



**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

**Facultad de Estudios Superiores Iztacala**

**Efecto del ejercicio aeróbico sobre la respuesta mecánica y la proporción de fibras glucolíticas en el músculo gastrocnemio de la rata macho**

**TESIS**

**Que para obtener el título de Licenciado en Biología**

**PRESENTA**

**Gutiérrez Posadas Eduardo**

**DIRECTOR DE TESIS  
Segura Alegría Bertha**



**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. México, 2017**



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.

## *DEDICATORIA*

A mis padres, quienes con su amor, cuidado y dedicación, me brindaron la oportunidad de crecer como persona y alcanzar mis aspiraciones académicas. Nunca terminaré de agradecer, todo lo que por mí han hecho y me aseguraré de honrar ese sacrificio que con gusto, siempre han realizado por su hijo. Muchas gracias.

## *AGRADECIMIENTOS*

A la Dra. Bertha, quien con gran amabilidad, atención y paciencia, me oriento en todo momento durante las etapas finales de mi formación como profesional y que, con su experiencia y consejos, me ayudo a esclarecer nuevos objetivos a futuro.

A la profesora Carmen, quien me brindó un enorme apoyo durante la elaboración de este trabajo, a través de su tiempo y enseñanza, siempre con gran atención y amabilidad. Asimismo, agradezco al laboratorio de Biología de la Reproducción, en donde se me facilitaron muchas de las herramientas para llevar a cabo el presente proyecto, siempre con un gran trato por parte de quienes lo conforman.

A todos los profesores que, en algún momento de mi formación académica, contribuyeron con su entusiasmo y pasión por la Biología, para despertar en mí, el mismo deseo por descubrir el maravilloso mundo de conocimientos que tiene para ofrecer.

Finalmente, quiero agradecer a una persona muy especial, quien con su apoyo y motivación, hizo que el fin de ésta etapa de mi vida fuera mucho más especial. Gracias Guadalupe.

# ÍNDICE GENERAL

<b>Dedicatoria</b> .....	i
<b>Agradecimientos</b> .....	ii
<b>Índice general</b> .....	iii-iv
<b>Lista de Figuras</b> .....	v
<b>Resumen</b> .....	vi
<b>Abstract</b> .....	vi
<b>1. Introducción</b> .....	1
1.1. Generalidades del músculo esquelético.....	1
1.2. Microestructura de las fibras musculares.....	1-3
1.3. Mecanismo contráctil.....	4-5
1.4. Metabolismo del músculo esquelético.....	5-8
1.5. Tipos de fibras musculares.....	9-10
1.6. Plasticidad muscular.....	10-11
<b>2. Antecedentes</b> .....	11-13
<b>3. Objetivo general</b> .....	13
3.1. Objetivos particulares.....	13
<b>4. Materiales y métodos</b> .....	13
4.1. Animales.....	13
4.2. Programa de entrenamiento.....	14
4.3. Registro mecánico.....	14
4.4. Histoquímica.....	14
4.5. Análisis estadístico.....	15
<b>5. Resultados</b> .....	16
5.1. Parámetros corporales de los animales.....	16-18
5.2. Tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio.....	18-20

5.3. Reservas de glucógeno e incorporación de glucosa.....	20-23
<b>6. Discusión.....</b>	<b>23</b>
6.1. Desarrollo corporal.....	23-24
6.2. Respuesta mecánica.....	24-25
6.3. Proporción de carbohidratos.....	25-27
6.4. Relación tensión/glucógeno.....	27-28
<b>7. Conclusión.....</b>	<b>28</b>
<b>8. Referencias bibliográficas.....</b>	<b>28-31</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de una fibra muscular esquelética de mamífero.....	<b>2</b>
<b>Figura 2.</b> Organización de las proteínas contráctiles de la sarcómera en ausencia y presencia de un estímulo.....	<b>3</b>
<b>Figura 3.</b> Representación de la disposición de los filamentos delgados y gruesos.....	<b>3</b>
<b>Figura 4.</b> Proceso contráctil de la fibra muscular esquelética.....	<b>5</b>
<b>Figura 5.</b> Rutas metabólicas de la glucosa en la fibra muscular.....	<b>6</b>
<b>Figura 6.</b> Diagrama resumido de la participación de los principales sistemas energéticos durante la actividad física. ....	<b>8</b>
<b>Figura 7.</b> Representación esquemática de la movilización de los GLUT-4 hacia el sarcolema de las células musculares, en respuesta a la estimulación por ejercicio.....	<b>8</b>
<b>Figura 8.</b> Representación de la actividad contráctil de los distintos tipos de fibras musculares esqueléticas. ....	<b>10</b>
<b>Figura 9.</b> Representación esquemática del diseño experimental.....	<b>16</b>
<b>Figura 10.</b> Desarrollo corporal de ratas sedentarias y sometidas a entrenamiento a lo largo de tres semanas. ....	<b>17</b>
<b>Figura 11.</b> Tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de las ratas sedentarias y las ratas sometidas a nado forzado por tres semanas. ....	<b>18</b>
<b>Figura 12.</b> Efecto del nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes, sobre la tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de ratas control y entrenadas.....	<b>19</b>
<b>Figura 13.</b> Cortes transversales con tinción PAS, de tres secciones del músculo gastrocnemio de ratas sedentarias y entrenadas, sin nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes....	<b>21</b>
<b>Figura 14.</b> Cortes transversales con tinción PAS, de tres secciones del músculo gastrocnemio de ratas sedentarias y entrenadas, con nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes...	<b>22</b>
<b>Figura 15.</b> Proporción de fibras musculares que se tiñen con la técnica de PAS en los grupos control y experimental. ....	<b>23</b>

## RESUMEN

El músculo esquelético se caracteriza por su plasticidad, es decir, la capacidad de modificar sus características morfológicas y funcionales para adaptarse a las actividades que su entorno le demande, estas pueden ser anaeróbicas o aeróbicas. El presente trabajo, estudió el efecto del entrenamiento aeróbico sobre el músculo gastrocnemio de la rata macho, por medio de nado forzado 30 minutos al día durante 3 semanas, así como el efecto que el ejercicio aeróbico ejerce de forma inmediata tras una sesión de ejercicio de 45 minutos. Al término del periodo, se evaluó la actividad mecánica *insitu* del músculo derecho y se extrajo el músculo izquierdo para estimar la proporción de carbohidratos con la técnica del ácido peryódico de Shiff (PAS). Se encontró que el entrenamiento a lo largo de tres semanas no indujo cambios significativos en: longitud, peso e índice de masa corporal; tensión desarrollada ni en la proporción de carbohidratos de las fibras musculares. Sin embargo, se encontró que las ratas entrenadas se adaptaron para mantener la misma fuerza pese a la actividad física previa al registro. Además, se encontró una mayor proporción de carbohidratos contenidos en los las fibras musculares de los animales sometidos a nado previo al registro mecánico, lo que indica la activación de un proceso de suministro de dicho sustrato para satisfacer la demanda energética que el músculo requiere.

**Palabras clave:** *Gastrocnemio, fibras musculares, ejercicio aeróbico, glucosa.*

## ABSTRACT

Skeletal muscle is characterized by its plasticity, that is, the capacity to modify its morphological and functional characteristics to adapt to the activities that the environment demands, these can be anaerobic or aerobic. The present work, studied the effect of aerobic training on the male rat gastrocnemius muscle by forced swimming 30 minutes a day for 3 weeks, As well as the effect that aerobic exercise exerts immediately after a 45-minute exercise session. At the end of the period, the mechanical activity *insitu* of the right muscle was evaluated and the left muscle was removed to estimate the proportion of carbohydrates with the periodic acid Shiff (PAS) technique. It was found that training over three weeks did not induce significant changes in: length, weight and body mass index; developed tension or proportion of muscle fibers carbohydrates. However, it was found that the trained rats were adapted to maintain the same strength despite pre-registration physical activity. In addition, a greater proportion of carbohydrates contained in the animals muscle fibers subjected to pre-mechanical swimming was found, indicating the activation of a process of supplying substrate to satisfy the energetic demand that the muscle requires.

**Key words:** *Gastrocnemius, muscle fibers, aerobic exercise, glucose.*



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Generalidades del músculo esquelético

El músculo estriado esquelético es uno de los tejidos más abundantes en los mamíferos, ya que representa el 40% de su masa corporal total; además, en adultos humanos, el 30% de la tasa metabólica en reposo se da en este tejido (Egan & Zierath, 2013).

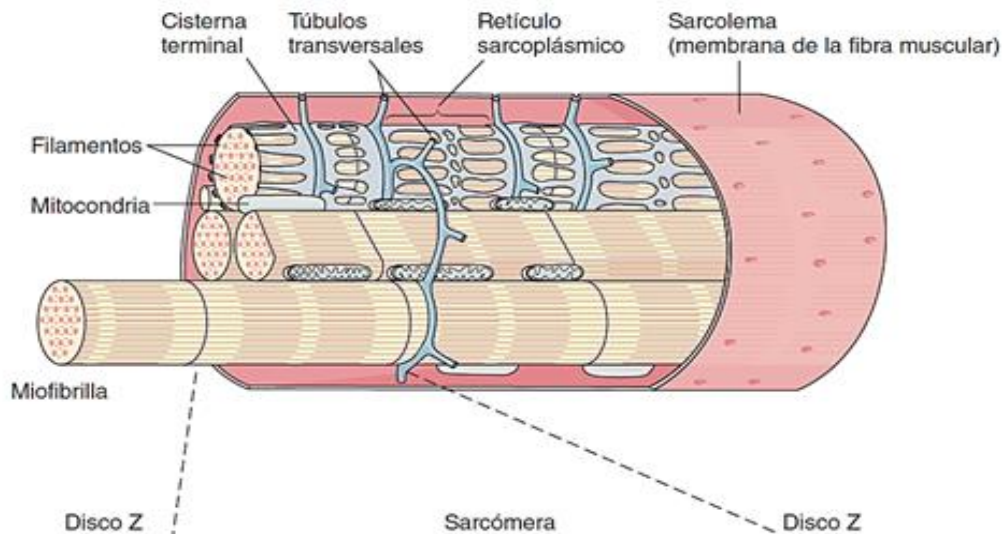
Este tipo de músculo debe su denominación de estriado esquelético a la apariencia de las células que lo conforman y a que en su mayoría se encuentra asociado a los huesos; entre sus funciones destacan, mantener la postura corporal y efectuar la flexión de las articulaciones, a través de un proceso denominado contracción; proporcionar la mayoría del calor requerido para las funciones vitales del organismo y regular la concentración de glucosa en la sangre (Saladin, 2013). Su actividad contráctil está bajo el control del sistema nervioso somático, por lo que es voluntaria y requiere de potenciales de acción provenientes del sistema nervioso central para realizarla (Segura-Alegría *et al.*, 2014).

## 1.2. Microestructura de las fibras musculares

Las células que conforman al músculo esquelético se denominan fibras musculares (Fig. 1), tienen forma alargada y son excitables; esto significa que los estímulos eléctricos procedentes del sistema nervioso central, modifican el voltaje de su membrana plasmática (sarcolema), lo cual inicia la propagación de la señal electro-química a lo largo de la fibra muscular (Saladin, 2013). Para transmitir el impulso electro-químico hasta el aparato contráctil, el sarcolema presenta invaginaciones, los túbulos transversos o túbulos T, que se extienden radialmente a través de la célula (Segura-Alegría *et al.*, 2014; Patton & Thibodeau, 2013).

El citoplasma (sarcoplasma) de la fibra muscular se encuentra ocupado por estructuras llamadas miofibrillas, las cuales son haces de proteínas contráctiles (actina y miosina) que se organizan longitudinalmente en estructuras llamadas sarcómeras (unidad contráctil del músculo esquelético), delimitadas por dos discos Z. A cada lado de las sarcómeras se ubica un túbulo T, el cual a su vez está flanqueado por un par de cisternas terminales (CT), estructuras que forman parte del retículo sarcoplásmico (RS) de la célula. Este último, forma una red alrededor de cada miofibrilla y constituye un importante depósito de iones de calcio, especialmente en las CT (Segura-Alegría *et al.*, 2014). La membrana de las CT cuenta con canales de compuerta que se abren en respuesta a los potenciales de acción provenientes desde el sarcolema, con lo que

liberan iones de calcio que se difunden hacia las proteínas de actina y miosina (maquinaria contráctil) y su interacción con éstas se denomina acople excitación-contracción, lo que marca el inicio del proceso de contracción muscular (Saladin, 2013).

