

00377
19



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PERINATAL SOBRE EL DESARROLLO
POSNATAL DE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL DE MÚSCULOS LENTOS Y
RÁPIDOS DE LA RATA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLÓGICAS)

PRESENTA

JAVIER PEREYRA VENEGAS

DIRECTOR DE TESIS: Dr. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE 2002

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS	1
ABSTRACT	2
RESUMEN	3
JUSTIFICACIÓN	5
INTRODUCCIÓN	
- Características generales de los músculos esqueléticos	6
- La fibra muscular	2
- Ultraestructura de la sarcomera	10
- El papel del calcio en la contracción muscular	14
- Modelo mecánico del músculo esquelético	15
- Clasificación y características de las fibras musculares	17
- Propiedades mecánicas del músculo esquelético	21
- Teoría del deslazamiento de los filamentos	25
- Desarrollo ontogénico del músculo esquelético	27
ANTECEDENTES	33
- Características generales de los músculos EDL y Soleo	35
- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	36
- HIPÓTESIS	37
OBJETIVO GENERAL	37
METAS	37
OBJETIVOS PARTICULARES	38
METODOLOGÍA	39
- Método de desnutrición	39
- Mecánica contráctil	40
- Estimulación y registro	40

RESULTADOS	42
- Morfometría	42
- Fuerza desarrollada durante la contracción simple	45
- Tensión máxima durante la sacudida simple (twitch)	47
- Contracción tetánica (tétano)	49
- Relación sacudida simple / tétano.....	50
-Tiempo de contracción (tiempo al pico)	54
-Tiempo de relajación	55
- Frecuencia de fusión	56
- Fatigabilidad	58
- Discusión	61
- Conclusiones	68
REFERENCIAS CITADAS	70

AGRADECIMIENTOS

Por este conducto hago manifiesto mi sincero agradecimiento:

- Al Doctor Ismael Jiménez Estrada por su paciencia e incondicional apoyo en la dirección de la presente tesis.
- Con especial agradecimiento a la M. en C. Bertha Segura Alegría, por su amistad y apoyo ya que los resultados presentados en este trabajo fueron obtenidos en colaboración
- Al técnico especializado en investigación José Carlos Guadarrama por su amistad y apoyo en la parte experimental.
- A mis sinodales de examen: M en C Bertha Segura, Dra. Sofía Días, Dr Ismael Jiménez, Dr. Manuel Salas y Dr. León Cintra por sus comentarios y observaciones.
- Al Biol. Mario Martínez Pantoja por su amistad y apoyo en la parte experimental.
- Al Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV
- A la Universidad Nacional Autónoma de México mi "Alma mater".

Asimismo deseo dedicar esta tesis:

- A mis esposa María de Lourdes Zamudio por su amor comprensión y apoyo.
- A mis hijos Mónica Citlalli Pereyra y Javier Eduardo Pereyra.
- A mis padres y mis Hermanos.

Shema Israel Adonai Eloháí
(deut 6:4)

יהוה

ABSTRACT

The aim of this study was to establish the effect of perinatal undernourishment on the contractile properties of fast-, or slow- muscles at different postnatal ages of the rat (15, 25, 35, 60 and 90 days). Single (0.1 Hz) or trains of stimulus (5 to 100 Hz) were used to produce isometric twitch and tetanic responses in extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) muscles from anaesthetized control or undernourished rat pups. Unexpectedly, at early postnatal ages (15, 25 and 35 days) it was observed that twitch and tetanic responses of food-deprived EDL muscles showed larger tension per gram of tissue and lower fatigability index (25-35%) than responses evoked in control EDL muscles. This effect occurred without significant changes in twitch duration (time-to-peak and relaxation time) and frequency for fusion of contractile responses ($p > 0.001$). At 60 and 90 postnatal days, both control and food-deprived EDL muscles developed similar contractile responses. In contrast, SOL muscles of control and food-deprived animals showed contractile properties which were of equal magnitude at all postnatal ages. These results would suggest that perinatal undernourishment exerts a selective effect on fast muscles and it was assumed that such effect is due to changes in the myofibrillar protein concentration and/or in the postnatal differentiation process of muscle fibers, probably by evoking a delay in the transformation of type IIA, or type IIX (non-fatigable) to type IIB (fatigable) muscle fibers instead to alterations in the excitation-contraction coupling process occurring in food deprived muscle fibers of the rat.

RESÚMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el probable efecto de la desnutrición perinatal sobre las propiedades contráctiles de músculos rápidos y de músculos lentos durante el desarrollo postnatal de la rata.

La sacudida simple (twitch) y la contracción tetánica de los músculos extensor digitorum longus (EDL) y sóleo de ratas variedad Wistar sometidas a una privación postnatal del 50% del alimento (desnutridas) y controles, con diferentes edades (15, 25, 35, 60 y 90 días de edad), fueron provocadas por pulsos únicos o trenes de pulsos de intensidad supramáxima,

Los resultados mostraron que entre los 15 y 35 días de vida, las respuestas simples y tetánicas de los músculos EDL de las ratas desnutridas mostraron valores de tensión (por gramo de tejido) y resistencia a la fatiga de mayor magnitud que las respuestas provocadas por los músculos EDL control. Posteriormente, entre los 60 y 90 días de vida, las respuestas contráctiles de los músculos de las ratas desnutridas no variaron significativamente de las respuestas obtenidas en músculos de las ratas control. Por otro lado, los músculos sóleo de las ratas desnutridas también desarrollaron mayor tensión por gramo de tejido durante la sacudida simple y el tétano (aunque solo en las edades comprendidas entre los 25 y 35 días de edad) pero, a diferencia de los músculos EDL, los músculos sóleo no desarrollaron cambios en la resistencia a la fatiga con respecto a los controles, en ninguna de las edades estudiadas.

Tanto los valores del tiempo al pico, del tiempo de relajación, de la relación twitch/tétano, así como la frecuencia de fusión no mostraron diferencias significativas entre los músculos EDL y sóleo de animales control y desnutridos durante el periodo de tiempo estudiado.

Los resultados obtenidos permiten sugerir que el proceso de acoplamiento excitación-contracción de los músculos EDL y sóleo durante el periodo de tiempo estudiado no fue afectado por la desnutrición y que el incremento relativo de tensión por gramo de músculo observado podría interpretarse como debido entre otras posibilidades, a una mayor eficiencia metabólica o a un incremento relativo

en la concentración de proteínas contráctiles presente en las fibras musculares (asociado posiblemente a una disminución del volumen citoplásmico) o bien, en el caso del músculo EDL, a un retraso en la diferenciación de fibras rápidas no fatigables (IIA, oxidativas-glucolíticas, y IIX, glucolíticas-oxidativas) en fibras musculares rápidas (IIB, glucolíticas).

JUSTIFICACIÓN

La malnutrición o la desnutrición constituyen un reto para los sistemas de salud de todos los países del mundo, tanto por su frecuencia como por sus efectos devastadores sobre múltiples órganos y tejidos de los individuos. Bajo este contexto, en un volumen especial de la revista NATURE (2001) 409(18) se ubica a este problema de salud pública como uno de los de mayor prioridad para la investigación científica en el mundo. La comprensión, la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de esta patología, que hoy en día sufren mil millones de personas en nuestro planeta (Blakburn, 2001), dependen en gran medida del futuro desarrollo de nuevas tecnologías, las cuales induzcan mejoras considerables en la producción y/o en la calidad de los alimentos, así como de una incuestionable mejoría en la repartición y/o distribución de los mismos. Lo anterior involucra la necesidad de realizar cambios substanciales en los sistemas sociales, políticos y ecológicos de la sociedad actual. De igual manera, es imprescindible establecer nuevas líneas de investigación que permitan desde un punto de vista funcional e integrativo, determinar con mayor claridad los efectos que produce una alimentación deficiente en cantidad y/o calidad, sobre los distintos procesos que ocurren en los organismos, y a partir de tales estudios, establecer los procedimientos más apropiados para reducir o abatir las alteraciones producidas por la desnutrición.

El presente proyecto se ubica dentro de ésta última prioridad de investigación y pretende contribuir al esclarecimiento de los efectos que ejerce una alimentación deficiente en cantidad (desnutrición) sobre la fisiología del tejido más abundante del cuerpo, el músculo estriado.

