO₂ (Saturación de la presión de oxígeno con respecto a la hemoglobina), PaO₂ (Presión arterial de oxígeno), PaCO₂ (Presión arterial de dióxido de carbono), pH (potencial de hidrogeno).

VR: Constante fisiológica de caballos a la altura de la Ciudad de México (2240msnm) de pie.

* Garcia L.A et al. The influence of Butorfanol dose on characteristics of xylazine-butorfanol-propofol anesthesia in horses at altitude. Vet Ana and Anal. 2006: 33, 104-110.

anestesiados en decúbito dorsal, a comparación de los caballos anestesiados en decúbito lateral donde las constantes fisiológicas se mantienen en su mayoría dentro de los parámetros normales y/o valores de referencia.

Se analizaron 50 miofibras por cada corte muscular, de las cuales los caballos muestreados antes de la anestesia, el 90% son fibras tipo I, el diez por ciento restantes son fibras tipo IIX. Para los caballos colocados en decúbito dorsal (DD), el 86.5% son fibras tipo I, el 13.4% son fibras tipo IIX y el 0.1% son fibras tipo IIA. Con respecto a los caballos anestesiados en decúbito lateral (DL), el 81% son fibras tipo I, mientras que las fibras tipo IIX representan el 18.33% y finalmente el 0.66% son fibras tipo IIA (gráfica 1). Cabe destacar que estos porcentajes difieren en el porcentaje debido a que no se muestreo la misma zona del músculo por lo que el porcentaje en el tipo de fibras varia.

5.1 Arquitectura fibrilar:

En la arquitectura celular se evaluó la cantidad de núcleos celulares, número de capilares y el área transversal, esta última medida en micrómetros (µm²), considerando el tiempo de duración de la anestesia (120 min) y la posición de los caballos durante la misma, es decir: **caballos antes de la anestésia (AA), caballos en decúbito dorsal (DD) y caballos en decúbito lateral (DL).**

Área transversal celular

Caballos antes de la anestesia

Los datos obtenidos con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX se pueden observar en el cuadro I. Así mismo podemos ver que en la gráfica 2 las fibras musculares tipo IIX presentan una mayor área transversal con respecto a las fibras tipo I y IIA, no obstante las fibras tipo IIX se presentaron en menor cantidad que las tipo I (gráfica 2).

Caballos en decúbito dorsal

La media y desviación estándar del área transversal de las fibras musculares para los caballos anestesiados en decúbito dorsal para las fibras tipo I, IIA y IIX se observa en cuadro II. El área transversal de las fibras musculares tipo I para los caballos anestesiados en DD existe una disminución en todos los tipos de fibras (cuadro III). En las fibras tipo IIA existe un aumento en el área transversal que se presenta a los 90 minutos de la anestesia y en las fibras tipo IIX el área transversal disminuye por debajo de su estado basal a los minutos 20, 60, 90 y 120 (gráfica 3).

Caballos en decúbito lateral

Se puede observar que al minuto 20 y 60 se presenta una disminución del área transversal de las fibras tipo I. Hacia el minuto 90 y 120 de la anestesia estas fibras aumentan su tamaño aunque no hay mucha diferencia en el minuto 120. Las fibras tipo IIA presentaron un aumento en el minuto 20, después al minuto 60 y 90 donde se observa una disminución de la misma (gráfica 3). El área transversal de las fibras tipo IIX disminuyó a los minutos 20, 60 y 90, aumentando su área transversal al minuto 120 (cuadro III).

Densidad capilar fibrilar

Caballos antes de la anestesia

Los datos obtenidos con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX, la densidad capilar para los caballos de pie (AA), se pueden observar en el cuadro I y gráfica 4.

Caballos en decúbito dorsal

La media y desviación estándar de la densidad de capilares para los caballos anestesiados en decúbito dorsal para las fibras tipo I, IIA y IIX se observa en cuadro II. Los datos obtenidos indican que existió un aumento en el número de capilares en las fibras tipo I a los minutos 60, 90 y 120 que están por encima de sus valores basales (gráfica 4 Y 5) mientras que al minuto 20 esta se mantiene muy cerca de su estado basal. Para las fibras tipo IIX estos valores se notan aumentados durante toda la anestesia, por encima de su estado basal (gráfica 5).

Caballos en decúbito lateral

Podemos ver, que en las fibras tipo I la densidad de capilares se mantiene en su estado basal al minuto 90 y aumentando en el resto de los tiempos. Para las fibras tipo IIA, se observa un aumento con respecto a su estado basal en el tiempo 20 y una disminución a los minutos 60 y 90 (cuadro III). Con respecto a las fibras tipo IIX estas se aumentaron a los minutos 20, 90 y 120, pero al minuto 60 este valor se mantiene muy cerca de su parámetro normal (gráfica 4 Y 5).

Densidad de núcleos celulares

Caballos antes de la anestesia.

Los datos obtenidos con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX con respecto a el número de capilares para los caballos antes de la anestesia, se pueden observar en el cuadro I, grafica 6.

Caballos anestesiados en decúbito dorsal

La densidad de núcleos para las fibras tipo I se puede observar que está aumentando en los minutos 20 y 60 de la anestesia, sin embargo este parámetro se mantiene muy cerca de su estado basal a los minutos 90 y 120 del proceso anestésico. Con respecto a las fibras tipo IIA también se denota un aumento de la densidad de capilares por encima de su valor basal. Así mismo, existe un aumento en esta densidad de núcleos a los minutos 20, 60 y 120, manteniéndose igual que el parámetro basal al minuto 90 (gráfica 7, cuadro III).

Caballos anestesiados en decúbito lateral

Los caballos anestesiados en DL se observa una disminución de la densidad de núcleos celulares durante toda la anestesia (cuadro III). Las fibras tipo IIA, solo presentan modificaciones a los minutos 60 y 90 no existiendo valor para el minuto 120 pues durante el análisis no se encontraron fibras tipo IIA en este tiempo. Las fibras tipo IIX se nota un aumento de los núcleos en todo el proceso anestésico en los tiempos (Cuadro III y gráfica 7).

5.2 Metabolismo de las fibras musculares

A continuación se muestran los resultados estadísticos de las tinciones que se utilizaron para evaluar el metabolismo celular durante el proceso anestésico:

PAS (Acido Peryódico de Shiff)

Para estas variables la escala de medida se realizó mediante a la densidad óptica (OD) de las células con respecto a la tinción.

Caballos antes de la anestesia

Los datos estadísticos arrojados con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX con respecto a la densidad óptica (DO) de la cantidad de glucógeno para los caballos antes de la anestesia, se pueden observar en el cuadro I, gráfica 8.

Caballos anestesiados en decúbito dorsal

En los tres tipos de fibras (I, IIA y IIX) analizadas para esta prueba histológica, se observa que en la cantidad de glucógeno intracitoplasmática se encuentra por debajo de sus valores basales, siendo el más bajo al minuto 120 de las fibras tipo IIX (gráfica 9).

Caballos anestesiados en decúbito lateral

Al igual que los caballos anestesiados en decúbito dorsal (DD) los tres tipos de fibras en los caballos en DL se encuentran por debajo de sus parámetros normales (cuadro III y gráfica 9).

Alfa PAS

Caballos antes de la anestesia

Los datos estadísticos arrojados con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX con respecto a la densidad óptica (DO) de la actividad glucolítica para los caballos antes de la anestesia, se pueden observar en el cuadro I.

Caballos anestesiados en decúbito dorsal

En los tres tipos de fibras (I, IIA y IIX) para los caballos anestesiados en DD la actividad glucolítica se observa disminuida en todos los tiempos muestreados durante la anestesia (gráficas 10 y 11).

Caballos anestesiados en decúbito lateral

Al igual que los caballos en DD este parámetro se ve afectado pues se observa una evidente disminución de la actividad en todas las fibras musculares muestreadas durante los 120 minutos de anestesia (gráfica 11).

5.3 Resultados de las pruebas de histoquímica

Alfa GDP

Caballos antes de la anestesia

Los datos estadísticos arrojados con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX con respecto a la densidad óptica (DO) de la capacidad glucolítica para los caballos antes de la anestesia, se pueden observar en el cuadro I.

Caballos anestesiados en decúbito dorsal

La capacidad glucolítica de las fibras musculares de los caballos anestesiados en decúbito dorsal se observan variaciones o cambios a los minutos 60, 90 y 120 en las fibras tipo I, donde se observa una disminución de la misma. Así mismo las fibras tipo IIA al minuto 90 se observa una disminución considerable con respecto a los valores basales, sin embargo no se considera significativa pues el número de fibras que se evaluaron fue de $n=1$. Con respecto a las fibras tipo IIX se observa una disminución en la capacidad glucolítica al minuto 60, 90 y 120 (gráfica 13, cuadro III).

Caballos anestesiados en decúbito lateral

En las fibras tipo I para los caballos anestesiados en DL existen cambios en los minutos 90 y 120 donde se observa un aumento y una disminución del mismo a los minutos 20 y 60. En las fibras tipo IIA no se puede realizar una comparación pues en los caballos muestreados antes de la anestesia no se pudieron obtener datos al respecto, tal vez esto debido a algún error en el manejo de las muestras o simplemente se hallaron este tipo de fibras. En las fibras tipo IIX existe un aumento de la capacidad glucolítica a los minutos 90 y 120 de la anestesia con respecto a los valores basales y una disminución del mismo al minuto 60 (gráfica 13 y cuadro III).

SDH (Succinil deshidrogenasa)

Caballos antes de la anestesia

Los datos estadísticos arrojados con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX con respecto a la densidad óptica (DO) de la capacidad oxidativa para los caballos antes de la anestesia, se pueden observar en el cuadro I.

Caballos anestesiados en decúbito dorsal

En las fibras tipo I se observan disminuciones en la capacidad oxidativa en todos los tiempos que fueron muestreadas, teniendo que su densidad óptica o capacidad oxidativa más baja se presenta al minuto 60 de haber iniciado la anestesia. Para las fibras tipo IIA se observa una disminución en la capacidad oxidativa de estas fibras al minuto 90, sin embargo el número de ellas es de $n=1$. Al igual que las fibras tipo I, en las fibras tipo IIX las fibras musculares durante toda la anestesia presentaron una disminución de la capacidad oxidativa (gráfica 15, cuadro III).

Caballos anestesiados en decúbito lateral

En las fibras tipo I la capacidad oxidativa de las fibras musculares se observa disminuida durante toda la anestesia. Las fibras tipo IIA la capacidad oxidativa aumenta a los minutos 60 y 90 y es disminuida a los minutos 20; no existen datos para el minuto 120 pues durante el muestreo no se obtuvieron este tipo de fibras. Durante la anestesia se observa que hay un aumento en esta capacidad para las fibras tipo IIX al minuto 60, pero el resto de los minutos existe una disminución de la capacidad oxidativa (gráfica 15 y cuadro III).

ATPasa Ácida

Caballos antes de la anestesia

Los datos estadísticos arrojados con respecto a la media y desviación estándar de las fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIX con respecto a la densidad óptica (DO) de la velocidad de contracción para los caballos de pie, se pueden observar en el cuadro I, gráfica 16.

Caballos anestesiados en decúbito dorsal

Los tres tipos de fibras (I, IIA, IIX) que se evaluaron con respecto a la velocidad de contracción en los caballos anestesiados en decúbito dorsal, se observa que se presentó durante toda la anestesia una disminución en la capacidad contráctil con respecto a los

datos basales establecidos por los caballos muestreados antes de la anestesia (gráfica, 16, 17, cuadro II y III).