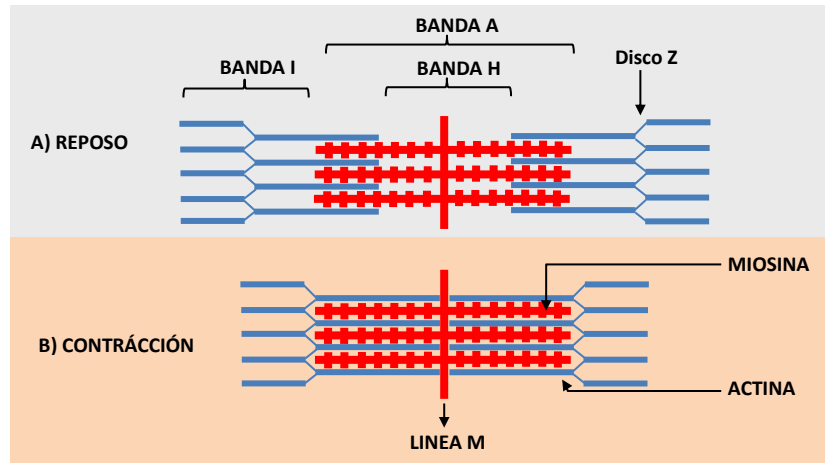


**Figura 1. Estructura de una fibra muscular esquelética de mamífero (Tomado de Barret, 2013).**

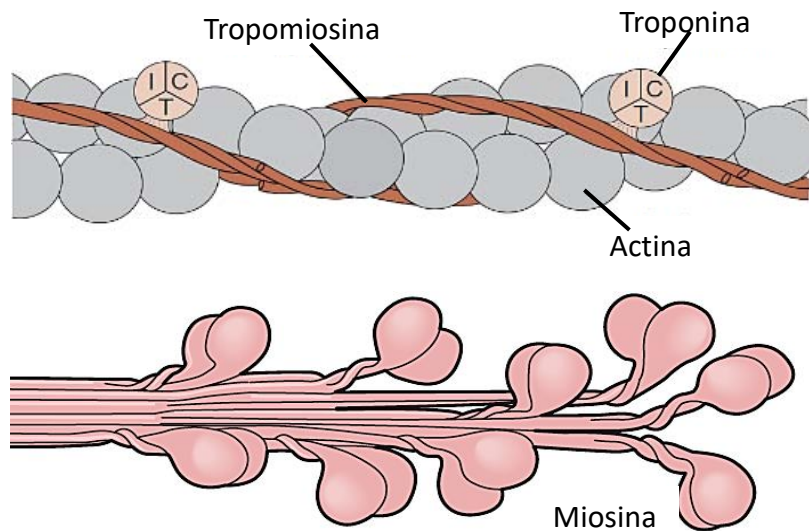
La organización de las proteínas contráctiles es lo que da el aspecto estriado a las fibras del músculo esquelético (Fig. 2), las bandas claras (bandas I) corresponden únicamente a filamentos delgados (de actina); las bandas oscuras (banda A) representan la superposición entre filamentos delgados y gruesos (de miosina), y una banda central en la sarcómera (banda H), en la que solo se encuentran filamentos gruesos de miosina (Saladin, 2013).

Los filamentos gruesos están constituidos únicamente por moléculas de miosina (proteína filamentosa que en su porción terminal es un dímero que tiene dos cabezas); mientras que los filamentos delgados, además de actina (proteína globular que se polimeriza para formar un filamento), tienen asociadas dos proteínas más (Fig. 3); la tropomiosina, proteína filamentosa alrededor de la cual, la actina F forma una doble hélice y b) el complejo troponina, proteína globular asociada a la tropomiosina y que está constituida por tres subunidades con funciones específicas (Barret, 2013): la troponina T, que une a todo el complejo troponina con la tropomiosina; la troponina C, afín a los iones de calcio, que contribuye a iniciar el proceso contráctil; y la troponina I, que en conjunto con el resto del complejo troponina y la tropomiosina, se encarga de inhibir la unión entre la actina y la miosina (Barret, 2013; Ira, 2011).

Por otra parte, mientras que los discos Z permiten el anclaje adecuado de los filamentos de actina, la línea M cumple esta función para los filamentos de miosina (Barret, 2013). Otros elementos elásticos, como membranas u otras proteínas (titina, distrofina, integrinas, sarcopan) son elementos estructurales de las fibras musculares (Segura-Alegría *et al.*, 2014).



**Figura 2. Organización de las proteínas contráctiles de la sarcómera en ausencia y presencia de un estímulo. A) Fibra muscular en reposo ante la ausencia de un estímulo. B) Fibra muscular en contracción a causa de un estímulo, que provoca el deslizamiento de los filamentos delgados sobre los gruesos.**

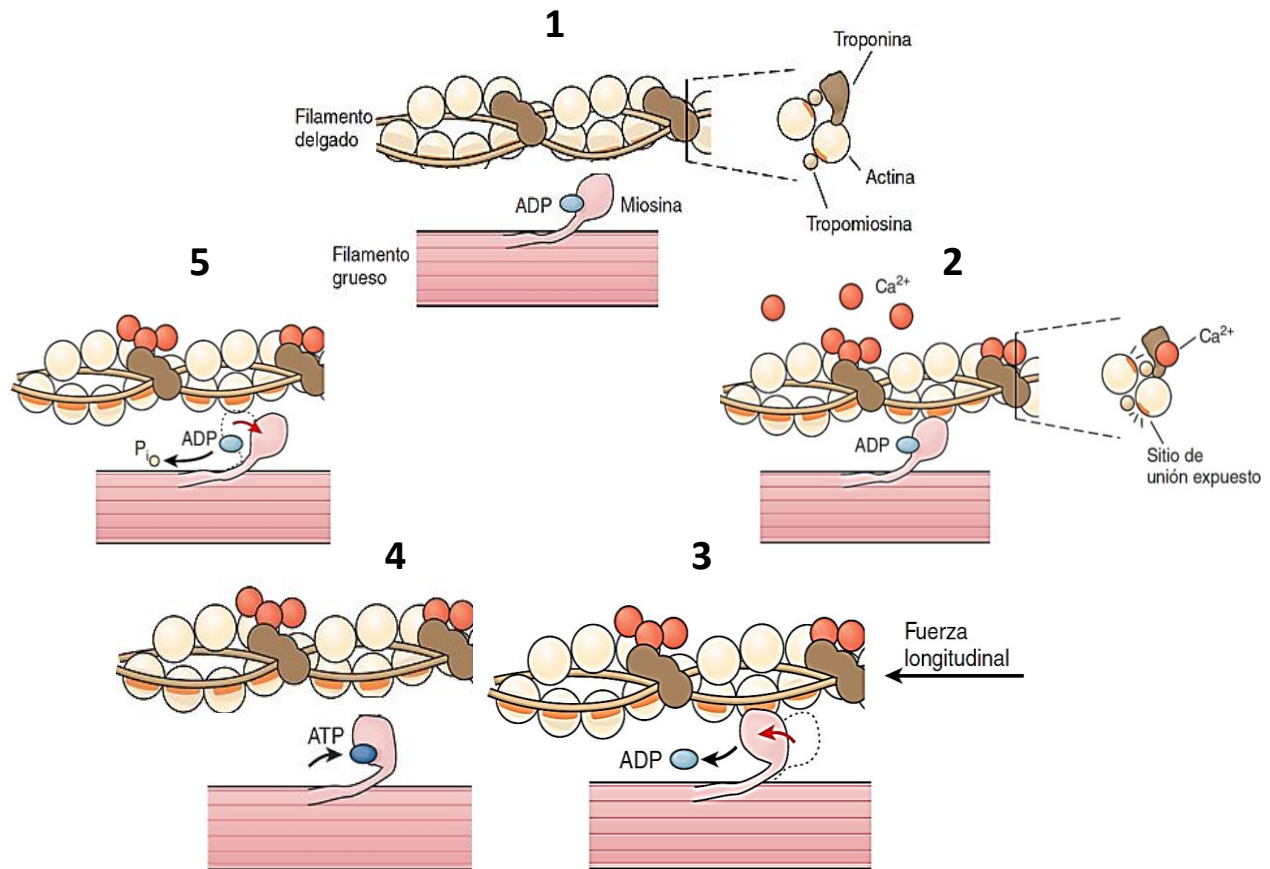


**Figura 3. Representación de la disposición de los filamentos delgados respecto a los gruesos. En la parte superior, se observa el filamento delgado, así como las proteínas que lo conforman. En la parte inferior, se observa el filamento grueso constituido únicamente por miosina (Modificada de Barret, 2013).**

### **1.3. Mecanismo contráctil**

La contracción muscular ocurre debido al deslizamiento de los filamentos delgados sobre los gruesos, lo que permite el acortamiento de la sarcómera sin modificar la longitud real de dichos filamentos. Mientras la anchura de las bandas A permanece constante, los discos Z se aproximan entre sí cuando el músculo se contrae (Fig. 2-B). Este deslizamiento es posible debido a que las cabezas de miosina se unen fuertemente a la actina, experimentan una flexión que genera un “golpe de poder” dependiente de la hidrólisis del ATP y luego se desprenden (Barret, 2013).

Bajo condiciones de reposo, las cabezas de miosina tienen fuertemente unida una molécula de ADP (Fig. 4, paso 1). Tras la estimulación mediante un potencial de acción, se incrementa el calcio citosólico (debido a la liberación del ion, desde el RS) y este se une a la subunidad C del complejo troponina. Esta unión ocasiona un cambio en la conformación del filamento delgado que expone los sitios de la actina que presentan afinidad con la miosina, lo cual permite la formación de puentes cruzados (Fig. 4, paso 2). A continuación, el ADP es liberado, lo que genera un cambio conformacional de la cabeza de miosina que desplaza el filamento delgado sobre el filamento grueso (golpe de poder; Fig. 4, paso 3). Dado que la cabeza de la miosina ahora está libre de ADP, otra molécula de ATP se une rápidamente a su sitio afín, lo que ocasiona que la miosina se separe de la actina (Fig. 4, paso 4). El nuevo ATP es entonces hidrolizado y en el proceso es liberado fosfato inorgánico, lo que produce un nuevo cambio conformacional de la cabeza de miosina, retornando así a su estado en reposo (Fig. 4, paso 5) y permite el inicio de un nuevo ciclo contráctil. Cabe señalar que el proceso contráctil podrá realizarse indefinidamente siempre que el RS disponga de calcio y se cuente con suficiente ATP (Barret, 2013).

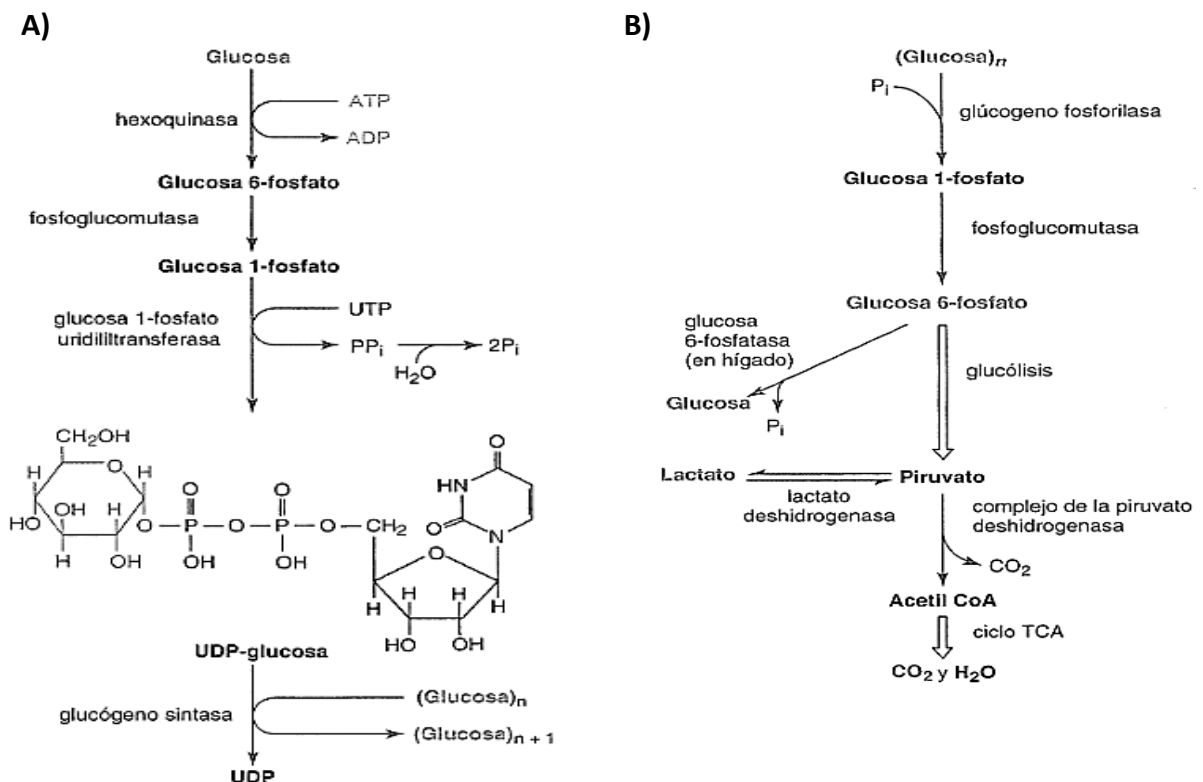


**Figura 4. Proceso contráctil de la fibra muscular esquelética. 1) Filamentos en reposo. 2) Acción del calcio y exposición de sitios de unión. 3) Golpe de poder. 4) Incorporación de más ATP en la cabeza de miosina. 5) Hidrolisis del ATP y reincorporación del estado en reposo (Modificada de Barret, 2013).**