INTRODUCCIÓN :

Características generales de los músculos esqueléticos:

Los músculos esqueléticos constituyen el tejido más abundante del cuerpo, representan del 40 al 45% del peso corporal total en los mamíferos y usualmente se encuentran bajo el gobierno de la voluntad (Mattiuzzi, 2000; Bissonnette, et al 1997) Los músculos, están constituidos por conjuntos de fibras multinucleadas, cuyo origen ontogénético resulta de la fusión de varias células uninucleadas alargadas llamadas mioblastos, las cuales se encuentran unidas entre sí por tejido conectivo (Kandel, 1997). Este tipo de músculos se insertan en los huesos del esqueleto mediante tendones (véase Figura 1). La propiedad funcional de los músculos es la contracción, mediante la cual desarrolla tensión o efectúan trabajo mecánico. Debido a sus propiedades, los músculos esqueléticos son utilizados para realizar movimientos y desarrollar fuerza y son utilizados en muchas actividades, como por ejemplo, la locomoción, mantener la postura y la expresión facial, en los movimiento torácicos (necesarios para la ventilación pulmonar), para la realización de gestos o para la termogénesis entre otros. (Harrison, 1996, Keynes y Aidley, 1985; Dauncey y Gilmour, 1996).

fibras musculares: La fibra muscular es una célula multinucleada, alargada más o menos cilíndrica con un diámetro de entre 10 y 100 μm y una longitud variable que va desde unos milímetros hasta varios centímetros, en cuyos extremos se fusionan con los tendones. Cada fibra muscular se encuentra rodeada por una capa de tejido conectivo, llamada endomisio, cada fascículo de fibras también se encuentra rodeado por una capa de tejido conectivo llamada perimisio, mientras que el músculo completo se encuentra envuelto por una cubierta de tejido conectivo que recibe el nombre de epimisio o fascia (Keynes y Aidley, 1985; véase Figura 1). Cada fibra muscular se encuentra rodeada por una membrana llamada sarcolema, que representa la membrana celular y cuya

característica, más distintiva es la presencia de gran cantidad de pliegues e invaginaciones que forman el sistema de túbulos T. Este sistema de túbulos, asegura que un potencial de acción, pueda extenderse a toda la fibra, la despolarización provoca la liberación de iones calcio, la cual produce la contracción del músculo (Franzini-Armstrong, 1970; Kandel, 1997). El retículo sarcoplásmico, es el principal reservorio de calcio (Ca^{2+}) del músculo y su función es el secuestro y liberación de tales iones hacia el citosol. El retículo sarcoplásmico en el músculo estriado es un conjunto de túbulos anastomosados entre si, que envuelve a las miofibrillas y que ocupa aproximadamente el 10 % del volumen de la fibra (Darneil et al ,1990; Mattiazzi, 2000)

Una característica del músculo esquelético es su diversidad, la cual es resultado del diseño y composición de la fibra muscular y la heterogeneidad

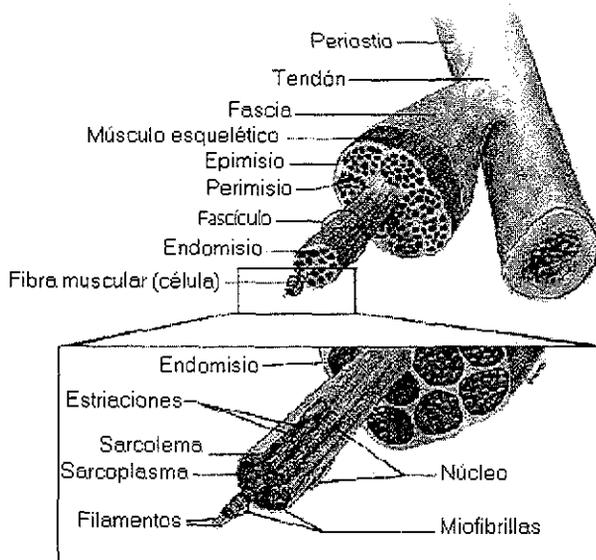


Figura 1: Mostrando la estructura del músculo esquelético y de la fibra muscular.