Grupo decúbito lateral

Al igual que en las fibras musculares de los caballos anestesiados en DD, los caballos en DL presentan una disminución de esta reacción, sin embargo se puede observar un aumento de la misma en los minutos 210 de las fibras tipo I. Con respecto a las fibras tipo IIA se observa un aumento en los minutos 20 y en el resto de los mismos una disminución. Para las fibras tipo IIX disminuye la capacidad contráctil en los minutos 60 y 90, permanece igual al minuto 120 y aumenta al los 20 minutos de haber iniciado la anestesia (gráfica 17, cuadro II y III).

6. DISCUSIÓN

La mayoría de los trabajos se han enfocado a analizar la adaptación muscular del caballo después de la anestesia, estudiando las enzimas séricas relacionadas al músculo esquelético y sus cambios a nivel fisiológico. Por otra parte, existen estudios en donde solo detallan las modificaciones que sufre el músculo después de la anestesia (Edner, 2002; Edner et al, 2009), sin ofrecer datos precisos sobre los posibles cambios que se pueden presentar durante el proceso anestésico.

En este trabajo se presenta un análisis de los cambios morfológicos, metabólicos y contráctiles de las fibras musculares del músculo esquelético en el caballo durante la anestesia inhalada, donde se pudieron observar algunos cambios sobre todo a nivel del metabolismo de la fibra muscular del caballo.

Las fibras tipo I tienen un contenido de mitocondrias y capacidad oxidativa dos veces superior a las fibras tipo II (Ronéus (1991), es decir, que puede existir una modificación del tipo I al tipo II dependiendo de los factores a los cuales haya sido expuesto el músculo esquelético. En el presente estudio no fue posible encontrar cambios en el tipo de fibras, debido al corto período en el cual se utilizaron los caballos durante la anestesia; y aunado a que estos animales no realizaban ninguna actividad física durante su estancia para esta

investigación, por ello, no fue posible encontrar cambios con respecto a la tipificación fibrilar bajo las condiciones a las cuales fueron sometidos estos animales.

Es importante entender que el control del fenotipo muscular es regulado por múltiples factores, unos de origen miogénico (herencia, raza, edad) y otros extra-miogénicos (entrenamiento, nutrición, fármacos, etc.) López-Rivero (2007) señala que la interacción entre ellos depende el porcentaje de los diferentes tipos de fibras presentes en cada músculo.

Durante la anestesia los caballos anestesiados en DD presentaron cambios con respecto al área transversal de las miofibras (disminución) probablemente a que existe una disminución de su metabolismo. Bradley (1981) encontró que de manera experimental, al provocar hipertermia maligna (HM) en cerdos mediante el uso de anestesia inhalada con halotano, el porcentaje de las fibras tipo II tiende a ser incrementado mientras que su área transversal celular se modifica haciéndose más grande que las fibras tipo I esto provocado por la existencia de hipermetabolismo de las miofibras, lo que no ocurrió con las fibras musculares de los caballos empleados en este trabajo.

Las fibras musculares de los caballos anestesiados en decúbito lateral (DL) presentaron diferencias en el tamaño de las células, pero se considera que el aumento del área transversal, está relacionada a la actividad física por más de tres meses y no a un período de anestésico de 120 minutos. Nuestro interés de determinar el área transversal de las fibras musculares durante la anestesia inhalada fue conocer si se presentaban alteraciones a nivel del tamaño de dichas células. De esta manera los datos obtenidos en este estudio, muestran ligeros cambios con respecto al área transversal de las fibras musculares pero consideramos que es necesario evaluar mediante otros estudios, si estos cambios son relevantes para éste durante la anestesia y sus posibles acontecimientos durante la recuperación del caballo.

La plasticidad que poseen las fibras musculares esqueléticas permite responder a diferentes factores intrínsecos y extrínsecos (Booth F.W, 1980, Jarvis J.C. 1996), de esta manera, si las fibras de los caballos colocados en posición de DD al igual que las de los caballos en DL, mostraron un aumento en el número de capilares con respecto a sus parámetros basales, nos puede indicar que existan modificaciones en el metabolismo muscular (Santini, 19988).

Cuando el músculo requiere mayor cantidad de O₂, se estimula un incremento en la cantidad de capilares, para poder suplir las necesidades de oxígeno en la fibra muscular (Saltini, 1988), debido a que, cuando la difusión de los gases se reduce hacia las células se incrementa la capilaridad. Las fibras musculares de los caballos anestesiados en decúbito lateral presentaron diferencias muy pequeñas con respecto a sus parámetros basales en la densidad de capilares, lo cual se pueda atribuir a que en esta posición se presentan menos cambios nivel respiratorio y cardiovascular (Taylor, 2001), ayudando a que exista un mejor aporte de oxígeno hacia a los tejidos.

Se sabe que el aumento en el número de núcleos celulares se debe a una posible regeneración celular (Quiroz, 2001). Durante la anestesia se observó que los caballos en DD aumentaron la densidad de núcleos en las fibras tipo I y IIX, al igual que en los de DL en las fibras tipo IIX. Se pudiera pensar que la necesidad en “adaptarse” a estímulos farmacológicos como el de la anestesia y a los acontecimientos generados durante la misma tales como la hipotensión y la disminución en el aporte de oxígeno, pudiera haber provocado un incremento en el número de núcleos celulares.

Con respecto a la actividad glucolítica de las células musculares de los caballos anestesiados en decúbito dorsal, se observó una disminución en el consumo del glucógeno, debido a una posible baja en el aporte de oxígeno tisular hacia el final de la anestesia tal y como lo encontró Ferreira (1998) en un estudio realizado en ratas expuestas a anestesia con halotano durante un largo período de tiempo. En los caballos anestesiados en decúbito lateral solo existe un aumento de esta actividad en la parte final de la anestesia tal vez debido a que en esta posición hay una buena oxigenación hacia los tejidos ya que uno de los pulmones del caballo se mantiene trabajando de manera normal y el otro se encuentra comprimido entre el peso del animal y la mesa de cirugía. De esta manera durante la anestesia, tal vez no se requiere de emplear otras rutas metabólicas para el mantenimiento energético de la fibra muscular. En el grupo de caballos anestesiados en decúbito lateral, el glucógeno se mantiene de cierta manera constante y la actividad glucolítica se mantiene baja. Se menciona que en pacientes humanos ciertos anestésicos inhalados como el isoflurano y el halotano, pueden intensificar los defectos de los canales de iones e

incrementar el metabolismo muscular, es decir reacciones químicas que le proporciona energía a los músculos, así mismo, el metabolismo y la contracción aumentado (Rosenberg, et al; 2004).

El glucógeno, por medio de distintos procesos metabólicos se convierte en ATP. Si el proceso requiere de gran cantidad de energía, éste se obtendrá por medio de la glucólisis y parte se convertirá en ácido láctico, para éste proceso no hace falta oxígeno. Por el contrario, si el proceso es menos intenso el glucógeno o glucosa pasará por el ciclo de Krebs y será necesaria la utilización del oxígeno. No obstante, por ejemplo, cuando se aumenta la intensidad del ejercicio, no llega comparativamente tanto oxígeno al músculo, aunque sigue siendo suficiente como para que toda la energía provenga del metabolismo aeróbico; en esta situación, hay un aumento en la utilización del glucógeno muscular (Loving, 2007). Si bien el glucógeno se consume por la demanda energética muscular, se piensa que este también es consumido en condiciones de estrés y de una disminución del oxígeno hacia los tejidos musculares como en la anestesia.

Cuando hay una disminución en el aporte de oxígeno, existen factores que favorecen al cambio de fibras de tipo I a tipo IIA y después a IIX (López-Rivero, 2007), por lo que se puede inferir, que durante la anestesia no existieron factores que pudieran haber modificado el tipo de fibras en estos caballos por la disminución en el aporte de oxígeno al tejido muscular durante la anestesia. Así mismo, durante la anestesia general en el caballo, se pueden presentar muchas dificultades a nivel fisiológico y en especial a nivel cardio-respiratorio, por lo que el aporte sanguíneo y de oxígeno se ve disminuido en muchos de estos procesos (Kronen, 2003; Muir, 2001), como se pudo observar en los caballos anestesiados en decúbito dorsal. De esta manera, si bien al existir una disminución en la entrega de O₂ a los músculos durante la anestesia, se pensaría que se puede llegar a desarrollar cambios en la tipificación de las fibras musculares, sin embargo esto no modificó el tipo de fibras. La gráfica 13 muestra un ligero aumento en la capacidad glucolítica en los caballos anestesiados en decúbito lateral en las fibras tipo I y IIX hacia el final de este proceso, así mismo debido a los problemas que se pueden presentar durante la anestesia y en específico a la hipoxemia por

la que pueden llegar a cursar los caballos (Luna, 1996; Steffey, 2003) podemos decir que se va a producir un aumento en el consumo de glucógeno, o en su actividad glucolítica.

La mayoría de las células que se estudiaron en el presente trabajo son fibras tipo I (con alta capacidad oxidativa y están particularmente presentes en caballos con poca o nula actividad física. Esta capacidad disminuyó prácticamente en todas las fibras muestreadas tanto en caballos en DD y DL. Esta actividad se presenta mayormente disminuida hacia el minuto 20 en las fibras tipo IIA en caballos anestesiados en DL. Como se mencionó anteriormente, debido a que los caballos recibieron una ventilación adecuada durante la anestesia, se piensa que estos animales presentaron un aporte adecuado de O_2 hacia el músculo esquelético por lo que esta puede ser una explicación a la disminución que se presentó al respecto.

Por otra parte, la actividad de la mATPasa ácida de las fibras en el tiempo en el que fueron evaluadas en DD, presentó una disminución en su capacidad contráctil en las fibras tipo I y IIX. En este sentido cabe recordar que esta actividad de mATPasa tiene un comportamiento paralelo a la capacidad oxidativa de las células musculares (Stjenstro 1981), por lo que también, los caballos anestesiados en decúbito lateral se llegaron a observar disminuciones en la capacidad contráctil de las fibras al igual que la capacidad oxidativa.

La adaptación se define como un cambio estable que se produce en las propiedades estructurales o funcionales de las células y tejidos después de un período de estímulo repetido, aunque el estímulo se detenga, la adaptación se mantiene durante un tiempo antes de empezar a desaparecer (Lopez-Rivero 1993b). Algunos estudios en los cuales se implica la anestesia general inhalada en el caballo con el músculo esquelético, demuestran que los cambios a nivel de este tejido están directamente ligados a los cambios cardiovasculares y respiratorios en el caballo (McLoughlin, 1987). Estos cambios se representan en el lactato aumentado en sangre como producto de una baja en la presión arterial media (hipotensión) que favorece al incremento en la producción del mismo como resultado de la hipoxia e incluso de la isquemia muscular, así como del incremento en la presión arterial de CO_2 (Edner, 2002; 2005; 2009). Si bien en el presente estudio no se realizó una correlación estadística directa entre la presión arterial de oxígeno (PaO_2), así como de la

presión arterial de dióxido de carbono (CO₂) y los sucesos relacionados al metabolismo muscular y la posición de los caballos durante la anestesia, no se puede inferir con certeza si los pocos cambios antes mencionados y observados en el presente trabajo, están ligados a algún tipo de cambio que nos pueda dar un indicio de que se está originando un problema patológico en el músculo esquelético.

En los datos de los valores fisiológicos de los caballos durante la anestesia, se puede observar información valiosa que puede ser utilizada en otro estudio con respecto al comportamiento de los gases sanguíneos en los caballos anestesiados a la altura de la Ciudad de México (2240msnm).

Por otra parte los cambios observados se presentaron principalmente en el metabolismo de las fibras musculares de los animales en ambos casos (DD y DL), con pocos cambios en su morfología, de esta manera, este estudio pretende dar las bases para que a futuro se puedan realizar un análisis más profundo en este sentido.