#### **1.4. Metabolismo del músculo esquelético**

Como se revisó anteriormente, para que el músculo esquelético pueda llevar a cabo el proceso contráctil, es necesaria la presencia de moléculas de ATP que suministren la energía necesaria para que, en última instancia, se provoque el deslizamiento de los filamentos. Ésta energía proviene de los alimentos consumidos, que proporcionan al organismo sustratos tales como: aminoácidos, ácidos grasos o carbohidratos, a partir de los cuales sintetizará las moléculas de ATP (Ira, 2011). Los carbohidratos representan una de las fuentes de energía más importantes para el organismo; sean monosacáridos (glucosa, fructosa y galactosa), disacáridos (maltosa, sacarosa y lactosa) o polisacáridos (almidón y maltodextrina), la digestión de estos conducirá a su transformación en glucosa, de manera que todo carbohidrato ingerido en la dieta es transformado en esta última, lo que convierte a la glucosa en el único carbohidrato fuera del sistema hepático que circula por el organismo en una cantidad significativa, el cual a su vez, es

empleado para sintetizar moléculas de glucógeno como reserva energética (Peinado *et al.*, 2013; Saladin, 2013). Una vez en la sangre, por estimulación de la insulina o la contracción muscular, la glucosa es incorporada dentro de las células musculares por medio de transportadores, que introducen la glucosa a través de la bicapa lipídica de las células (Hernández & Herrera, 2012), Dentro de la fibra muscular (Fig.5-A), la glucosa es fosforilada por la hexoquinasa a glucosa 6-fosfato (G-6-P), con lo que se retiene dentro de la célula; altos niveles de G-6-P inhiben la actividad hexoquinasa, de manera que se regula la cantidad de G-6-P dentro de la fibra muscular. Posteriormente, la fosfoglucomutasa convierte la G-6-P en glucosa 1-fosfato, y ésta es combinada con UTP por medio de la glucosa 1-fosfato uridilil transferasa para formar UDP-glucosa, la cual es utilizada para construir la molécula de glucógeno por acción de la glucógeno sintasa (Devlin, 2004; Friedman, 2002). Por su parte, el catabolismo del glucógeno (Fig. 5-B) es llevado a cabo en primer lugar por la glucógeno fosforilasa, la cual, desprende secuencialmente glucosa en forma de glucosa 1-fosfato, que es transformado nuevamente en G-6-P por acción de la fosfoglucomutasa, que en fibras musculares, puede ser utilizado en la ruta glucolítica (Devlin, 2004)



**Figura 5. Rutas metabólicas de la glucosa en la fibra muscular. A) Se muestra la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa sanguínea incorporada. B) Se muestra el proceso catabólico del glucógeno muscular almacenado, que da origen a productos utilizables en la glucólisis y el ciclo TCA (Modificada de Devlin, 2004).**

La energía requerida para la contracción muscular proviene de dos vías metabólicas principales: la glucólisis y la fosforilación oxidativa (Segura-Alegría *et al.*, 2014). En la primera, una molécula de glucosa es dividida en dos moléculas de ácido pirúvico, con una producción neta de dos moléculas de ATP; sin embargo, la mayor parte de la energía química de la glucosa aún permanece en el ácido pirúvico, por lo que es la ruta energética menos eficiente (Saladin, 2013). El ácido pirúvico resultante, puede seguir dos vías dependiendo de la presencia o ausencia de oxígeno (Fig. 6); en ausencia de éste, el ácido pirúvico se reduce en ácido láctico y se regenera el  $\text{NAD}^+$  a través de la fermentación anaerobia, lo que permite continuar la glucólisis y producir más ATP (Saladin, 2013). La vía anaerobia es la más rápida para la obtención de energía y además de la ausencia de oxígeno, el proceso también puede ser inducido a causa de una disminución en la concentración de glucosa. Las fibras musculares que tienen dificultades para obtener oxígeno o que generan mucha fuerza pueden utilizar esta vía para reestablecer sus moléculas de ATP (Patton & Thibodeau, 2013). Sin embargo, el ácido láctico producido por esta vía es tóxico, y a pesar de su difusión al torrente sanguíneo, este puede acumularse en los músculos hasta rebasar la capacidad de los amortiguadores de este tejido, produciendo un descenso del pH que inhibe las enzimas glucolíticas, de manera que esta vía solo puede ser usada temporalmente (Saladin, 2013; Barret, 2013).

Cuando hay oxígeno en el medio, el ácido pirúvico se incorpora a la ruta energética más eficiente, la fosforilación oxidativa. A través de ésta, el ácido pirúvico se procesa hasta dióxido de carbono y agua, con una producción de 36 o 38 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa que inició el proceso desde la glucólisis (Saladin, 2013).

El músculo esquelético en reposo obtiene la mayor parte de la energía de la respiración aerobia, a partir de los ácidos grasos. Durante el ejercicio, se estimula la utilización del glucógeno muscular y de la glucosa circulante en la sangre como fuentes de energía. Cuando se incrementa la duración y la intensidad del ejercicio, se aumenta aún más la captación de glucosa sanguínea hacia los músculos en actividad, lo cual se debe en gran parte a que la contracción muscular estimula la movilización de transportadores GLUT-4 hacia el sarcolema. Por otro lado, cuando se realizan ejercicios que involucran grandes esfuerzos en breves periodos de tiempo, la mayor parte de la energía requerida proviene del glucógeno muscular (Ira, 2011; Egan & Zierath, 2013).

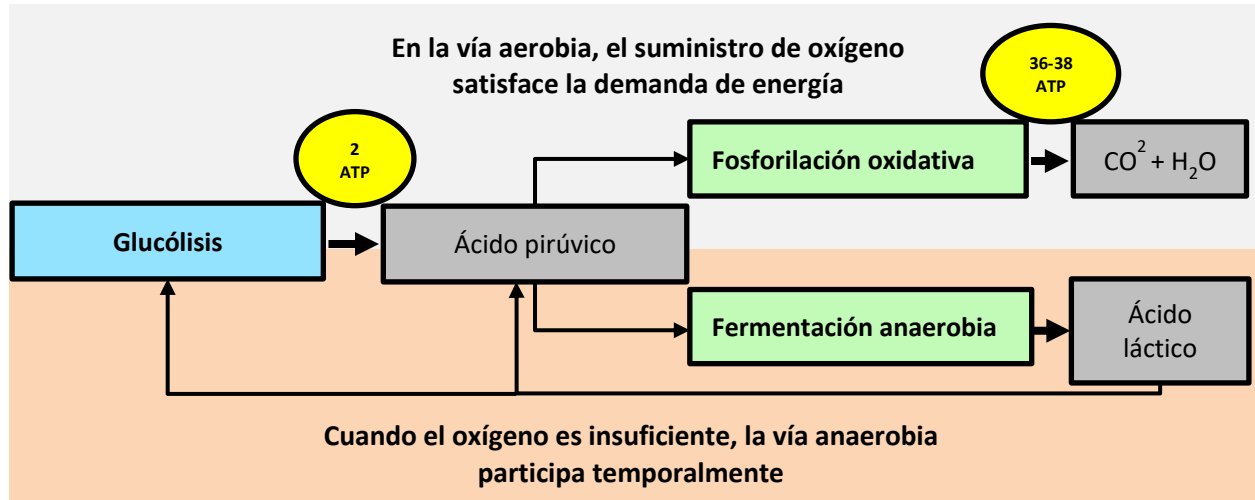


Figura 6. Diagrama resumido de la participación de los principales sistemas energéticos durante la actividad física. En el panel superior se muestra la vía aerobia, participe en ejercicio de baja intensidad. En el panel inferior se muestra intervención de la vía anaerobia, ante intensidades que exceden el suministro de oxígeno para la obtención de energía.

El GLUT-4 es el principal transportador de monosacáridos en el músculo esquelético, es regulado por la insulina y por la contracción muscular. La mayoría de los GLUT-4, se encuentran almacenados intracelularmente en orgánulos vesiculares sensibles a la insulina y a la contracción muscular (Ploug *et al.*, 1998; Pessin *et al.*, 1999). Una vez estimuladas, las vesículas son translocadas hacia el sarcolema, y por procesos de endocitosis y exocitosis, los GLUT-4 se reciclan constantemente del sarcoplasma al sarcolema y viceversa (Fig. 7). Esto permite una regulación controlada de la entrada de glucosa, al modificar el número de transportadores presentes en el sarcolema (Kawanaka *et al.*, 1999).

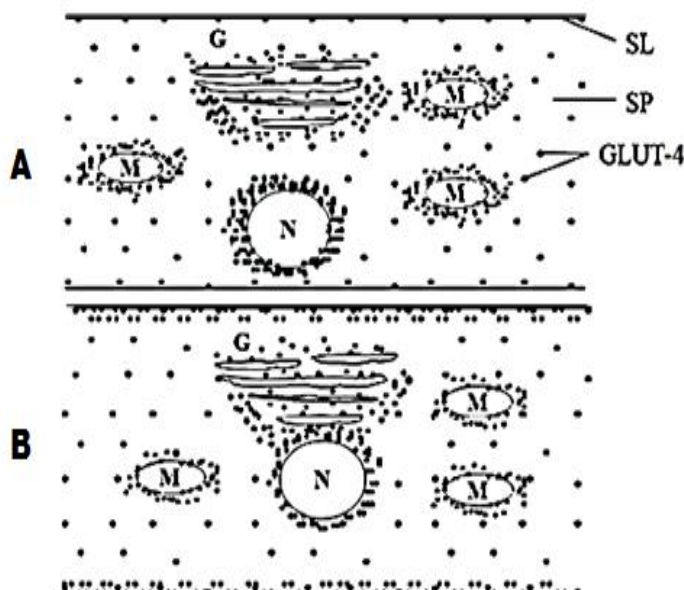


Figura 7. Representación esquemática de la movilización de los GLUT-4 hacia el sarcolema de las células musculares, en respuesta a la estimulación por ejercicio. A) En estado basal, los GLUT-4 se distribuyen principalmente en los alrededores del núcleo, las mitocondrias y el aparato de Golgi. B) Desplazamiento de los GLUT-4 hacia el sarcolema, tras la estimulación por ejercicio. N=Núcleo., M=Mitocondria., G=aparato de Golgi., SL=Sarcolema., SP=Sarcoplasma (Recuperado de Jiménez Ramos, 2009).



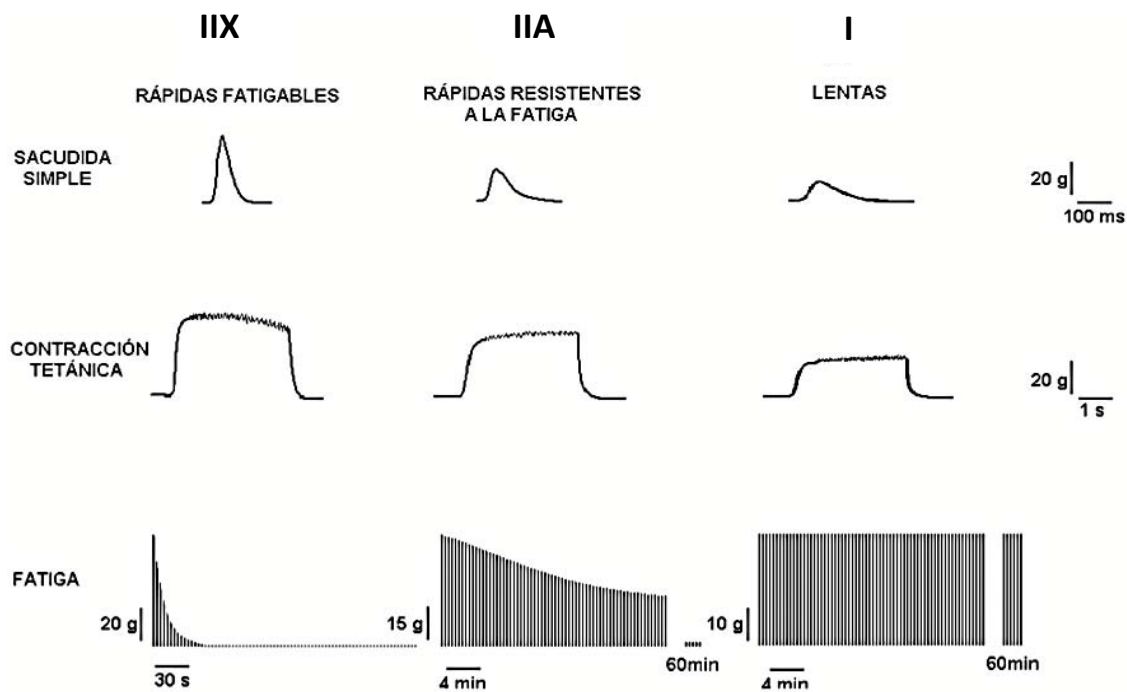
### **1.5. Tipos de fibras musculares**

El músculo esquelético de los mamíferos está constituido por varios tipos de fibras musculares, que son identificadas de acuerdo a sus propiedades contráctiles, histoquímicas y metabólicas principalmente. Así, existen fibras de sacudida lenta y de sacudida rápida, diferenciadas por el tiempo en el que alcanzan su tensión máxima (Fig. 8). Además, a través de técnicas histoquímicas se han encontrado diferencias en la miosina ATPasa que presentan, de manera que existen fibras con miosina ATPasa tipo I (de sacudida lenta) y fibras con miosina ATPasa tipo II (de sacudida rápida) con alta actividad enzimática (Egan y Zierath, 2013).