7. CONCLUSIONES

Se concluye que durante la evaluación de las fibras musculares del músculo esquelético del caballo bajo estas condiciones de anestesia general utilizando xilazina-ketamina-isoflurano, existen cambios a nivel del metabolismo celular, y pocos en la morfología de las fibras musculares. Los cambios que se llegaron a presentar durante la anestesia, están ligados al metabolismo muscular y en su mayoría a la posición en decúbito dorsal. De esta manera, se deben de evaluar estos acontecimientos utilizando un mayor número de caballos, así como caballos más pesados (\uparrow 500kg), y bajo anestesia inhalada de al menos de 6 horas de duración para poder observar el desenlace de los cambios que se presentaron posteriores a los 120 min de la anestesia. Así mismo, es necesario evaluar y correlacionar otros factores como los efectos cardio-respiratorios durante la anestesia y relacionarlos con los cambios metabólicos que se puedan presentar a nivel de la fibra muscular, mismos que nos pudieran dar un panorama más amplio acerca del comportamiento muscular durante la anestesia inhalada en el caballo.

8. LITERATURA CITADA

1. Muir WW, Hubbel AEJ. Equine Anesthesia. Monitoring and therapy. 1991. Ed Mosby Year Book.
2. Mansmann RA. Et al., Equine Medicine and surgery. American veterinary publications, 1982 Third edition, volume two..
3. Richey, M.T., Holland, M.S., McGrath, C.J., Dodman, N.H., Marshall, D.B., Court, M.H., Norman, W.M. and Seeler, D.C. Equine post-anesthetic lameness, a retrospective study. *Veterinary Surgery*, 1990. 19: 392-397.
4. Rijkenhuizen, A.B.M. and van Dijk, P. The incidence of post-anaesthetic myopathy with the use of a static air mattress. *Pferdeheilkunde* 1998. 14: 131-134.
5. White, N.A. and Suarez, M. Change in triceps muscle intracompartmental pressure with repositioning and padding of the lowermost thoracic limb of the horse. *American Journal of Veterinary Research*. 1986. 47: 2257-2260.
6. Grandy JL, Steffey EP, Hodgson DS et al. Arterial hypotension and the development of postanaesthetic myopathy in halothane-anaesthetized horses. *American Journal of Veterinary Research*. 1987 48: 192–197.
7. Dodman NH, Williams R, Court MH et al. Postanaesthetic hind limb adductor myopathy in five horses. *J Am Vet Med Assoc*. 1988, 193: 83–86.

8. Lindsay WA, McDonell W, Bignell W. Equine postanaesthetic fore limb lameness: intracompartmental muscle pressure changes and biochemical patterns. *Am J Vet Res.* 1980, 41: 1919–1924.
9. Friend SCE. Postanaesthetic myonecrosis in horses. *Can Vet J.* 1981, 22: 367–371.
10. Branson KR, Benson GJ, Thurmon JC et al. Haemodynamic parameters and tissue oxygenation during halothane anaesthesia in normal horses and those experiencing post anaesthetic lameness. *J Equine Vet Sci.* 1992, 12: 153–159.
11. Lindsay, W.A., Pascoe, P.J., McDonell, W.N. and Burgess, M.I. Effect of protective padding on forelimb intracompartmental muscle pressures in anesthetized horses. *Am J Vet Res.* 1985. 46: 688-691.
12. Heppenstall, R.B., Scott, R., Sapega, A.A., Park, Y.S. and Chance, B. A comparative study of the tolerance of skeletal muscle to ischemia. Tourniquet application compared with acute compartment syndrome. *J Bone Joint Surg Am.* 1986, 68: 820-828.
13. García LA. Diplomado en medicina y cirugía de equinos, modulo IV: Manifestaciones de enfermedades neurológicas y problemas anestésicos. (Memorias) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 2002.
14. Núñez HE. Diplomado en medicina y cirugía de equinos, modulo IV: Manifestaciones de enfermedades neurológicas y problemas anestésicos. (Memorias) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 2002.
15. Robertson, S.A. Some metabolic and hormonal changes associated with general anaesthesia and surgery in the horse. *Equine Vet J.* 1987, 19, 288-294.
16. Luna, S. P., P. M. Taylor, and M. J. Wheeler. Cardiorespiratory, endocrine and metabolic changes in ponies undergoing intravenous or inhalation anaesthesia. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1996, 19, 251–258.
17. Edner, A., G. Nyman, and B. Esse´ n-Gustavsson. The relationship of muscle perfusion and metabolism with cardiovascular variables before and after detomidine injection during propofol–ketamine anaesthesia in horses. *Vet. Anaesth. Analg.* 2005, 29, 182–199.
18. Edner A.H: Nyman C.G: Metabolism during anaesthesia and recovery in colic healthy horses: a microdialysis study. *Acta veterinaria Scandinavica* 2009, 51:10.

19. Dubowitz, V. Muscle biopsy: A practical approach, Baillière Tindall, London. 1985, 2nd ed.
20. Fawcett, D. W.: Connective tissue proper. In Bloom and Fawcett. A Textbook of Histology Philadelphia, W. B. Saunders. 1986, Ed. 1 I. pp. 136-173.
21. Andrews, FM. Spurgeon, T.L. Histochemical staining characteristics of normal horse skeletal muscle American Journal of veterinary research, 1986, 47: 1843-1852.
22. Sacks, D. Roy, R. Architectural, histochemical, and contractile characteristics of a unique biarticular muscle: the cat semitendinosus. J of Neurophysiology. 1982, 48 (1):192-201.
23. Brooke MH, Kaiser KK. Muscle fibers types: how many and what kind. Arch Neurol. 1970, 23:341-349.
24. Pette D, Staron S. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibres. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 1990, 116:1-76
25. Berchtold MW, Brinkmeier H, Müntener M Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. Physiol Rev. 2000, 80:1215-1265.
26. Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. *Molecular Biology of the Cell*. Fifth Edition Garland. 2004.
27. Reggiani C, Mascarello F. Fiber types identification and functional characterization in adult livestock animals. Physiology Genetics and meat quality. edit MFW PASME Everts HP CABI publishing. 2004, 539-563.
28. Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Muscle fibers types and function. Curr Opin Rheumatol. 1993, 5:695-705.
29. Ashmore, C. R., & Doerr, L. Comparative aspects of muscle fiber types in different species. Experimental Neurology. 1971, 31, 408-418
30. Koolman Jan. Bioquímica, texto y atlas. Tercera Edición., Editorial Panamericana, 2004.
31. De Luca L. Fisiología del Ejercicio. Laboratorios Burnet, 2005.
32. López Rivero J. Patrones morfométricos e histoquímicos de la población fibrilar del músculo glúteo medio del caballo en razas de diferentes aptitudes. Tesis de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba España. 1988.

33. Hoppeler, H. Claasen, H. Howal, H Straub R. Correlated histochemistry and morphometry in equine skeletal muscle. *Equine Exercise Physiology*. D.H. Snow S.G.B. Pearson and R.J. Rose, Eds. Granta Editions, Cambridge, 1983, pp. 184-192.
34. Benowitz LI, Routtenberg A. GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. 1997 *TINS* 20:84-91.
35. Alho K, Kujala T, Paavilainen P, Summada H, Naatanen R. Auditory processing in visual brain areas of the early blind: evidence from event-related potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993, 86:418-427;
36. Kaas JH Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. *Annu Rev Neurosci* 1991, 14:137-167;
37. Becker V. Gonzalez H. Alvarez R. Bäermaann, Irlles C., Ortega A. Effect of endurance on the Ca²⁺ pumps from transverse tubule and sarcoplasmic reticulum of rabbit skeletal muscle. *Journal of Apply Physiology* 2004, 97: 467-474,
38. López-Rivero JL, Boffi FM Aparato musculoesquelético: Respuesta y adaptación. En: *Fisiología del ejercicio en equinos*. FM Boffi (Ed), Intermédica, Buenos Aires, 2007, Capítulo 6, pp 105-116; .
39. Gunn HM Muscle, bone and fat proportions and muscle distribution of thoroughbreds and quarter horses. In: *Equine exercise physiology 2*. JR Gillespie, NE Robinson (Eds), ICEEP Publications, Davis, CA, 1987, pp 253-264.
40. Hinchcliff KW, Geor RJ Integrative physiology of exercise. In: *Equine sports medicine and surgery, basic and clinical sciences of the equine athlete*. KW Hinchcliff, AJ Kaneps, RJ Geor (Eds), Saunders Elsevier, Edinburgh, 2004, Chapter 1, pp 3-8.
41. Booth FW, Baldwin KM. Muscle plasticity: energy demand and supply processes. In: Rowell LB, Shepherd JT (eds) *Handbook of physiology*. American Physiological Society. Bethesda, Md. 1996, 1075–1123.
42. Hencke, P Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of Young standardbred trotters. *Equine Veterinary Journal*, 1983b, 15: 134-140..
43. Klausen K Andersen, LB; Adaptative changes in work capacity skeletal muscle capillarization and enzyme levels during training and detraining. *Acta Physiol. Scand* 1981, 113: 9-16..

44. Low M, Sandoval D, Avilés E, Pérez F, Nualart F, Henríquez JP The ascorbic acid transporter SVCT2 is expressed in slow-twitch skeletal muscle fibres. *Histochem. Cell Biol* 2008, 131: 565-574
45. Barlow, D.A., J.M. Lloyd. Equine muscle fiber types: a histological and histochemical analysis of select Thoroughbred yearlings, *Vet. Bull. Abstr.* 1984, 54 (10): 6850.
46. Raamsdonk W. van. Differentiation of muscle fiber types in the teleost *Branchydanio rerio*, the zebrafish, *Anatomy and embryology*; 2004, 51-62.
47. Quiroz Rothe E, López R. Co-ordinated expression of contractile and non-contractile features of control equine muscle fibre types characterised by immunostaining of myosin heavy chains. *Histochemistry and Cell Biology.* 2001, 116: 299-312
48. Rome LC, Sosnicki AA, Goble DO. Maximum velocity of shortening of three fibre types from horse soleus muscle: implications for scaling with body size. *J Physiol.* 1990, 431:173-85.
49. Rivero JL, Serrano AL, Barrey E, Valette JP, Jouglin M. Analysis of myosin heavy chains at the protein level in horse skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil.* 1999, 20(2):211-21
50. Kline, K.H., L.M. Lawrence, J. Nova-Kowsky, P.J. Bechtel. Changes in muscle fiber type variation within the middle gluteal of young and mature horses as a function of sampling depth. pp.: 271-277. En: J. R. Gillespie and N. E. Robinson (eds.) *Equine Exercise Physiology.* ICEEP Publications, Davis, California, USA, 1987.
51. Miyata H, Sugiura T, Kai M, Hiraga A, Tokuriki M. Muscle adaptation of Thoroughbred racehorses trained on a flat or sloped track. *Am J Vet Res.* 1999, 60; 1536–1539.
52. Peter JB, Barnard RJ, Edgerton VR, Gillespie CA, Stempel KE. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* 1972, 4; 11(14):2627-33.
53. Guth L, Samaha F. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp. Neurol.* 1970, 28, 365-367.
54. Erzen I, Sirca A. The nonspecificity of the lead method for the histochemical demonstration of adenosine triphosphatases in human skeletal muscle fibres. *J Anat.* 1985, 140 (1):13-23

55. Sigel P, Pette D. Intracellular localization of glycogenolytic and glycolytic enzymes in white and red rabbit skeletal muscle: a gel film method for coupled enzyme reactions in histochemistry. *Journal of Histochem Cytochem* 1969, 17(4):225-37.
56. Greene SA, Thurmon JC. Xylazine - a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* . 1988;11:295-313.
57. Matthews NS, Hartsfiel SM, Cornick JL, Williams JD, Bealsey A. A comparison of injectable anesthetic combinations in horses. *Vet Surg* 1991;20:268-273.
58. Sarazan RD, Strake WA, Krause GF. Cardiovascular effects of detomidine, a new α -2 adrenoceptor agonist, in the conscious pony. *J Vet Pharmacol Ther* 1989;12:378-388.
59. Lumb WV, Jones JP. *Veterinary anesthesia*. 3rd ed. Urbana (IL): Williams and Wilkins, 1999.
60. Dyke MT. Sedatives, tranquilizers and stimulants. *The Veterinary clinics of North America. Equine Practice*, 1993; 9 3: 626.
61. Aubin M.L. Mama K. Field anesthetic techniques for use in horses. *Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 2002, 25 No. 5. 411-417.
62. Domino EF, Chodoff P, Corsen G. Pharmacologic effects of CI-581, a new dissociative anesthetic in man. *Clin Pharmacol Ther* 1965;6:279-291
63. White PF, Way WL, Trevor AJ. Ketamine – its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 1982;56:119-136.
64. Bion JF. Intrathecal ketamine for war surgery. A preliminary study under field conditions. *Anaesthesia* 1984;39:1023-1028.
65. Toft P, Romer U. Comparison of midazolam and diazepam to supplement total intravenous anaesthesia with ketamine for endoscopy. *Can J Anaesth* 1987;34:466-469.
66. Reves JG, Flezzani P, Kissin I. Intravenous anesthetic induction drugs. En: Kaplan JA (Ed). *Cardiac Anesthesia* (2 nd ed) New York: Grune and Stratton 1987:1381-41.
67. Burrows FA, Norton JB, Fewel J. Cardiovascular and respiratory effects of ketamine in the neonatal lamb. *Can Anaesth Soc J* 1986;33:10-15.
68. Bourke DL, Malit LA, Smith TC. Respiratory interactions of ketamine and morphine. *Anesthesiology* 1987; 66:153-156.
69. White PF, Schuttler J, Shafer A. et al. Comparative pharmacology of the ketamine

isomers. *Br J Anaesth* 1985; 57:197- 203.85

70. Cronnelly R, Dretchen KL, Sokoll MD, Long JP. Ketamine myoneural activity and interaction with neuromuscular blocking agents. *Eur J Pharmacol* 1973; 22:17 -22.
71. Marwaha J. Some mechanisms underlying actions of ketamine on electromechanical coupling in skeletal muscle. *J Neurosci Res* 1980; 5:43 -50.
72. Carranza T.G. Anestésia Fija en equinos. (Trabajo final escrito de la práctica profesional supervisada) México D.F.: UNAM 1995.
73. Torres O.A. Tellez R.R.E. Adding Pentobarbital to the Xylazine-Ketamine protocol to improve general anaesthesia conditions during surgery of equines in field conditions in Mexico. The fifth international colloquium on working equines; memories edited by: R.A. Pearson, Centre for Tropical Veterinary Medicine, Division of Veterinary Clinical Sciences University of Edinburg, 2006.
74. Wan PY, Trim CM, Mueller PO. Xylazine-ketamine and detomidine-tiletamine-zolazepam anesthesia in horses. *Vet Surg* 1992;21:312-318.
75. Waterman AE, Robertson SA, Lane JG. Pharmacokinetics of intravenously administered ketamine in the horse. *Res Vet Sci* 1987;42:162-166.
76. Bowen JM. Isoflurane. *Georgia Vet* 1986; 38:8.
77. Benson CJ. The hemodynamic, tissue oxygenation, and selected biochemical effects of isoflurane and halothane anesthesia in horses. *J Equine Vet Sci* 1992;7:396-409.
78. Cuvelliez S, Reel G, Blais D, Salmon Y, Troncy E, Lariviere N. L'anesthésie intraveineuse chez le cheval: comparaison des combinaisons xylazine-ketamine et xylazine-tiletamine-zolazepam. *Can Vet J* 1995; 36:613-618.
79. Brocke N, Hildebrand V. A comparison of xylazine-diazepam-ketamine and xylazine-guaifenesin-ketamine in equine anesthesia. *Vet Surg* 1990; 19:468-474.
80. Cribb PH. The effects of prolonged hypotensive isoflurane anaesthesia in horses: post-anaesthetic myopathy. *Vet Surg.* 1998, 164–165.
81. Dunlop CI, Steffey EP, Miller MF et al..Temporal effects of halothane and isoflurane in laterally recumbent ventilated male horses. *Am J Vet Res* 1987, 48, 1250–1255.

82. Rasis AL, Young LE, Blissitt KJ et al..A comparison of the haemodynamic effects of 1.2 MAC isoflurane and halothane anaesthesia in horses premedicated with romifidine and induced with ketamine. *Equine Vet J* 2000 b, 32, 318–326.
83. Kronen PW. *Anesthetic management of the horse: Inhalation Anesthesia*, International Veterinary Information Service, 2003.
84. Rasis LA. Skeletal muscle blood flow in anaesthetized horses. Part II: Effects of anaesthetics and vasoactive agentes. Review. *Vet Anasthe and Anal*, 2005, 32, 6 331-337.
85. Duke T. Read E. Clinical observations surrounding an increased incidence of postanesthetic myopathy in halothane-anesthetized. *Vet Anaesthesia and analgesia*. 2006, 33, 122-127.
86. Mama KR, Pascoe PJ, Steffey EP, Kollias-Barker C. Comparison of two techniques for total intravenous anesthesia in horses. *American Journal of Veterinary Research* 1998, 59 10:1292-8.
87. Sumano H. Lizarraga I. et al., Reacciones adversas de los fármacos en los equinos. *Veterinaria México*. 2000, 31 4: 29-354.
88. Bevan DR. Complicationes of muscle relaxants. *Semin Anesthesia*, 1995, 4: 63-70,.
89. Robinson R. Carpenter D. Shaw MA. Haliill J. Hopkins P. Mutations in RYRI in malignant hyperthermia and central core disease. *Hum Mutai* 2006: 27:977-989.
90. Stowell KM. Malignant hyperthermia: a pharmaeogenelic disorder. *Pharmacogenomics* 2008: 9:1657-1672.
91. Kunst Cl. Grsaf BM. Sehreiner R, Martin F. Fink RHA. Differential effects of sevotlurane. isoflurane, and halothane on Ca" release from the sareoplasmic retieulum of skeletal muscle. *Anesthesiology* 1999; 91:179-186.
92. Matsui K. Fujioka Y, Kikuchi H. Yuge O. Fujii K. Effects of several volatile anesthetics on the Ca-related functions of skinned skeletal muscle fibers from the guinea pig. *Hiroshima J Med Sci* 1991: 40:9-13.
93. Weaver, B. M. Q., and C. E. M. Lunn, Muscle perfusion in the horse. *Equine Vet. J.* 1984, 16, 66–68.

94. Goetz TE, Manohar M.. A study of the effect of isoflurane anaesthesia on equine skeletal muscle perfusion. *Equine veterinary journal supplement*. 1989, Jun 7, 133-7.
95. Edner A. Muscle Metabolic Changes Associated with long-term Inhalation Anaesthesia in the horse Analysed by Muscle Biopsy and Microdialysis techniques. *Journal of Veterinary Medicine*, 2005 series A Vol. 52 (2) 99-107.
96. Blanco C.E. et al. Quantitative determination of succinic dehydrogenase activity in skeletal muscle fibres. *Journal of Histochemistry*, 1988, 20: 230-243.
97. Blanco C.E, et al. Quantitative determination of calcium activated myosin adenosine triphosphatase activity in rat muscle fibres. *Journal of Histochemistry*. 1992, 24: 431-444.
98. Martin T.P. et al. Quantitative histochemical determination of muscle enzymes: biochemical verification. *Journal of Cytochemic*, 1985, 33: 1053-1059.
99. Nwoye L. et al. Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties. *American Journal of Physiology*, 1982, 242: R401-R408.
100. Wells WA, Rainer RO, Memoli VA. Equipment, standardization, and application of image processing. *Am. J. Clin. Pathol.*1993, 99: 4856.
101. Garcia L.A and col. The influence of Butorfanol dose on characteristics of xylazine-butorfanol-propofol anesthesia in horses at altitude. *Vet Ana and Anal*. 2006: 33, 104-110.
102. Ronéus, M.A; Lindholm, M; Asheim; Muscle characteristics in thoroughbreds of different ages and sexes. *Journal of Equine Veterinary*. 1991, 23: 207-210.
103. Bradley R. Fell BF. Myopathies in animals. In: Walton Sir John. ed. *Disordm q/voluntarj. Muscles*. 4th ed. Edinburgh: Churchill Livingston. 1981:389
104. Booth, F.W. Seider, M.J. Effects of disue by limb immobilization of diferent muscle fiber types. In *Plasticity of Muscle*. D. Pette; Walter de Gruyter, Ed. Berlin-New York: 1980, 373-383.
105. Jarvis J.C Mokususch T. Fast to slow transormation in stimulated rat muscle. *Muscle Verve*, 1996, 19: 1469-1474.

106. Santini, M. T., Indovina, P.L. Prostaglandin dependence of membrane order changes during myogenesis in vitro. *Biochimica et biophysica acta* 1988, 938, 489-492.
107. Taylor M.P, Clark K.W. Handbook of equine anesthesia. W. B Saunders, 2001
108. Quiroz R. E. Rivero J.L.L. Co-ordinated expresión of contractile and non-contractile features of control equine muscle fibre types characterised by immunostaining of myosin heavy chains. *Histochemistry and Cell Biology*, 2001, 116: 299-312.
109. Ferreira, L.D., Palmer, T.N. and Fournier, P.A. Prolonged exposure to halothane and associated changes in carbohydrate metabolism in rat muscles in vivo. *Journal of Applied Physiology*. 1998, 84, 1470-1474.
110. Rosenberg H, Mark Davis, Danielle James. Malignant Hypertermia, Scientific Editor: Loïc Guillevin Orphanet 2004.
111. Loving N. Muscle disorders. New treatments and educational updates. AAEP, Wrapup. The Horse March 2007.
112. Muir WW, Hubbell JAE, Skarda RT and Bednarski RM. Manual de anestesia veterinaria (3ª edición), Harcourt-Mosby 2001.
113. Steffey EP, Eisele JH, Baggot JD. Interactions of morphine and isoflurane in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 2003, Feb; 64(2): 166-75.
114. Stjenstroöm, H., L. Jorfeldt, and L. Wiklund, Influence of abdominal surgical trauma upon some energy metabolites in the quadriceps muscle in man. *Clin Physiol*. 1981, 1, 305–312.
115. Lopez-Rivero, J.L., A.M. Diz, J.G. Monterde, E. Intramuscular distribution of fibre types in the Gluteus medius of the horse: A histochemical analysis, *Anat. Histol. Embryol*. 1993 b, 22: 233-240.
116. McLoughlin, J. V., A. M. Wheatley, and P. Wilson, The effect of anaesthetics on the concentration of creatine phosphate, adenosine triphosphate and lactate in brain and skeletal muscle of the rat. *J. Comp. Pathol*. 1987, 97: 341–349.
117. Edner, A., G. Nyman, and B. Esse´n-Gustavsson. The relationship of muscle perfusion and metabolism with cardiovascular variables before and after detomidine injection during propofol–ketamine anaesthesia in horses. *Vet. Anaesth. Analg*. 2002, 29, 182–199.

9

ANEXO

CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I.