Las fibras lentas tipo I se encuentran en mayor proporción en músculos posturales, los cuales deben sostener contracciones durante periodos de tiempo prolongados, sin llegar a fatigarse. Debido a que estas fibras poseen una capacidad oxidativa alta para la respiración aerobia y se contraen lentamente, son capaces de producir ATP lo suficientemente rápido como para mantener el ritmo de las necesidades de energía de la miosina y así evitar la fatiga. Dicha capacidad se ve potenciada por la elevada capilarización, la mayor cantidad de mitocondrias y una elevada concentración de mioglobina presente en estas fibras, lo que les otorga el color rojizo característico que poseen (Patton & Thibodeau, 2013), también son llamadas fibras oxidativas lentas (Ira, 2011).

A diferencia de las fibras tipo I, las fibras tipo II están adaptadas para un metabolismo anaerobio y poseen una reserva grande de glucógeno, así como una alta concentración de enzimas glucolíticas (Ira, 2011). Estas, pueden contraerse más rápido no solo por el tipo de miosina ATPasa que poseen, sino también, porque su sistema de túbulos T y RS es más eficiente para movilizar los iones de calcio hacia el sarcoplasma; sin embargo, su rápido mecanismo de contracción provoca el pronto agotamiento del ATP. A pesar de que estas fibras cuentan con una elevada concentración de glucógeno (Patton & Thibodeau, 2013), están menos capilarizadas, tienen una menor concentración de mioglobina (lo que les otorga su típico color blanco) y poseen menos mitocondrias (Ira, 2011), de manera que requieren de procesos anaerobios para la obtención de ATP, y como esta vía produce cantidades relativamente pequeñas de esta molécula energética, la fibra muscular no puede mantener la contracción durante mucho tiempo, por lo que se fatigan rápidamente (Patton & Thibodeau, 2013). Una subclasificación de estas fibras son las fibras musculares tipo IIB y IIX. Ambas están adaptadas a condiciones anaerobias y son llamadas glucolíticas rápidas, debido a su alto índice de glucólisis, la distinta nomenclatura se debe a que las fibras tipo IIX se encuentran en humanos, mientras que las tipo IIB están presentes en roedores y otros mamíferos. Estos subtipos se diferencian ligeramente por sus velocidades de

contracción, la capacidad glucolítica e incluso oxidativa, así como por poseer una isoforma de miosina diferente. Además, existe un tercer tipo de fibra muscular, que cuenta con características intermedias entre las fibras tipo I y las fibras tipo IIB, las fibras musculares tipo IIA. Estas fibras, también llamadas oxidativas rápidas, son de contracción rápida, pero también tienen una capacidad oxidativa alta, por lo que son moderadamente resistentes a la fatiga (Ira, 2011). Con respecto al desarrollo de fuerza, las fibras musculares tipo II son las que desarrollan mayor tensión, tanto el tipo IIA como el IIX, por lo que predominan cuando los músculos realizan esfuerzos explosivos. Por su parte, las fibras del tipo IIA desarrollan una fuerza moderada debido a sus características metabólicas intermedias entre las de tipo I y las de tipo IIB. Mientras que las fibras musculares tipo I, son las que menor fuerza producen (Egan & Zierath, 2013).



**Figura 8. Representación de la actividad contráctil de los distintos tipos de fibras musculares esqueléticas (Modificado de Segura-Alegría, 2014).**

### **1.6. Plasticidad muscular**

Una característica fundamental del músculo esquelético, es su plasticidad, lo que significa que posee la capacidad de modificar sus características morfológicas y sus propiedades funcionales, con el objeto de desarrollar la actividad que le demanda su entorno (Segura-Alegría *et al.*, 2014). Esta capacidad de adaptación de las fibras musculares a cierta actividad física, permite al

experimentador observar cambios morfológicos (anatómicos e histológicos) aún en los días iniciales de un programa de entrenamiento. En términos generales, el ejercicio realizado puede catalogarse como aeróbico (de resistencia) o anaeróbico (de fuerza; Egan & Zierath, 2013).

## 2. ANTECEDENTES

El ejercicio aeróbico implica la repetición prolongada del ciclo contráctil (desde minutos hasta horas) ante cargas mínimas que no exigen desarrollar demasiada fuerza. Se ha observado que las adaptaciones inducidas en el músculo esquelético, se reflejan principalmente en el aumento de la densidad mitocondrial y actividad oxidativa; el incremento de la síntesis de proteínas mitocondriales y en una mayor capilarización. Actividades tales como caminar, trotar o nadar son ejemplos de este tipo de ejercicio (Egan & Zierath, 2013).

También, se ha reportado que el entrenamiento aeróbico provoca un incremento en la proporción de fibras musculares tipo I y IIA, mientras que la proporción de fibras de tipo IIB se ve disminuida en distintos músculos de la extremidad posterior de la rata (Green *et al.*, 1988; López-Morales *et al.*, 1990). En cuanto a la función muscular, Pineda-Escalona (2013) reportó que el entrenamiento mediante nado forzado, redujo la fuerza del músculo extensor largo de los dedos (EDL) de la rata macho, y mostró la posible transformación de las fibras musculares de contracción rápida (abundantes en el EDL) en fibras de contracción lenta o intermedia. Además, encontró una disminución en el diámetro de las fibras musculares de las ratas sometidas a entrenamiento, lo cual concuerda con la morfología de las fibras lentas e intermedias.

Mientras que algunas fibras musculares pueden transformarse en otro tipo, como se mencionó anteriormente, las fibras existentes que no requieren transformarse (debido a sus adecuadas características para responder a determinado estímulo), pueden presentar adaptaciones que les permitan realizar con mayor eficiencia, la actividad para la cual están enfocadas, como ocurre con la cantidad de glucógeno almacenado por los distintos tipos fibras musculares, que en condiciones normales, sin la influencia de un entrenamiento físico determinado, las fibras musculares tipo IIX (rápidas glucolíticas) cuentan con el mayor depósito de glucógeno, seguidas de las fibras musculares tipo IIA y las tipo I con la menor cantidad de reservas de glucógeno (Egan & Zierath, 2013).; sin embargo, bajo la influencia del ejercicio aeróbico, se ha observado que la cantidad de glucógeno almacenado por las fibras musculares tipo I, puede sobrepasar los depósitos presentes en las fibras tipo II (Kuo, *et al.*, 1999).

Por otro lado, se ha reportado que aún al principio del ejercicio (tanto aeróbico como anaeróbico) se incrementa el transporte de glucosa hacia el interior de la fibra muscular (Ihlemann *et al.*,

1999). Aunado a esto, se ha encontrado una relación directa entre el aumento en la concentración de glucógeno muscular y el incremento en la concentración total del transportador de glucosa GLUT4, que puede ingresar glucosa a la fibra muscular mediante difusión facilitada. Esto en el músculo gastrocnemio de ratas Sprague-Dawley, tras ser sometidas a una sesión de nado prolongado (Kuo *et al.*, 1999). En el mismo estudio, se encontró que el GLUT4 se expresa más en las fibras rojas, esto a su vez, se relaciona con lo reportado por Derave (1999), quien encontró que antes y después de estimulación eléctrica, las fibras de contracción lenta (con metabolismo principalmente oxidativo) captan más glucosa que las fibras de contracción rápida (metabolismo básicamente glucolítico). Además, se ha evidenciado que con la disminución del glucógeno, inducida por la realización de ejercicio o electro-estimulación experimental, la concentración de GLUT4 en el sarcolema se incrementa y esto favorece la captación de glucosa, especialmente después de la ingesta de alimento (Kawanaka *et al.*, 1999; Derave, 1999). Resultados similares se han encontrado en humanos, al someter a entrenamiento únicamente una de las piernas de los sujetos bajo estudio y emplear la otra como control. En este caso, tanto el contenido de GLUT4 como la incorporación de glucosa se incrementan mayormente en la pierna ejercitada, en la que también se encontró un aumento en la cantidad de glucógeno almacenado. A partir de estos resultados, se ha sugerido que la intensidad del entrenamiento, determina tanto el grado de la sobrecompensación del glucógeno como la duración de la respuesta (Kristiansen *et al.*, 2000). Lo anterior significa que la utilización de las reservas energéticas depende de la intensidad del ejercicio.

En la actualidad, se cuenta con un gran número de investigaciones sobre el proceso de transformación entre fibras musculares, así como de los cambios en el transporte y el almacenamiento de la glucosa, en respuesta al entrenamiento aeróbico; pero en la mayoría de estos trabajos, únicamente se describen los cambios en las proporciones de los tipos de fibras y son muy escasos los estudios que analizan el efecto del ejercicio aeróbico sobre la mecánica del músculo y su relación con los cambios en la dinámica de la glucosa muscular. De manera que este tipo de estudios, permiten conocer más sobre la forma en que el ejercicio frecuente influencia la mecánica contráctil de los músculos y la proporción de carbohidratos en estos, así como la posible relación que guardan entre sí, lo que podría contribuir para el desarrollo de futuras y mejores estrategias de entrenamiento en el ámbito deportivo. Para este fin, el músculo gastrocnemio de la rata, resulta muy útil como objeto de estudio, puesto que, al ser un músculo mixto, es posible observar la influencia de un determinado estímulo sobre varios tipos de fibras musculares a la vez, además, al ser un poderoso flexor de la articulación de la rodilla, se ve altamente influenciado por actividades aérobicas como correr, caminar, saltar o nadar, ya que es

el principal músculo para desarrollar la fuerza propulsora durante la locomoción (Palastanga *et al.*, 2007), lo que facilita su entrenamiento. Con base en lo anterior, en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

### **3. OBJETIVO GENERAL**

Determinar si el ejercicio aeróbico (nado) modifica el desarrollo corporal, el patrón contráctil y la proporción de fibras con mayor contenido de carbohidratos en el músculo gastrocnemio de la rata macho.

#### **3.1. Objetivos particulares:**

- Conocer el efecto del ejercicio aeróbico sobre el peso corporal, la longitud corporal, y el índice de masa corporal de los animales sometidos a entrenamiento.
- Establecer si el ejercicio de resistencia modifica la tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de la rata macho.
- Determinar si el ejercicio aeróbico modifica la proporción de fibras con mayor contenido de carbohidratos, en el músculo gastrocnemio de la rata macho.
- Establecer si existe relación entre la tensión desarrollada y la proporción de fibras con mayor contenido de carbohidratos, en el músculo gastrocnemio de ratas control y sometidas a ejercicio aeróbico.

### **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.1. Animales**

Se utilizaron 24 ratas machos (*Rattus norvegicus*) juveniles, de la cepa Wistar, con un peso inicial de alrededor de 190 g, proporcionadas por el bioterio general de la FES-Iztacala. Todos los animales tuvieron libre acceso a agua y alimento y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura (18-26 °C), humedad (40-70%) y periodo de luz-oscuridad (12/12 horas.) durante toda la fase experimental (Fig. 9).

#### **4.2. Programa de entrenamiento**

Al inicio del experimento, los animales se distribuyeron al azar en dos grupos: el control (C, n= 12), que se mantuvo sedentario durante todo el experimento, y el experimental (E, n=12), que fue sometido a nado forzado por 30 minutos diarios, durante tres semanas. Además, el día del experimento, la mitad del grupo control y la mitad del grupo experimental, se sometieron a nado forzado (NP, 45 min) inmediatamente antes de realizar la evaluación de la actividad contráctil, mientras que la otra mitad no se sometió a nado previo (SN). Al término de cada una de las tres semanas, se midió el peso, la longitud y se estimó el índice de masa corporal (IMC) de los animales.

#### **4.3. Registro mecánico**

El día del experimento los animales fueron pesados y anestesiados con uretano (1.6 g/Kg de peso); el músculo gastrocnemio derecho fue expuesto mediante incisiones longitudinales en la piel; se midió su longitud de reposo y se cortó el tendón distal. Posteriormente, se colgó mediante un hilo indeformable a un miógrafo isométrico (Miógrafo B, Narco Byosystems), conectado a su vez a un amplificador (Tipo 7070, Narco Biosystems) y a un fisiógrafo de escritorio (Modelo DMP 4B, Narco Biosystems), con el objeto de efectuar el registro de su actividad contráctil. Para evitar la aparición de artefactos mecánicos, tanto la pelvis como la parte distal de la tibia fueron fijadas firmemente a una tabla de disección, con alfileres de acero inoxidable. Durante el registro el músculo se mantuvo hidratado mediante el goteo constante de solución salina (NaCl 0.9%).

Para provocar la actividad contráctil en el músculo, se estimuló mediante un par de electrodos colocados sobre su superficie, con los cuales se aplicaron pulsos eléctricos (con un amperaje de 30 V y 0.5 ms de duración), con frecuencias de 0.5, 5, 15, 30, 50 y 75 Hz, durante tres segundos. Las repuestas contráctiles se registraron en papel y se almacenaron para su posterior análisis; al término del registro, se cuantificaron su longitud óptima y su peso con el objeto de normalizar a un gramo.

#### **4.4. Histoquímica**

El músculo izquierdo fue separado de la extremidad del animal, se cuantificó su peso húmedo y se fijó con formaldehído al 4%; se almacenó a temperatura ambiente para posteriormente continuar con el procedimiento histológico.

El tejido se sometió a la técnica histológica estándar: lavado con agua corriente hasta perder el olor del fijador y un lavado breve con agua destilada; deshidratación en alcohol a concentraciones 70, 80, 90, 96 y 100% (I y II) durante una hora en cada solución bajo constante agitación; aclaramiento con xilol (I y II) durante 45 a 60 minutos, infiltración en parafina durante 24 horas e inclusión en la misma. Una vez concluida esta fase del procedimiento, se realizaron cortes transversales en la porción media de 8 músculos en estudios (n = 2 por grupo experimental) con un grosor de 10µm, mediante un micrótomo American Optical modelo 820 y se montaron en porta objetos con solución Ruyter como adherente. El proceso de rehidratación se efectuó sumergiendo los cortes antes mencionados, durante 5 segundos, en soluciones de alcohol en concentración decreciente (100, 96, 90, 80 y 70%), para posteriormente realizar la técnica histoquímica que nos permitió observar los carbohidratos (glucosa y glucógeno) presentes en el interior de las fibras musculares.

Para conocer la proporción de carbohidratos en las fibras musculares, se empleó la técnica histoquímica del ácido peryódico-Schiff (PAS). Esta reacción tiñe carbohidratos y macromoléculas con abundancia de carbohidratos como el glucógeno. El ácido peryódico rompe la unión entre los átomos de carbono de las hexosas y da lugar a la formación de grupos aldehído, que al reaccionar con el reactivo de Schiff, produce un color púrpura intenso.

Las imágenes de los cortes teñidos se capturaron mediante el software Adobe Photoshop CS6; a partir de estas imágenes se calculó el porcentaje de células teñidas con mayor intensidad por el reactivo de Schiff. Se calculó el área ocupada por estas células con respecto al área total de cada músculo.

#### **4.5. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos a través del registro mecánico, fueron promediados por grupo y se utilizó una prueba de t-student con una  $p < 0.05$  para establecer la existencia de diferencias significativas. Con respecto a los datos obtenidos a través de la tinción de carbohidratos, el porcentaje de las áreas más intensamente marcadas fueron promediadas por grupo y sometidas a una prueba de ji cuadrada con una  $p < 0.05$  para determinar la existencia de diferencias significativas.

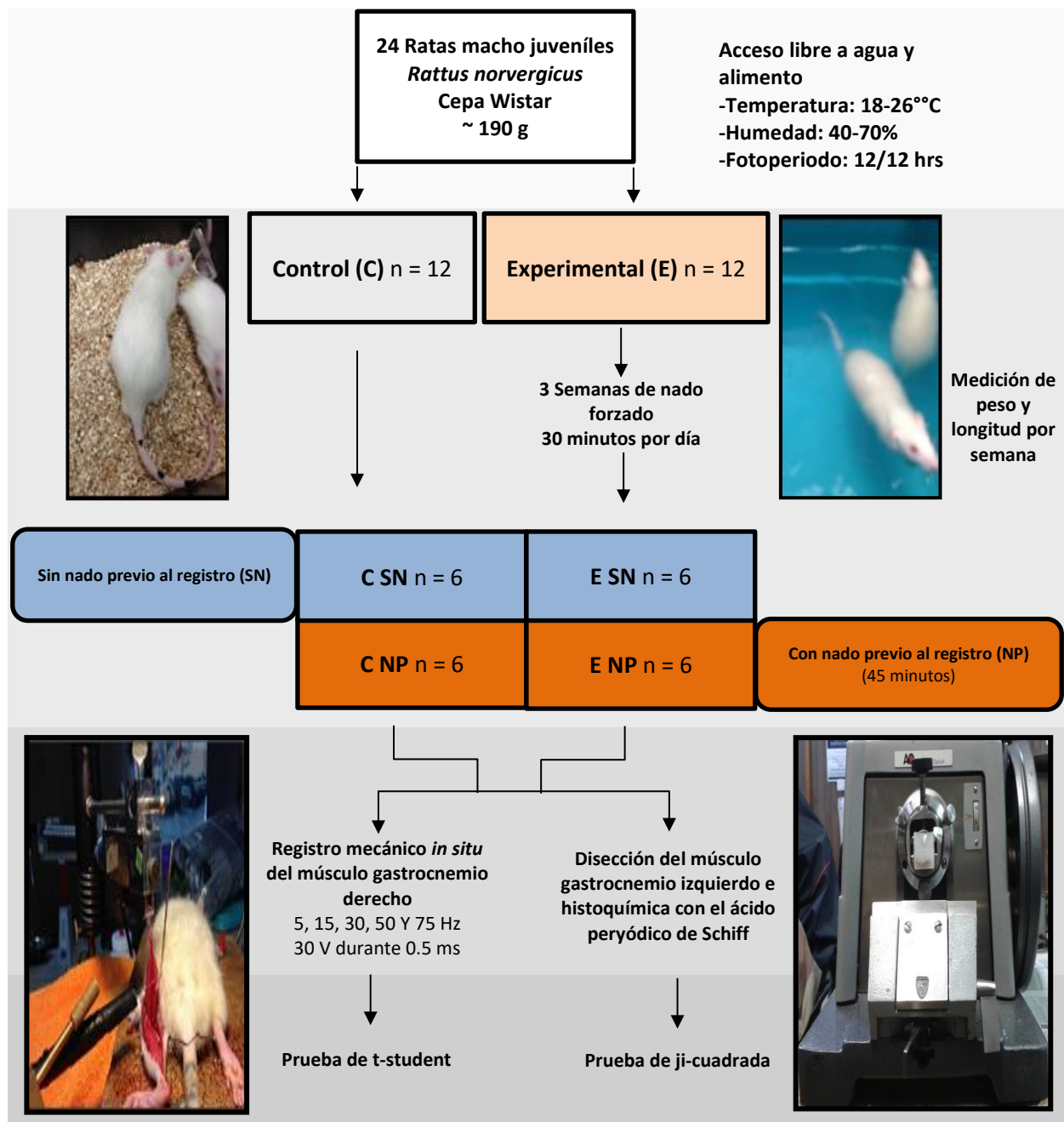


Figura 9. Representación esquemática del diseño experimental.

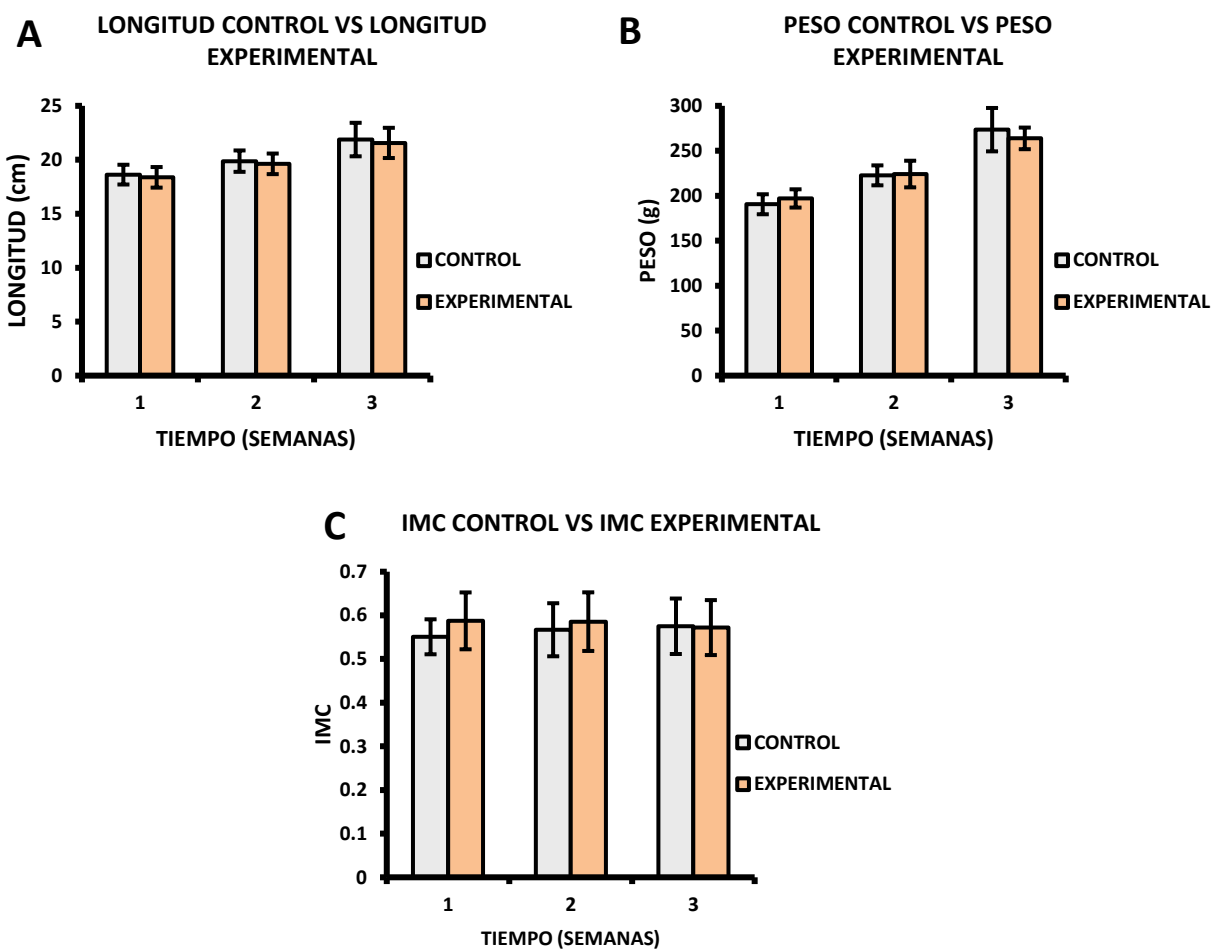
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Parámetros corporales de los animales

Nuestros resultados muestran que el nado forzado (ejercicio aeróbico), realizado durante tres semanas, no provocó cambios significativos en los parámetros morfológicos evaluados (longitud



del cuerpo, peso corporal e índice de masa corporal; t de Student,  $p > 0.05$ ). Ahora bien, debido a que los animales utilizados contaban al inicio del experimento con una edad aproximada de 35 días postnatales y por lo tanto aún presentaban cambios en su longitud y en su peso, decidimos cuantificar ambos parámetros en las ratas controles y en las sometidas a nado forzado. Encontramos que el incremento en la longitud de los animales sometidos a ejercicio aeróbico, mantuvo una tendencia similar a la mostrada por los organismos control, desde el inicio hasta el final del periodo de entrenamiento (Fig. 10-A); mientras que el peso corporal de los animales ejercitados mostró una tendencia hacia la disminución al final del período de entrenamiento, respecto al grupo sedentario (Fig. 10-B).