VALORES DE LA MORFOLOGIA DE LAS FIBRAS MUSCULARES ANTES DE LA ANESTESIA (CABALLOS DE PIE)

MEDIA Y DESVIACION ESTANDAR DEL TIPO DE FIBRAS DE LOS CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA						
	FIBRAS TIPO I		FIBRAS TIPO IIA		FIBRAS TIPO IIX	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Área	1222.79	832.42	983.29	0	1453.36	1499.18
capilares	2.72	1.23	3	0	2.4	1.4
núcleos	4.82	1.7	4	0	4.6	2.12
PAS	0.57	0.11	0.5	0	0.57	0.1
ALFA PAS	0.41	0.14	0.38	0	0.38	0.14
GDP	0.48	0.22	sd	sd	0.45	0.21
SDH	0.54	0.17	0.69	0	0.51	0.19
ATP AC	0.34	0.14	0.3	0	0.34	0.15

Unidad de medida: Área (μ^2), PAS, ALFA PAS, GDP, SDH, ATP AC (densidad óptica DO)
n= 50 miofibrillas P<0.05 DS (\pm Desviación estándar) P< 0.05

sd = Sin datos

Cuadro II.
VALORES DESCRIPTIVOS DEL FENOTIPO FIBRILAR DURANTE LA ANESTESIA DE LOS CABALLOS

CABALLOS EN POSICION DE DECUBITO DORSAL

	FIBRAS TIPO I								FIBRAS TIPO IIA								FIBRAS TIPO IIX								
	20 min		60 min		90 min		120 min		20 min		60 min		90 min		120 min		20 min		60 min		90 min		120 min		
	media	DS±	media	DS±	Media	DS±	media	DS±	media	DS±	media	DS±	media	DS±	media	DS±	Media	DS±	Media	DS±	Media	DS±	media	DS±	
Area	1096.71	426.93	1064.67	486.16	1122.17	460.71	1364.12	668.33						1557.58	0			1111.21	344.78	786.43	222.76	1059.02	392.53	1065.22	481.28
capilares	2.81	1.13	3.17	1.21	3.15	1.25	3.32	1.37						4	0			2.83	1.44	3.42	1.06	3.22	1.34	3.26	1.2
nucleos	5	1.48	5.29	1.57	4.86	1.48	4.92	1.5						5	0			5.17	1.64	5.21	1.32	4.62	1.48	5.11	1.5
PAS	0.5	0.12	0.5	0.12	0.41	0.12	0.48	0.17						0.42	0			0.49	0.11	0.42	0.13	0.36	0.14	0.37	0.14
ALFA PAS	0.28	0.5	0.34	0.06	0.33	0.06	0.32	0.06						0.28	0			0.29	0.04	0.34	0.07	0.32	0.05	0.31	0.05
GDP	0.48	0.14	0.39	0.13	0.4	0.1	0.42	0.1						0.22	0			0.48	0.13	0.39	0.14	0.35	0.09	0.4	0.08
SDH	0.47	0.12	0.38	0.13	0.47	0.11	0.43	0.11						0.34	0			0.48	0.12	0.43	0.09	0.42	0.1	0.42	0.09
ATP AC	0.17	0.09	0.19	0.16	0.09	0.09	0.15	0.12						0.17	0			0.16	0.09	0.13	0.11	0.16	0.12	0.22	0.13

CABALLOS EN POSICION DE DECUBITO LATERAL

	FIBRAS TIPO I								FIBRAS TIPO IIA								FIBRAS TIPO IIX							
	20 min		60 min		90 min		120 min		20 min		60 min		90 min		120 min		20 min		60 min		90 min		120 min	
	media	DS±	media	DS±	Media	DS±	media	DS±	media	DS±	media	DS±	media	DS±	media	DS±	Media	DS±	Media	DS±	Media	DS±	media	DS±
Area	1063.23	565.26	1200.1	591.62	1424.6	857.04	1238.86	758.07	1033.73	0	789.15	4.45	963.02	0			1436.96	558.2	1316.72	635.37	1398.3	603.3	1468.04	901.72
capilares	2.9	1.13	2.81	1.06	2.72	1.06	2.76	1.16	5	0	1.5	0.71	2	0			3.26	1.04	2.63	1.08	2.75	1.17	2.92	1.24
nucleos	4.33	1.47	4.3	1.57	4.8	1.58	4.52	1.5	4	0	3	1.41	3	0			4.88	1.42	4.68	1.69	4.46	1.44	4.71	1.49
PAS	0.49	0.08	0.5	0.08	0.48	0.11	0.48	0.11	0.4	0	0.44	0.05	0.53	0			0.48	0.09	0.51	0.1	0.49	0.1	0.49	0.12
ALFA PAS	0.33	0.04	0.34	0.07	0.31	0.1	0.33	0.05	0.33	0	0.3	0.06	0.33	0			0.33	0.04	0.34	0.08	0.3	0.09	0.32	0.05
GDP	0.43	0.07	0.4	0.11	0.5	0.11	0.49	0.12	0.32	0	0.48	0.13	0.37	0			0.45	0.07	0.39	0.12	0.5	0.09	0.5	0.12
SDH	0.48	0.14	0.54	0.13	0.44	0.1	0.48	0.16	0.27	0	0.7	0.14	0.59	0			0.48	0.15	0.56	0.12	0.43	0.08	0.45	0.15
ATP AC	0.22	0.1	0.19	0.16	0.26	0.11	0.36	0.22	0.73	0	0.21	0.22	0.16	0			0.73	0.1	0.22	0.14	0.28	0.09	0.34	0.2

Unidad de medida: Área (μ²), Capilares, Núcleos: #; PAS, ALFA PAS, GDP, SDH, ATP AC (densidad óptica OP).

P<0.05 DS (± Desviación estándar)

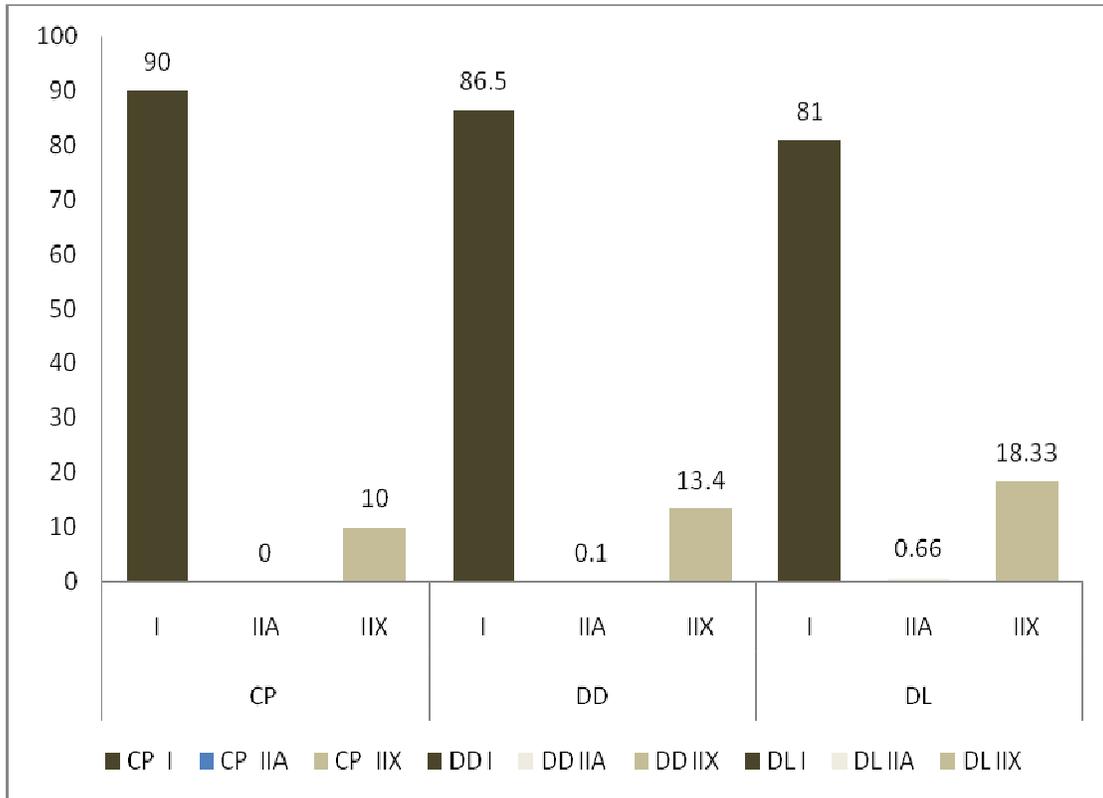
Sin datos

Cuadro III. CAMBIOS A NIVEL DE LAS FIBRAS MUSCULARES ANTES Y DURANTE LA ANESTESIA EN DECUBITO DORSAL (DD) Y DECUBITO LATERAL (DL)

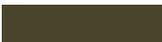
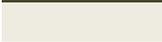
CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA															
	Tipo I	Tipo IIA	Tipo IIX	FIBRAS TIPO I				FIBRAS TIPO IIA				FIBRAS TIPO IIX			
				20 min	60 min	90 min	120 min	20 min	60 min	90 min	120 min	20 min	60 min	90 min	120 min
Area	1222.79	983.29	1453.36	↓	↓	↓	↓			↑		↓	↓	↓	↓
capilares	2.72	3	2.4	↑	↑	↑	↑			↑		↑	↑	↑	↑
nudeos	4.82	4	4.6	↓	↑	↑	↑			↑		↑	↑	=	↑
PAS	0.57	0.5	0.57	↓	↓	↓	↓			↓		↓	↓	↓	↓
ALFA PAS	0.41	0.38	0.38	↓	↓	↓	↓			↓		↓	↓	↓	↓
GDP	0.48		0.45	↓	↓	↓	↓			*		↑	↓	↓	↓
SDH	0.54	0.69	0.51	↓	↓	↓	↓			↓		↓	↓	↓	↓
mATPasa	0.34	0.3	0.34	↓	↓	↓	↓			↓		↓	↓	↓	↓
Area				↓	↓	↑	↑	↑	↓	↓		↓	↓	↓	↑
capilares				↑	↑	=	↑	↑	↓	↓		↑	↑	↑	↑
nudeos				↓	↓	↓	↓	=	↓	↓		↑	↑	↑	↑
PAS				↓	↓	↓	↓	↓	↓	↑		↓	↓	↓	↓
ALFA PAS				↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓
GDP				↓	↓	↑	↑	*	*	*		=	↓	↑	↑
SDH				↓	=	↓	↓	↓	↑	↓		↓	↑	↓	↓
mATPasa				↓	↓	↓	↑	↑	↓	↓		↑	↓	↓	=

NOMENCLATURA: DD decúbito dorsal DL decúbito lateral
 ↓ Disminuye ↑ Aumenta
 = sin cambios * No existen datos de comparación

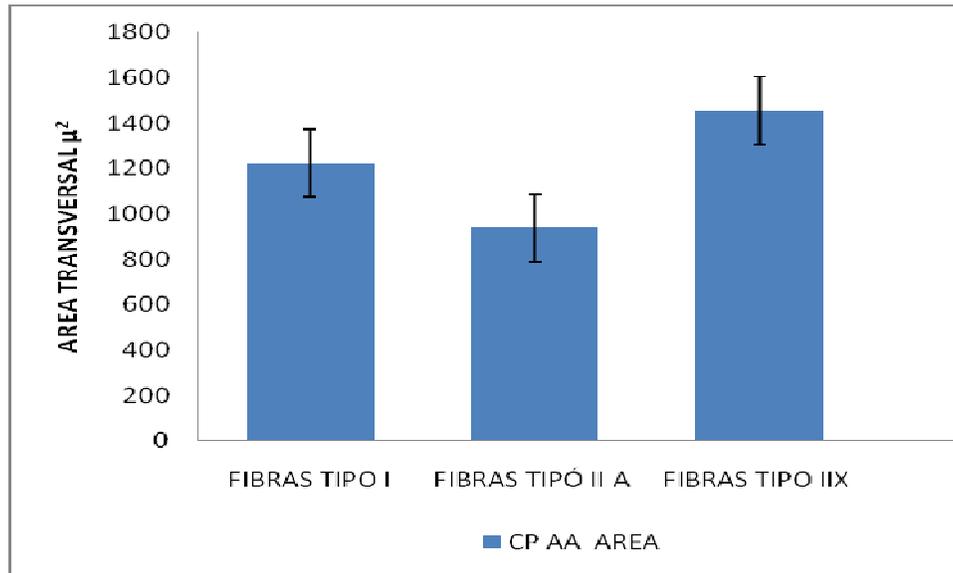
GRÁFICA 1.
PORCENTAJE GENERAL DEL TIPO DE FIBRAS DE LOS CABALLOS
UTILIZADOS EN EL PRESENTE ESTUDIO
Caballos antes de la anestesia, decúbito dorsal y decúbito lateral