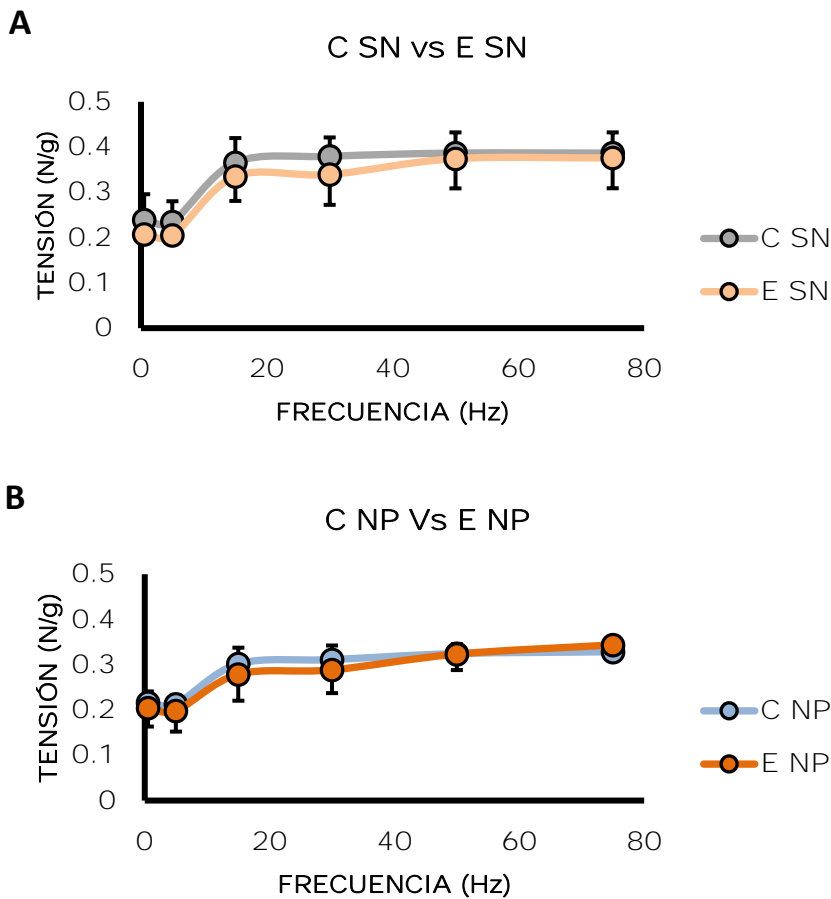
**Figura 10. Desarrollo corporal de ratas sedentarias y sometidas a entrenamiento a lo largo de tres semanas. Peso (A), longitud (B) e índice de masa corporal (C).**

En cuanto al IMC (relación entre el peso y el cuadrado de la longitud del organismo) observamos que los organismos sometidos a ejercicio aeróbico mostraron una tendencia a incrementar esta relación durante las dos primeras semanas de entrenamiento, pero alcanzó valores similares para

ambos lotes de ratas hacia el final del experimento (Fig. 10-C). Lo anterior indica que al iniciar el período de entrenamiento los animales aumentaron su masa muscular, comparativamente con las ratas sedentarias; pero hacia la tercera semana el grupo control ganó más peso que el entrenado y esto igualó el IMC de ambos grupos. Este resultado sugiere que el ejercicio aeróbico constituye un buen mecanismo de control del peso corporal, a mediano y largo plazo.

## 5.2. Tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio

En cuanto a la tensión desarrollada, encontramos que no existen diferencias significativas entre el grupo sedentario y el grupo entrenado, tanto si la estimulación con frecuencias crecientes se efectúa sin realizar nado previo (Fig. 11-A), como si se somete a los animales a 45 minutos de nado antes de efectuar el registro (Fig. 11-B, t de Student;  $p > 0.05$ ). Estos resultados indican que el entrenamiento aeróbico al que fueron los animales, no modificó de forma evidente la respuesta contráctil del músculo gastrocnemio ante las frecuencias de estimulación aplicadas.



**Figura 11. Tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de las ratas sedentarias y las ratas sometidas a nado forzado por tres semanas. Los registros se efectuaron bajo las condiciones: A) Sin nado previo y B) con nado forzado antes del registro. Cada punto representa el promedio de la tensión desarrollada por 12 músculos, ante cada una de las frecuencias empleadas. Las barras verticales representan la desviación estándar; el asterisco (\*) indica diferencias estadísticamente significativas (t de Student,  $p < 0.05$ ).**

Sin embargo, encontramos que los músculos de ratas control, que nadaron durante 45 minutos antes de ser estimulados con frecuencias crecientes, desarrollaron menor tensión por gramo de tejido que la desarrollada por el músculo gastrocnemio de animales que no fueron sometidos a nado antes de registrar sus propiedades mecánicas (Fig. 12-A), aunque tales diferencias fueron estadísticamente significativas únicamente para la estimulación con frecuencias entre los 15 y los 50 Hz ( $p < 0.05$ ). Respecto al grupo sometido a entrenamiento por tres semanas (Fig. 12-B), los individuos SN y NP no mostraron diferencias significativas para ninguna de las frecuencias de estimulación utilizadas para provocar la contracción muscular (t de Student,  $p > 0.05$ ).

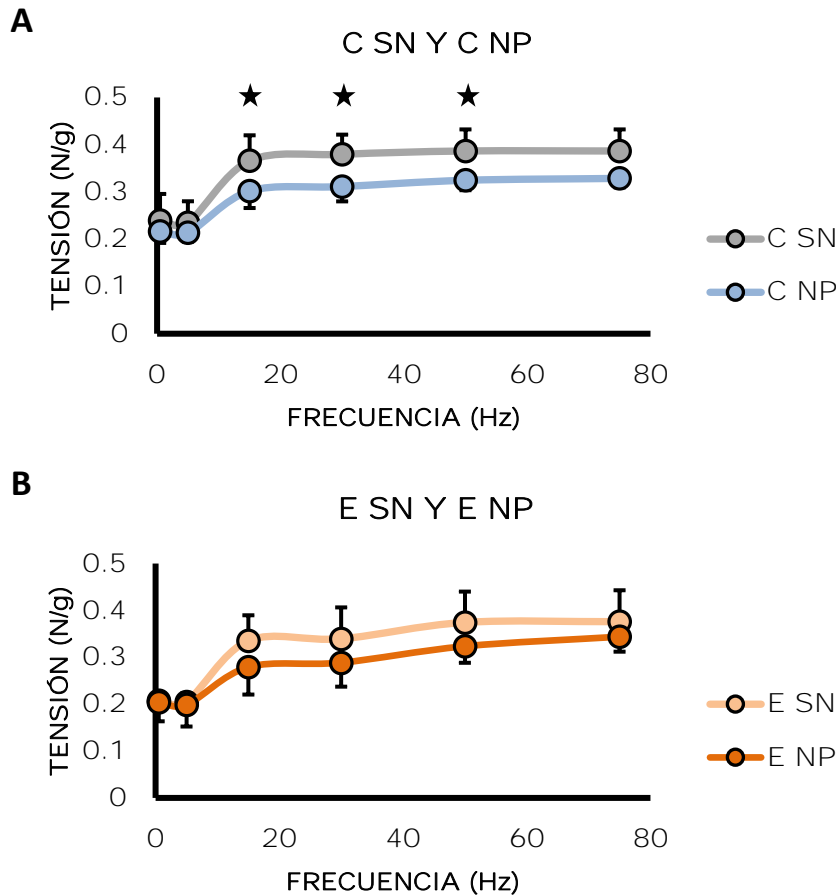


Figura 12. Efecto del nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes, sobre la tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de ratas control y entrenadas. A) Tensión desarrollada por los animales sedentarios. (B) Tensión desarrollada por los animales entrenados por tres semanas. Cada punto representa el promedio de la tensión desarrollada por 12 músculos, ante cada una de las frecuencias empleadas. Las barras verticales representan la desviación estándar; el asterisco (\*) indica diferencias estadísticamente significativas (t de Student,  $p < 0.05$ ).

Es probable que los músculos de ratas sometidas a ejercicio aeróbico, durante tres semanas, no disminuyen significativamente la tensión desarrollada durante la estimulación con frecuencias crecientes, porque han establecido una nueva condición basal respuesta mecánica ante determinados estímulos y para las reservas de carbohidratos, lo que les permite disponer de la energía requerida para mantener inalterada la fuerza desarrollada, a pesar de ser sometidas nado previo al registro. Por otra parte, también es probable que el decremento en la tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de animales sedentarios y entrenados se haga más

evidente, si el período de entrenamiento se prolonga más allá de las tres semanas empleadas en esta serie de experimentos, pues es posible que de esa forma, se promueva una mayor adaptación muscular hacia el tipo de fibras lentas resistentes a la fatiga, involucradas ampliamente en actividades aeróbicas.

### **5.3. Reservas de glucógeno e incorporación de glucosa.**

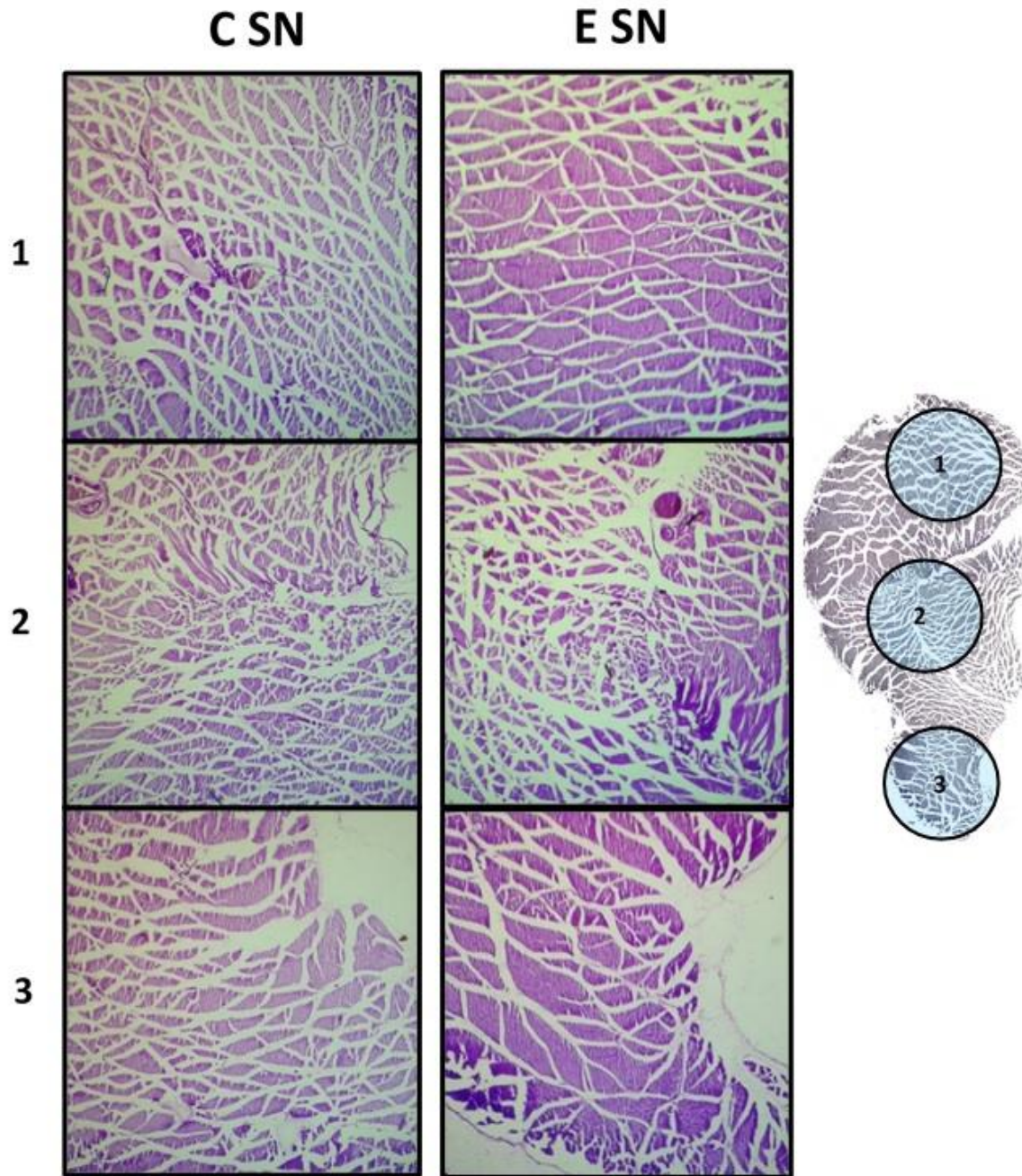
Para probar la hipótesis de que el músculo gastrocnemio de animales sometidos a entrenamiento aeróbico, modificaron su condición basal de carbohidratos disponible para llevar a cabo la actividad mecánica, se utilizó la técnica de PAS (Fig.13-14).

Ésta mostró, que la proporción de fibras musculares que contienen una elevada cantidad de carbohidratos, se incrementó significativamente en los animales entrenados, con respecto a aquellos que permanecieron sedentarios durante el mismo intervalo de tiempo (ji-cuadrada  $p < 0.05$ , Fig.15). Dicho incremento se observó entre en los animales que no realizaron el nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes (del 18 al 30.2%), como en entre aquellos que sí lo realizaron (del 25 % al 37%; Fig. 15-a y b). Además, es posible observar una tendencia hacia el incremento en la incorporación de carbohidratos, en los grupos sedentarios y ejercitados que realizaron nado previo, respecto a su contraparte que no lo realizó, sin embargo no es estadísticamente significativo.

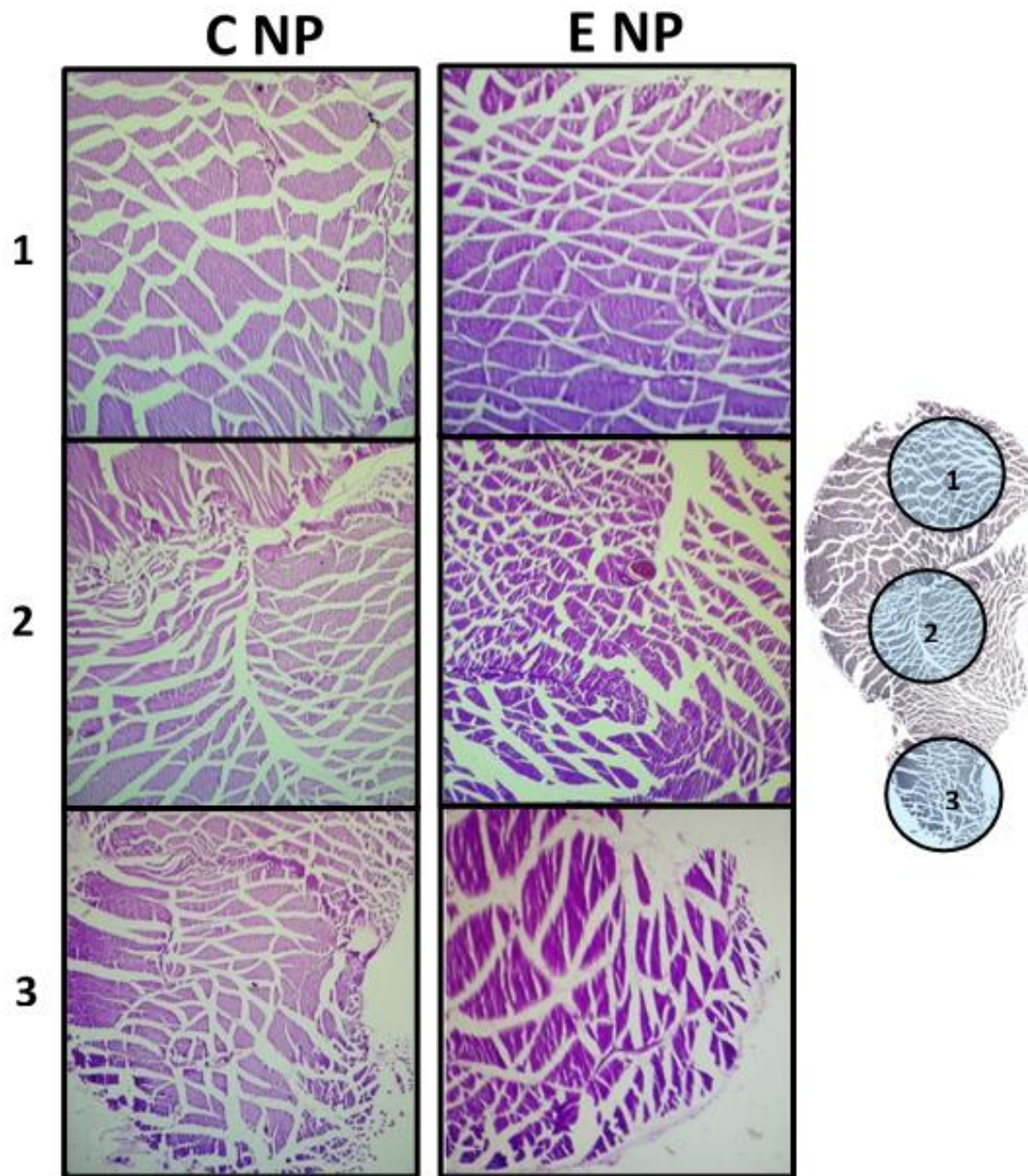
En este aspecto, es importante recordar que la glucosa es la principal fuente de energía para las fibras musculares, pues es el único carbohidrato que puede encontrarse dentro de éstas de forma libre en una cantidad significativa, durante la actividad contráctil; mientras que en reposo, la mayor parte de la glucosa se encuentra almacenada en forma de glucógeno, conformado por numerosas moléculas de glucosa. Por tal motivo, es válido suponer que el glucógeno es el carbohidrato que es teñido por el PAS, durante la condición de reposo; mientras que el ligero incremento en la proporción de carbohidratos marcados, a causa del nado previo respecto a la condición sin nado (en grupos sedentarios y en grupos entrenados) corresponde a la glucosa entrante desde la circulación, estimulada por la demanda de energía que la actividad física supone.

Nuestros resultados sugieren que el ejercicio, aún en los primeros minutos de realización, incrementa la captación de glucosa a través del sarcolema de la fibra muscular (Kuo *et al.*, 1999) y posiblemente causa adaptaciones a nivel metabólico, que permiten que los músculos de

animales entrenados cuentan con las reservas energéticas que les permitirán desempeñar de forma eficiente su actividad contráctil.



**Figura 13.** Cortes transversales con tinción PAS, de tres secciones del músculo gastrocnemio de ratas sedentarias y entrenadas, sin nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes. Se muestran de forma representativa tres secciones (1, 2 y 3) del músculo gastrocnemio de ratas controles (columna izquierda) y sometidas a ejercicio aeróbico durante tres semanas (columna derecha). A la derecha de las columnas, se muestran las regiones de procedencia de cada una de las secciones.



**Figura 14.** Cortes transversales con tinción PAS, de tres secciones del músculo gastrocnemio de ratas sedentarias y entrenadas, con nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes. Se muestran de forma representativa tres secciones (1, 2 y 3) del músculo gastrocnemio de ratas controles (columna izquierda) y entrenadas (columna derecha), sometidas a 45 minutos de nado forzado antes de tomar la muestra. A la derecha de las columnas, se muestran las regiones de procedencia de cada una de las secciones.

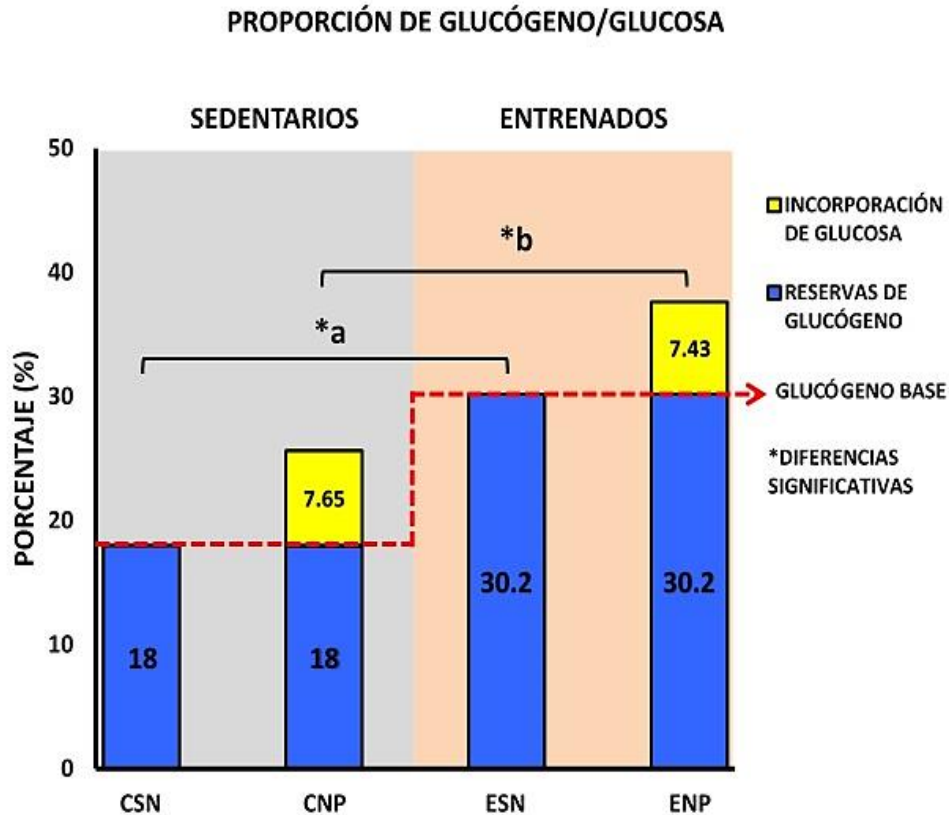


Figura 15. Proporción de fibras musculares que se tiñen con la técnica de PAS en los grupos control y experimental. En color azul, se ha representado la proporción de fibras que contienen una elevado contenido glucógeno en los músculos de ratas control y entrenadas, mientras que el color amarillo, se muestra el incremento de carbohidratos (glucosa circulante) después de someter a los animales a 45 minutos de nado forzado. Note que tanto el grupo control como el entrenado incrementaron el contenido de éstos, después de someter a los animales a nado previo.

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1. Desarrollo corporal

Aunque no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros relacionados al desarrollo corporal, se observa una tendencia hacia la disminución del peso y en consecuencia, del IMC de los animales sometidos a nado forzado por tres semanas, con respecto a los animales sedentarios. Esto se debe probablemente, a que el ejercicio aeróbico a largo plazo provoca la reducción de grasa corporal sin incrementar de forma importante la masa muscular, lo que concuerda con lo mencionado por Egan & Zierath, 2013; no obstante, sería conveniente medir de forma cuantitativa la proporción de grasa corporal, el contenido proteico y especialmente, la concentración de glucógeno muscular para ambos grupos. También es posible que nuestros

resultados solo muestren las modificaciones iniciales del entrenamiento, y que incrementando el periodo de entrenamiento y/o la intensidad del ejercicio, las tendencias observadas tanto en el peso corporal como en el IMC, se hagan más evidentes.

## **6.2. Respuesta mecánica**

La disminución en la tensión desarrollada por los músculos de los animales control, sometidos a nado forzado antes de la estimulación con frecuencias crecientes (Fig. 12-A), podría asociarse con la acumulación de ácido láctico, provocada por la prolongada actividad aeróbica previa al registro de la actividad mecánica, pues como mencionan Bompa (2004) y Saladin (2013), la acumulación de este producto provoca la incapacidad del músculo para contraerse al máximo. Esto ocurre debido a que el ejercicio aeróbico prolongado induce un incremento en la concentración de iones hidrógeno, que inhibe las reacciones glucolíticas e interfiere directamente con el acoplamiento excitación-contracción, probablemente a través de la inhibición de la unión del calcio con la troponina C, o con la formación de los puentes cruzados. Además, la acumulación de estos iones provoca un descenso en el pH, que a su vez inhibe la actividad enzimática de los sistemas energéticos de la célula, que conduce a un descenso en la cantidad de energía disponible y por lo tanto en la fuerza contráctil de músculo durante la actividad física (Beachle y Earle, 2007).

Por otro lado, en los grupos sometidos a entrenamiento aeróbico ESN y ENP no se encontraron diferencias significativas en la tensión desarrollada (Fig. 12-B). Este resultado plantea la posibilidad de que el músculo gastrocnemio de animales sometidos a entrenamiento aeróbico, desarrollaran una adaptación muscular tal, que permitió al grupo ENP desarrollar la misma fuerza que el grupo ESN. Sin embargo, al comparar los grupos sedentarios y entrenados, sometidos a nado forzado antes del registro (CNP y ENP; Fig. 11-B), encontramos que la tensión desarrollada por el grupo CNP es la misma que la desarrollada por el grupo sometido a entrenamiento ENP, lo que sugiere que el entrenamiento aeróbico al que fueron sometidas las ratas, no las dotó de la capacidad para responder con mayor eficiencia ante las frecuencias de estimulación aplicadas luego del nado previo, con respecto al grupo sedentario; no obstante, Green y colaboradores (1988), así como López-Morales y colaboradores (1990) encontraron que el entrenamiento aeróbico promueve la transformación de fibras musculares de contracción rápida a fibras de contracción lenta o intermedia. Ambos tipos de fibras musculares se caracterizan por desarrollar una menor fuerza contráctil, que la alcanzada por las fibras de sacudida rápida, pero pueden mantener dicha fuerza por tiempos prolongados (Ira, 2011). Con base en dichos trabajos,



podemos suponer que los músculos de ratas sometidas a ejercicio aeróbico, durante tres semanas continuas, contienen una proporción mayor de fibras de contracción lenta y por lo tanto desarrollan menor fuerza que los músculos de las ratas sedentarias, en las que hay más fibras de sacudida rápida que desarrollan una mayor fuerza contráctil, de manera que los animales entrenados establecieron una nueva respuesta mecánica ante los estímulos aplicados, caracterizada por una ligera disminución en la tensión desarrollada con respecto a los animales no entrenados, lo que puede llevar a no encontrar diferencias significativas entre los grupos ESN y ENP.