CP: CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA
DD: DECUBITO DORSAL
DL: DECUBITO LATERAL

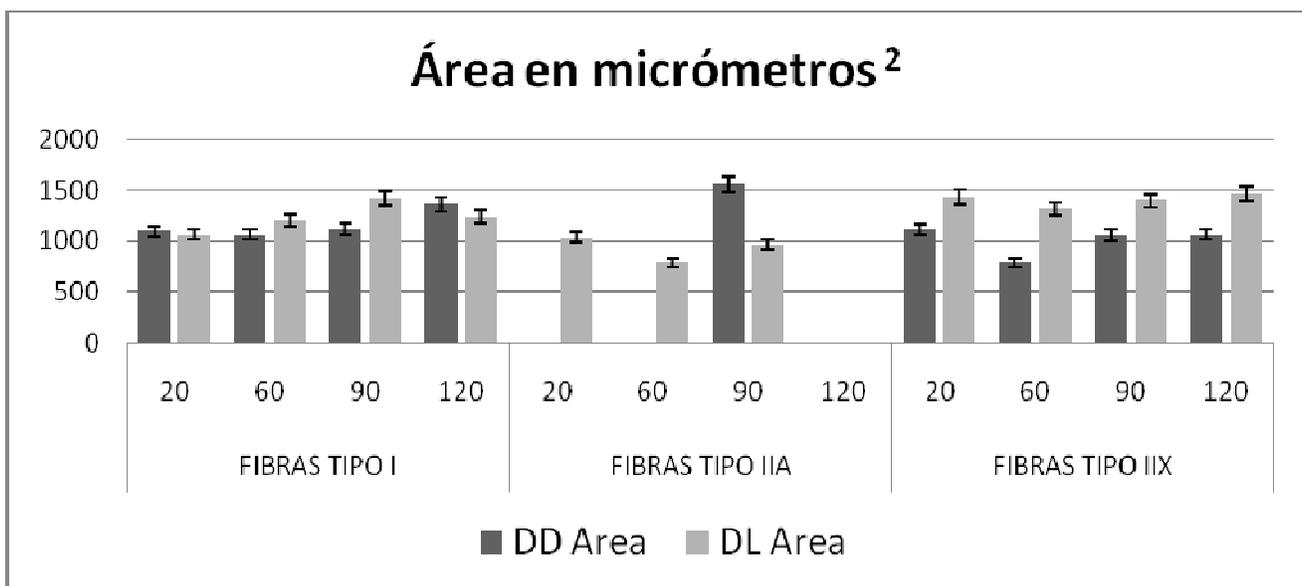
Fibras	Tonalidad
tipo I	
tipo IIA	
tipo IIX	

GRÁFICA 2.
ÁREA TRANSVERSAL DE LAS MIOFIBRAS EN CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



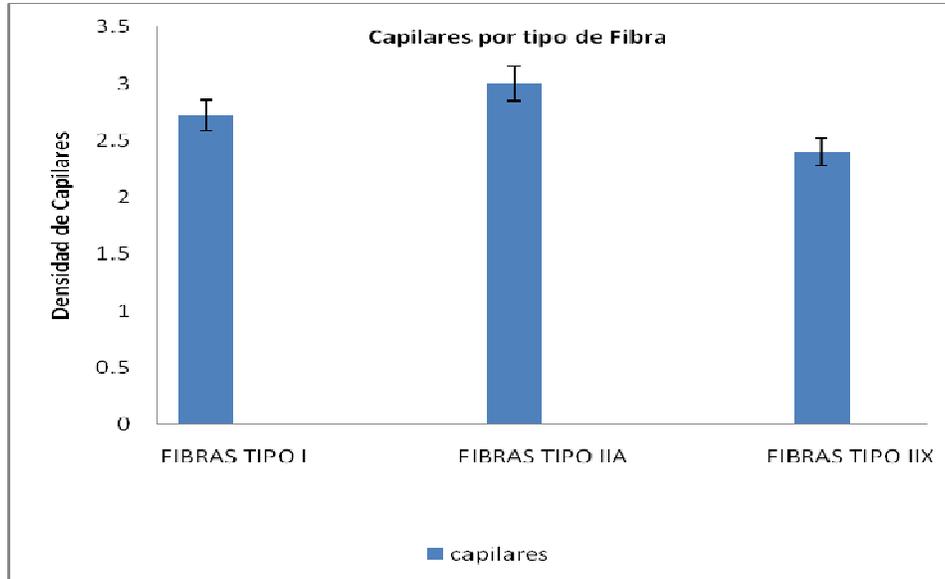
CP AA: CABALLOS DE PIE ANTES DE LA ANESTESIA
 (n) Fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

GRÁFICA 3.
ÁREA TRANSVERSAL DE LAS MIOFIBRAS EN CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO DORSAL Y DECUBITO LATERAL



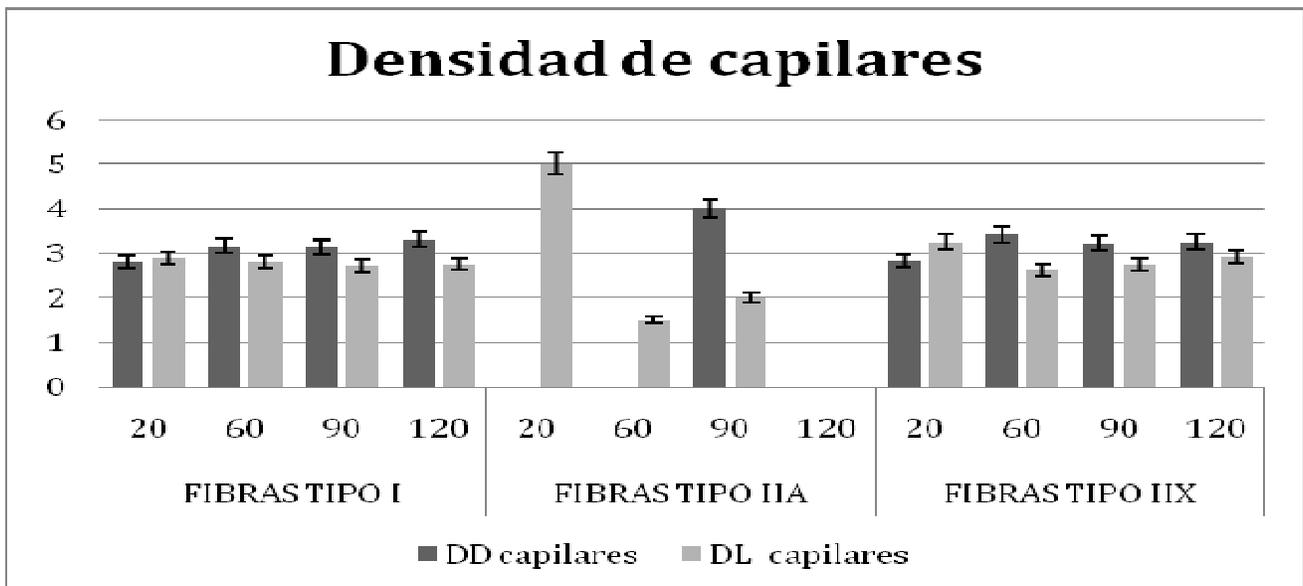
DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 23
 DL decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 42

GRÁFICA 4.
DENSIDAD DE CAPILARES DE LAS MIOFIBRAS EN CABALLOS
ANTES DE LA ANESTESIA



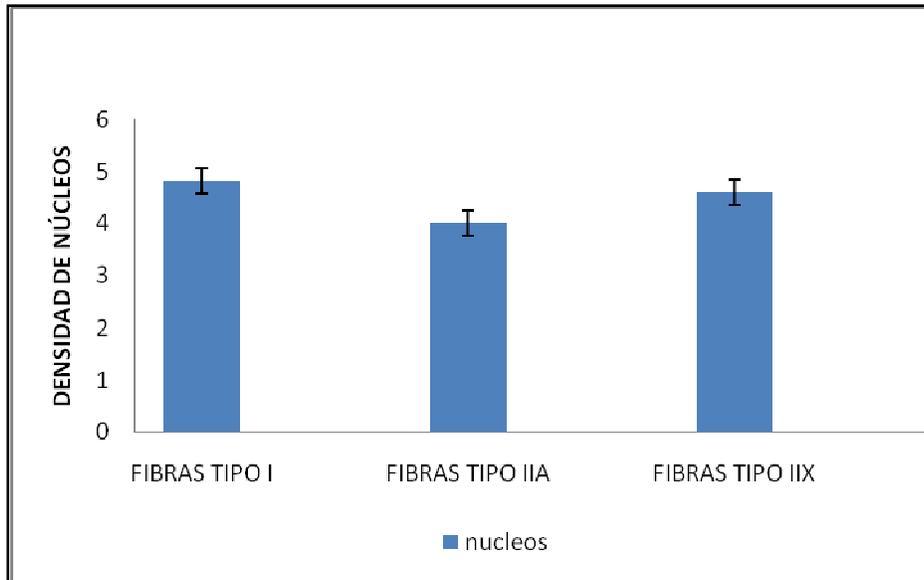
(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

GRÁFICA 5.
DENSIDAD DE CAPILARES DE LAS MIOFIBRAS EN CABALLOS ANESTESIADOS EN
DECUBITO DORSAL Y LATERAL



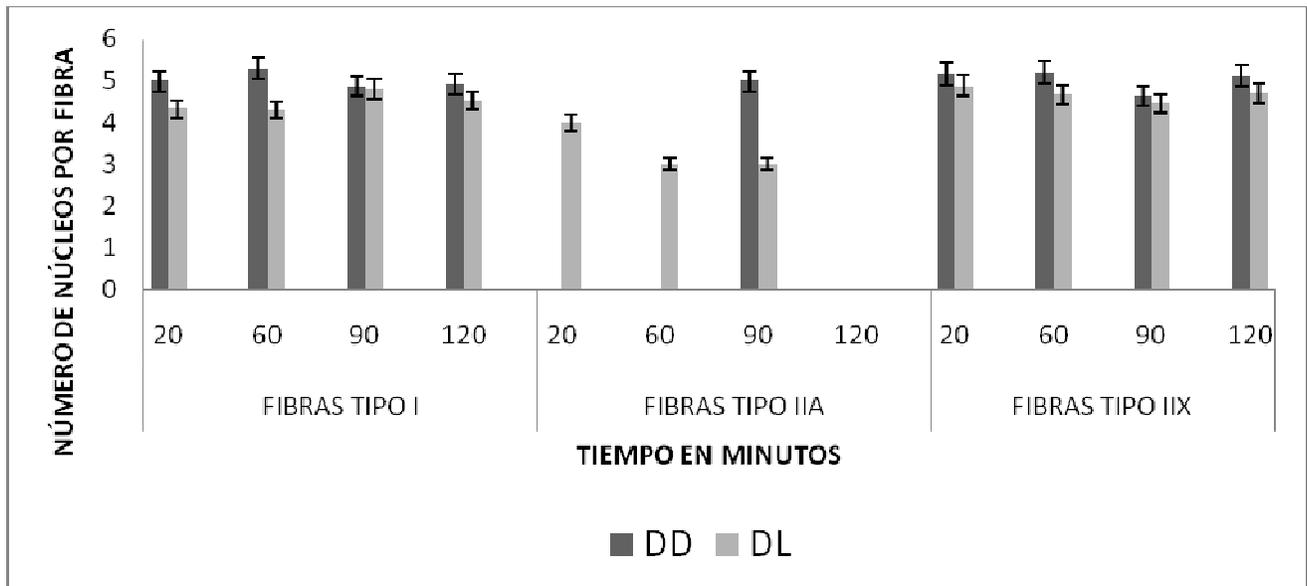
DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 23
 DL decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 42