Por otra parte, la reducción significativa en la tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de animales CNP, respecto del mismo músculo de ratas CSN, también podría deberse a que los primeros, consumieron la energía disponible para efectuar su contracción durante el ejercicio previo al registro, por lo que no alcanzaron su máxima fuerza contráctil. En cambio, los animales entrenados con ejercicio aeróbico, mostraron una disminución menor en su fuerza contráctil, cuando fue registrada después de someterlos a 45 minutos de nado forzado; este resultado puede explicarse considerando los trabajos de Green (1988) y López-Morales (1990), quienes reportaron un incremento en la proporción de fibras musculares tipo I, de contracción lenta y de tipo IIA, de transición entre las fibras de tipo I y las de tipo IIB (de contracción rápida), o también suponiendo que los músculos de animales entrenados han experimentado cambios metabólicos, que les permiten obtener energía, para efectuar su contracción de manera más eficiente, por ejemplo incrementar la cantidad de glucógeno almacenado.

### **6.3. Proporción de carbohidratos**

Para corroborar lo anterior, se estimó la proporción de fibras musculares con mayor contenido de carbohidratos (glucógeno predominantemente), utilizando para ello el reactivo de PAS. Se encontró que los grupos sometidos a entrenamiento aeróbico por tres semanas (ESN y ENP), aumentaron significativamente la proporción de glucógeno en comparación con los grupos sedentarios (CSN y CNP. Fig. 15), pues como se observa en la figura 15, existen diferencias estadísticamente significativas tanto entre los grupos CSN y ESN, como entre los músculos de animales CNP y ENP ( $\chi^2$ -cuadrado,  $p < 0.05$ ); Tal incremento, corresponde principalmente a reservas de glucógeno, pues la mayoría de los carbohidratos ingeridos son transformados en glucosa, la cual termina por formar los depósitos de glucógeno en las fibras musculares (Peinado *et al.*, 2013; Saladin, 2013). El aumento de glucógeno muscular en los animales sometidos a entrenamiento aeróbico, probablemente se deba al aumento en la actividad de GLUT4 (principal

transportador de glucosa en el músculo esquelético), pues Kuo y colaboradores (1999) reportaron que existe una relación directa entre dicho transportador y la concentración de glucógeno, tras una sesión de entrenamiento, o bien, a largo plazo como respuesta adaptativa a un entrenamiento dado, como señala Kristiansen (2000). Dichos autores, han sugerido que el ejercicio incrementa la actividad del transportador GLUT4, y cuando éste se realiza de manera continua, incrementa la capacidad muscular para almacenar glucógeno, con el objeto de satisfacer demanda de energía por parte del músculo. Adicionalmente, Gómez-Zorita y Urdampilleta (2012) señalan que la realización de ejercicio (aún en sus etapas iniciales) estimula el flujo sanguíneo, y con ello se incrementa la disponibilidad de glucosa y su captación hacia el interior de la célula; además, el transporte de glucosa hacia el interior de la sarcómera se incrementa en relación con la intensidad de la contracción muscular. También, la actividad física provoca cambios a corto plazo en la expresión del ARNm y de la proteína GLUT4, de manera que una vez cesa el ejercicio, disminuye la glucólisis, pero permanece elevado el transporte de glucosa (debido a que el número de transportadores GLUT4 y el flujo sanguíneo aún se encuentran elevados), por lo que el músculo almacena ésta en forma de glucógeno. Lo anterior, explicaría el aumento en el contenido de carbohidratos de los músculos entrenados, y en aquellos sometidos a nado previo a la estimulación con frecuencias crecientes, ya que es posible observar un ligero incremento en la proporción de fibras musculares con mayor contenido de carbohidratos, cuando se somete a los animales a 45 minutos de nado forzado previo al registro mecánico; dicho incremento, sería consecuencia en primer lugar, del aumento del flujo sanguíneo que facilitó la disponibilidad de glucosa para las fibras musculares, como menciona Gómez-Zorita y Urdampilleta (2012); y en segundo lugar, al incremento de la actividad del transportador GLUT4 estimulada por la actividad contráctil, como reportan Kuo y colaboradores (1999). De tal forma que, dichas alteraciones, desencadenadas por una sola sesión de ejercicio, al ser llevadas de forma diaria a través de un programa de entrenamiento como el implementado en el presente trabajo, terminaron por modificar el contenido basal de glucógeno en una mayor proporción de fibras musculares, como consecuencia de la sobrecompensación de glucosa a la que, de forma crónica, se vieron expuestas las fibras musculares (Kristiansen *et al.*, 2000).

Aunque existen otras fuentes para la obtención de energía, como los ácidos grasos o la fosfocreatina, el presente trabajo se enfoca en el glucógeno, pues se sabe que durante los primeros 30 minutos de actividad aeróbica, de moderada a intensa, el glucógeno es la principal fuente de carbohidratos que contribuye a la demanda energética del músculo (Egan & Zierath.,2013). Considerando que el ejercicio aeróbico al que fueron sometidos los animales consistía no solo en nadar para mantenerse a flote, sino en vencer la corriente generada por el

experimentador, mediante movimientos circulares continuos, durante los 30 minutos por día en las tres semanas de entrenamiento, los músculos implicados (principalmente los de las extremidades posteriores) fueron sometidos a una considerable intensidad de trabajo, que requirió el empleo tanto de la glucosa circulante como de las reservas de glucógeno muscular. Esta condición proporcionó el estímulo necesario para generar la adaptación propuesta en las reservas de glucógeno. Por otra parte, se ha reportado que la respuesta de adaptación del músculo esquelético al entrenamiento físico ocurre desde la primera semana de entrenamiento, si el estímulo del ejercicio es adecuado (Gómez-Zorita y Urdampilleta, 2012).

#### **6.4. Relación tensión/glucógeno**

Los resultados anteriormente expuestos, muestran que no existe una relación entre la respuesta mecánica del músculo gastrocnemio con la proporción de fibras que contienen glucógeno, pues a pesar de que el grupo CNP mostró una mayor proporción de fibras musculares con mayor contenido de carbohidratos, en comparación del grupo CSN, este último desarrolló una fuerza estadísticamente superior. Esto indica que, a pesar de que los animales CNP transportaron glucosa hacia el interior de las fibras musculares, no la utilizaron para incrementar su fuerza contráctil. Lo anterior puede explicarse considerando que el ejercicio moderado, pero realizado durante tiempos prolongados (nado durante 30 minutos), provoca un tipo de fatiga muscular que impide el buen desarrollo de la actividad contráctil durante varios minutos o incluso horas, después de concluido el ejercicio y por tal motivo los animales CNP desarrollaron menor fuerza que aquellos CSN.

Por otra parte, al comparar los grupos ESN y ENP, notamos que el grupo ENP cuenta con una mayor proporción de fibras con mayor contenido de carbohidratos que los músculos ESN, pero la tensión desarrollada por ambos es estadísticamente igual. Esto significa que el ejercicio aeróbico además de incrementar las reservas energéticas pudo provocar la transformación fibras musculares de sacudida rápida o intermedia a sacudida lenta, que como se sabe, desarrollan menor fuerza durante su contracción.

Lo anteriormente expuesto muestra que el programa de entrenamiento aeróbico al que fueron expuestos los animales durante tres semanas, resultó lo suficientemente efectivo como para provocar la modificación de las reservas de glucógeno en los músculos involucrados y, aunque en menor medida, la modificación del patrón contráctil de dichos músculos, lo que habla de un posible cambio en la proporción del tipo de fibras musculares que componen al músculo gastrocnemio. A pesar de que no se halló una relación entre el contenido de glucógeno y la

tensión desarrollada por el músculo, es posible observar la secuencia en la que las modificaciones adaptativas se presentan con el entrenamiento, en donde las características metabólicas como el contenido de glucógeno en este caso, sufren un rápido y drástico incremento, mientras que la transformación de fibras musculares y la consecuente alteración de la mecánica contráctil, se lleva a cabo a un ritmo notablemente menos evidente.

## 7. CONCLUSIÓN

1. El nado forzado, durante tres semanas, no provocó cambios significativos en peso, longitud e IMC, aunque se observa una tendencia de disminución del peso e IMC en las ratas entrenadas.
2. El nado forzado durante tres semanas no provocó cambios significativos en la tensión desarrollada por el músculo gastrocnemio de ratas sedentarias comparativamente con el mismo músculo de ratas entrenadas.
3. El ejercicio previo a la estimulación disminuyó la fuerza desarrollada por los músculos de ratas control, pero no la que desarrollaron los músculos de animales entrenados.
4. El ejercicio aeróbico previo a la estimulación aumentó la concentración de glucógeno en ambos grupos.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baechle, R. T. & Earle, W. R. (2007). *Principios del entrenamiento de la fuerza y del acondicionamiento físico*. Madrid, España. Panamericana.
- Barret, E. K., Barman, M. S., Boitano, S. & Brooks, H. (2013). *Ganong. Fisiología médica*. México, D.F, México. McGraw-Hill.
- Bompa, O. T. (2004). *Periodización del entrenamiento deportivo*. Barcelona, España. Paidotribo.

- Derave, W., Lund, S., Holman, D. G., Wojtaszewski, J., Pedersen, O. & Richter, A. E. (1999). Contraction stimulated muscle glucose transport and GLUT-4 surface content are dependent on glycogen content, *Am J Physiol* 277, 1103-1110.
- Devlin, M. T. (2004). *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*. Barcelona, España. Revérte.
- Egan, B. & Zierath, L. J. (2013). Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell metabolism*, 7, 162-184.
- Friedman, J. E. (2002). *Glucose metabolism in skeletal muscle*. *Sport Sci*.
- Gómez-Zorita, S. & Urdampilleta, A. (2012). El GLUT4: efectos de la actividad física y aspectos nutricionales en los mecanismos de captación de glucosa y sus aplicaciones en la diabetes tipo 2. *Av Diabetol* 28, 19-26
- Green, J. H., Klug, A. G., Reichmann, H., Seedorf, U., Wiehrer, W. & Pette, D. (1988). Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflugers Arch*, 400, 432-438.
- Hernández, D. P & Herrera, B.C. (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? *Iatria* 15(3), 179-189.
- Ihlemann, J., Ploug, T., Hellsten, Y. & Galbo, H. (1999). Effect of tension on contraction-induced glucose transport in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, 277(2), 208-214.
- Ira, F. S. (2011). *Fisiología humana*. México, D.F, México. Mcgraw-Hill.
- Jiménez Ramos, A., Torres-Hernández, P. R., Wall-Medrano, A., Durán-Torres, V. P. & Oropeza-Juárez, A. M. (2009). Efectos del ejercicio sobre los mecanismos celulares para la captación de glucosa en el músculo esquelético. *REB*, 28(4), 115-124.

- Kawanaka, K., Han, D.H., Nolte, A. L., Hansen, A. P., Nakatani, A. & Holloszy, O. J. (1999). Decreased insulin-stimulated GLUT-4 translocation in glycogen supercompensated muscles of exercised rats. *Am J Physiol*, 276, 907-912.
- Kristiansen, S., Gade, J., Wojtaszewski, J., Kiens, B. & Richter, A. E. (2000). Glucose uptake is increased in trained vs. untrained muscle during heavy exercise. *J Appl Physiol*, 89, 1151-1158.
- Kuo CH., Hunt G. D., Ding Z, Ivy, L. J. (1999) Effect of carbohydrate supplementation on postexercise GLUT-4 protein expression in skeletal muscle, *J Appl Physiol*, 87, 2290-2295.
- López-Morales, L. J., Agüera, E., Miro, F. & Diz, A. (1990). Variations in fibre composition of the gastrocnemius muscle in rats subjected to speed training. *Histol Histopath*, 5, 359-364.
- Palastanga, N., Field, D. & Soames, R. (2007). *Anatomía y movimiento humano. Estructura y funcionamiento*. Paidotribo.
- Patton, T. K. & Thibodeau, A. G. (2013). *Anatomía y fisiología*. Barcelona, España: ELSEVIER.
- Peinado, B. A., Rojo-Tirado, A. M. & Benito, J. P. (2013). El azúcar y el ejercicio físico: su importancia en los deportistas. *Nutr. Hosp* 28 (Supl 4), 48-56.
- Pessin, E. J., Thurmond, C. D., Elmendorf, S. J., Coker, J. K. & Okada, S. (1999). Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking. Location! Location! Location!. *J Biol-Chem*, 274, 2593-2596.
- Pineda-Escalona, A. (2013). *Efecto del ejercicio físico de resistencia sobre las propiedades contráctiles del músculo esquelético extensor largo de los dedos (EDL) de la rata macho*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Edo. De México, México.

- Ploug, T, van Deurs, B., Ai, H., Cushman, W. S. & Ralston, E. (1998). Analysis of GLUT4 distribution in whole skeletal muscle fibers: identification of distinct storage compartments that are recruited by insulin and muscle contractions, *J Cell Biol*, 142, 1429-1446.
- Saladin, S. K. (2013). *Anatomía y fisiología. La unidad entre forma y función*. México, D.F. México: Mcgraw-hill.
- Segura-Alegría, B., Estrada-Jiménez, I., y Quintanilla, L. D. (2014) "Músculo". En: *Aparato Urogenital: de la biología a la fisiopatología*. JR Eguibar-Cuenca y Cruz-Gómez (Eds). UNAM, UAT, SMCF. 29-50pp.