GRÁFICA 6. DENSIDAD DE LOS NÚCLEOS DE LAS MIOFIBRAS DE LOS CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

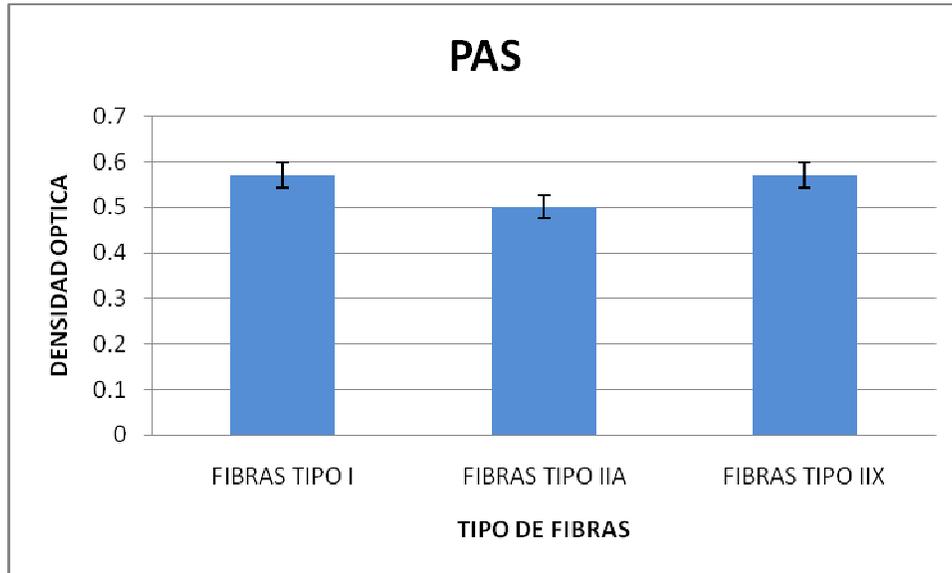
GRÁFICA 7. DENSIDAD DE NÚCLEOS FIBRILARES EN CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO LATERAL Y DECUBITO DORSAL



DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 176, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 212

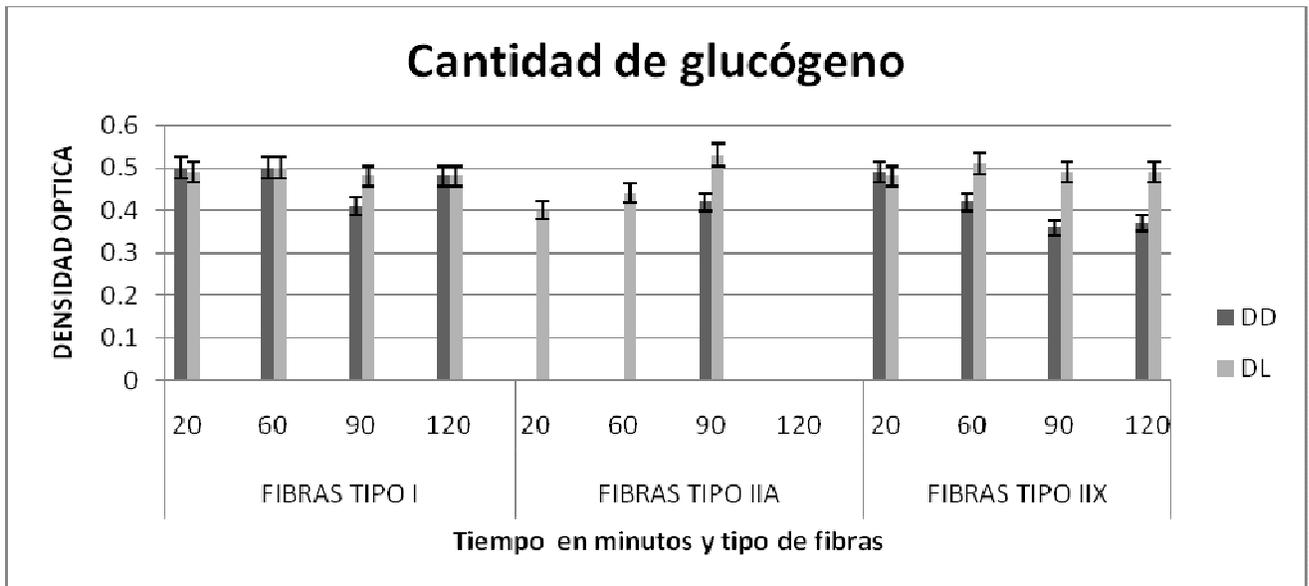
DL decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 57

GRÁFICA 8. CANTIDAD DE GLUCÓGENO INTRACELULAR EN CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



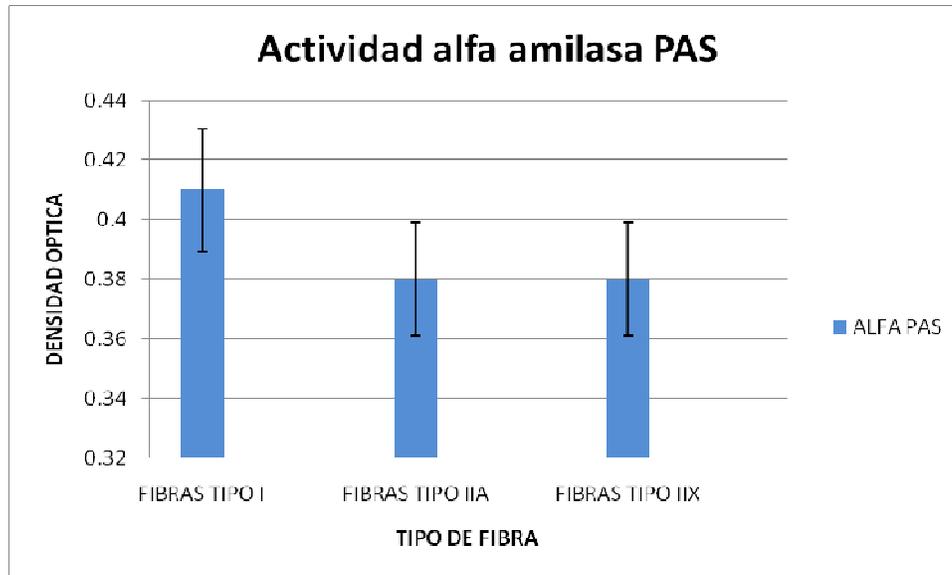
(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

GRÁFICA 9. CANTIDAD DE GLUCÓGENO MIOFIBRILAR EN CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO DORSAL Y DECUBITO LATERAL



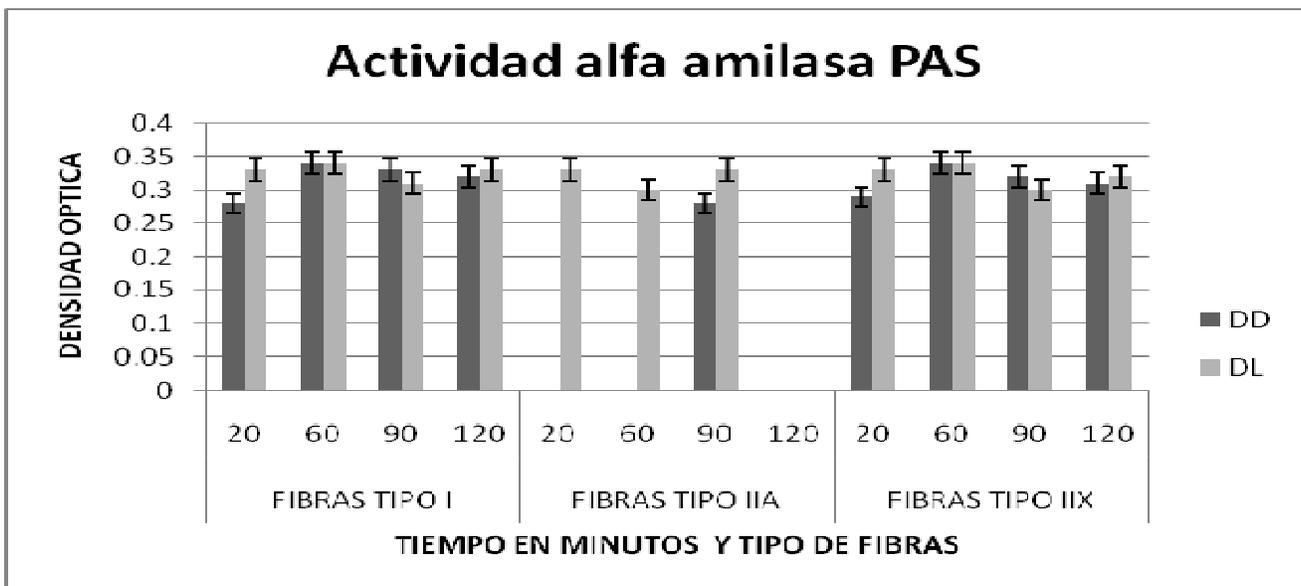
DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 30
 DL decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 57

GRÁFICA 10. ACTIVIDAD GLUCOLITICA DE LAS MIOFIBRAS EN CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

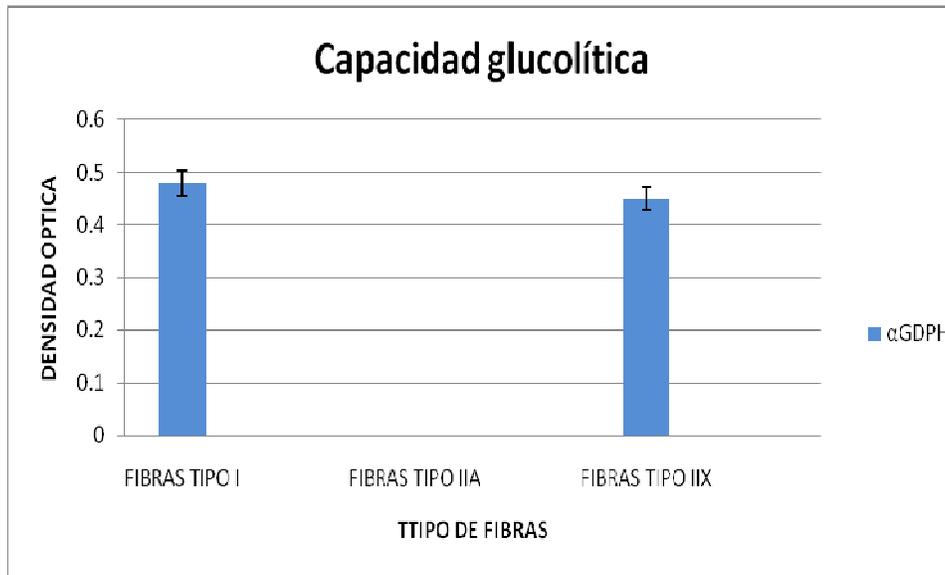
GRÁFICA 11. ACTIVIDAD GLUCOLITICA DE LAS MIOFIBRAS DE LOS CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO DORSAL Y EN DECUBITO LATERAL



DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 212

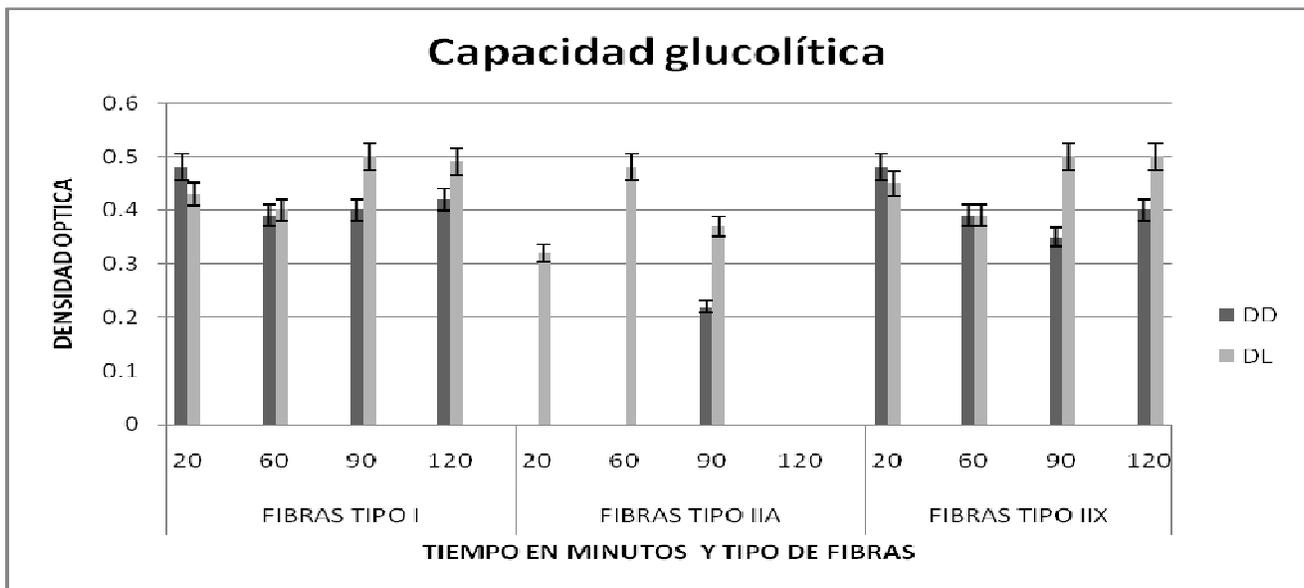
DL decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX =

GRÁFICA 12. CAPACIDAD GLUCOLITICA DE LAS MIOFIBRAS DE LOS CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



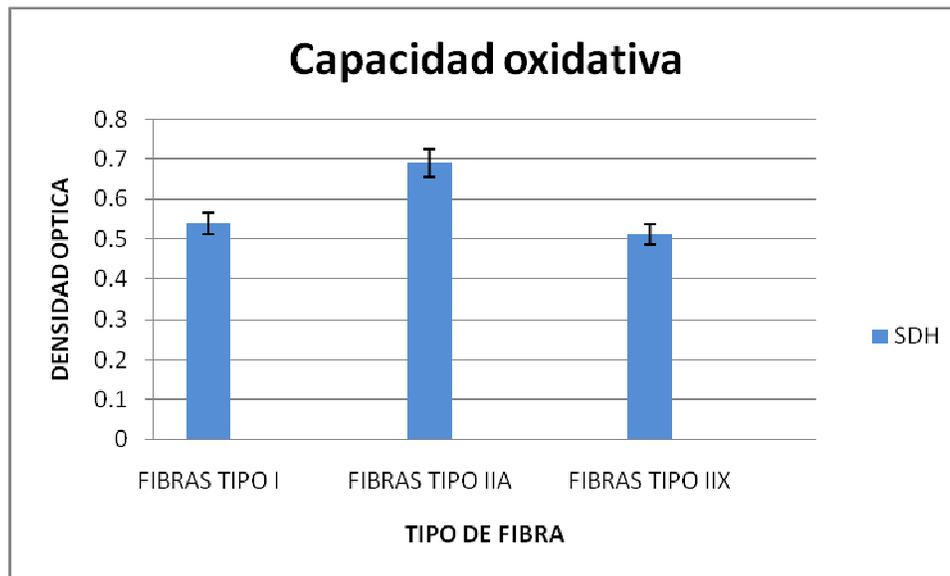
(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 0, (n) fibras tipo IIX = 40

GRÁFICA 13. CAPACIDAD GLUCOLITICA DE LAS MIOFIBRAS DE LOS CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO DORSAL Y DECUBITO LATERAL



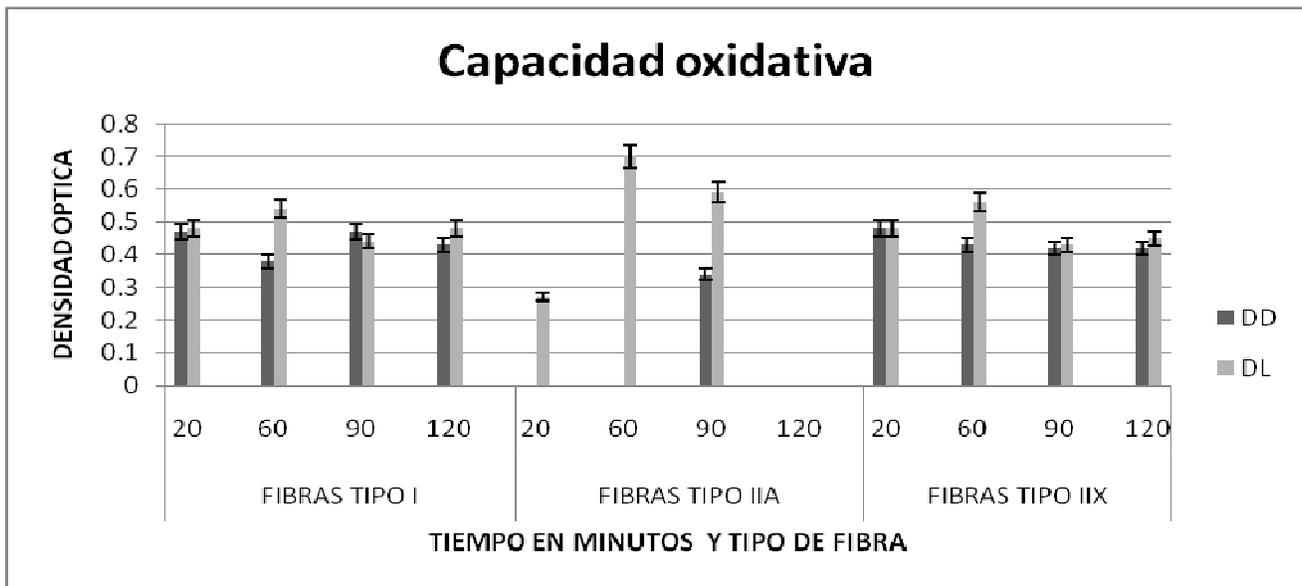
DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 24
DL Decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 2, (n) fibras tipo IIX = 49

GRÁFICA 14. CAPACIDAD OXIDATIVA DE LAS MIOFIBRAS DE LOS CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

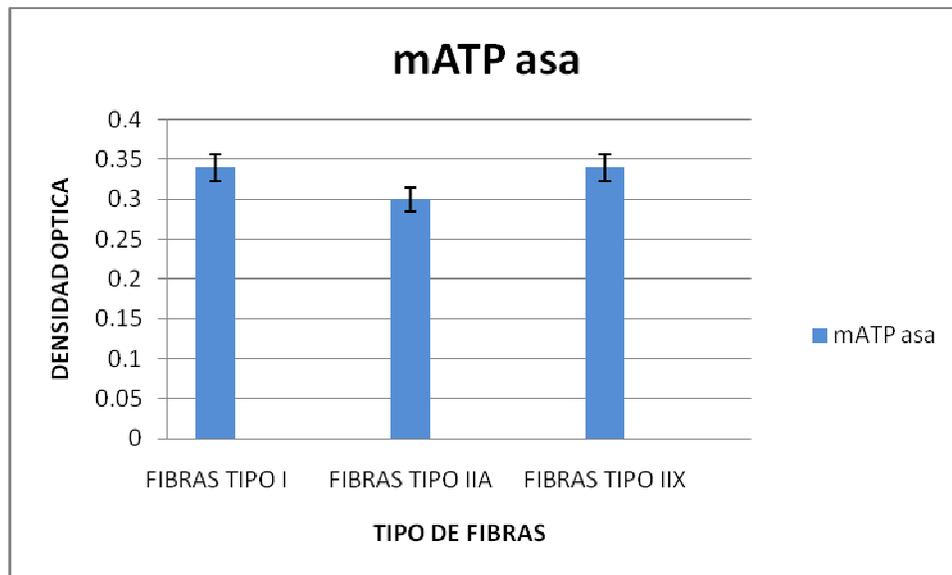
GRÁFICA 15. CAPACIDAD OXIDATIVA DE LAS MIOFIBRAS DE LOS CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO DORSAL Y DECUBITO LATERAL



DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 212

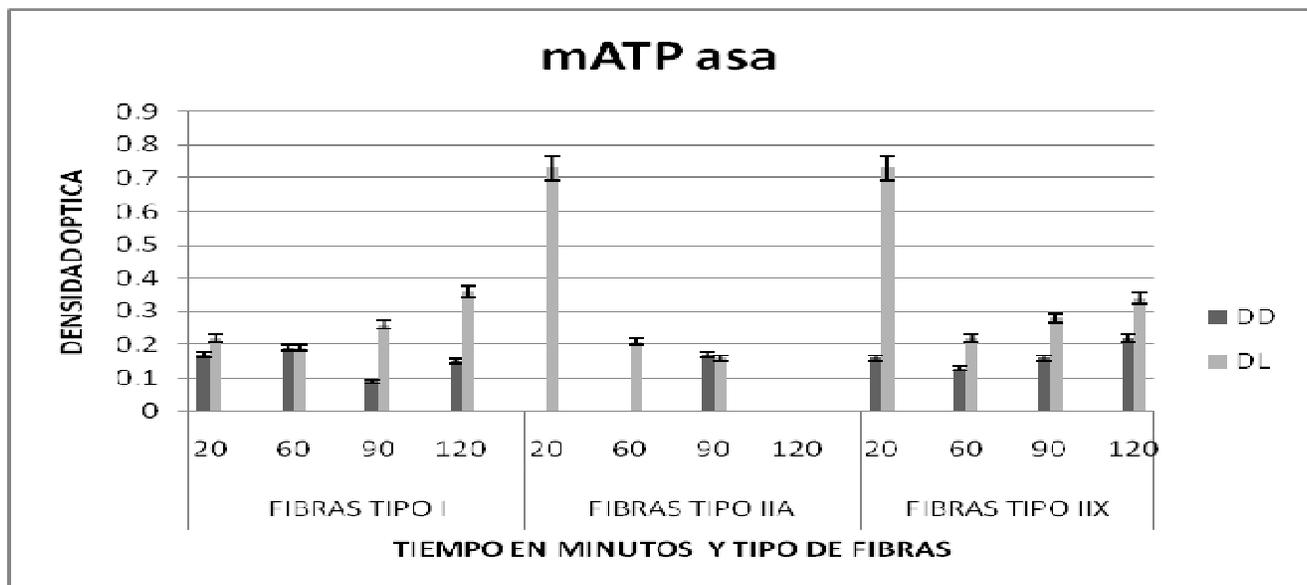
DL Decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 2, (n) fibras tipo IIX = 57

GRÁFICA 16. mATPasa ÁCIDA EN MIOFIBRAS DE CABALLOS ANTES DE LA ANESTESIA



(n) fibras tipo I = 449, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 50

GRAFICA 16. mATPasa ÁCIDA EN FIBRAS MUSCULARES DE CABALLOS ANESTESIADOS EN DECUBITO DORSAL Y DECUBITO LATERAL



DD decúbito dorsal (n) fibras tipo I = 227, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 24
DL Decúbito lateral (n) fibras tipo I = 207, (n) fibras tipo IIA= 1, (n) fibras tipo IIX = 49