Tomado de <http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul.Paolini/ppp/lecture18slid027.htm>

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

de las fibras individuales. Por lo que ningún músculo de un animal es idéntico a otro. Por esta razón, la investigación sobre las bases de la expresión fenotípica y la fisiología de las fibras del músculo esquelético durante el desarrollo, durante la especialización funcional y bajo condiciones normales y patológicas, es de gran importancia (Pette y Staron, 1990).

Cada una de las fibras, está compuesta por una serie de subunidades, denominadas miofibrillas, las cuales están rodeadas por el citoplasma (Sarcoplasma) de la fibra el cual contiene abundantes gránulos de glucógeno, mitocondrias y pequeñas células satélite consideradas como mioblastos latentes. Las miofibrillas presentan un diámetro aproximado de 1-2 μm y una longitud igual a la de la fibra muscular. Cada miofibrilla está constituida por unidades repetitivas ubicadas en serie, llamadas sarcómeras, que representan la unidad morfo-funcional del músculo, (véase Figura 2).

Tanto la fibra muscular como las miofibrillas contenidas en las fibras, presentan bajo microscopía electrónica un patrón de estriación característico en la superficie que representa variaciones periódicas en las propiedades ópticas de la fibra, estas estriaciones o bandas se observan a lo largo del eje longitudinal de las fibras y miofibrillas. Las **bandas A** oscuras (anisotrópicas) formadas por filamentos de las proteínas actina y miosina y presentan un alto índice de refracción con respecto a las bandas claras (isotrópicas) llamadas **bandas I**. En medio de la banda A, se observa una zona más clara que la divide, la **banda H**, en cuyo centro se encuentra la **línea M**. Mientras que en medio de la banda I (isotrópica), se localiza la **línea (o disco) Z**, la cual se encuentra aproximadamente a dos micras de la siguiente línea Z, de modo que estas líneas delimitan la unidad funcional de una célula muscular, la sarcómera (Huerta et al., 1986). Las fibras musculares tienen una envoltura continua de aproximadamente 20 a 100 nm, llamada glicocáli o lámina basal (Mattiuzzi, 2000) que envuelve al sarcoplasma, formada por colágena IV, fibronectina y laminina. Esta lámina sirve como substrato de una lámina reticular externa formada principalmente por colágena V, fibronectina y otras proteínas fibrilares. Estas dos láminas constituyen

el soporte estructural para las fibras musculares y contribuyen por sus propiedades elásticas en el ciclo de contracción-relajación.

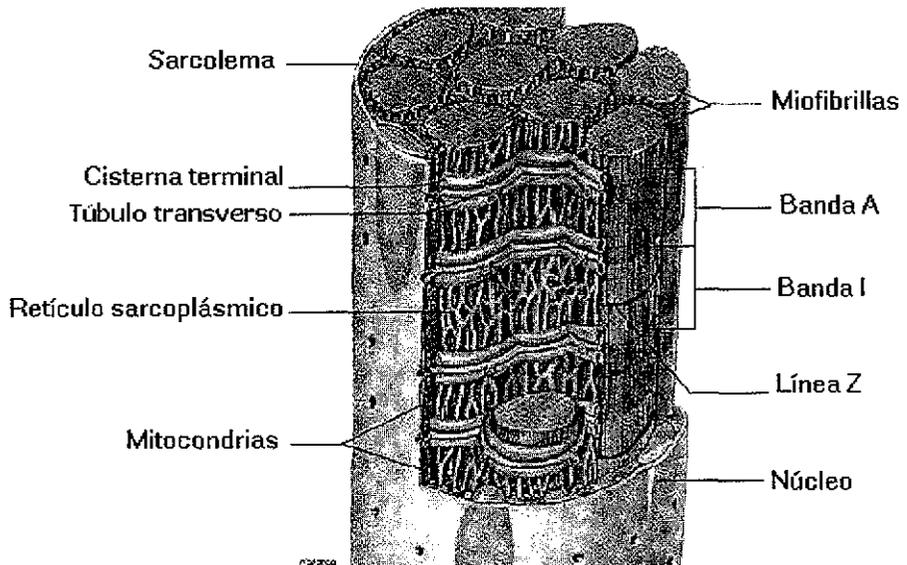


Figura 2: Mostrando la estructura de una fibra muscular.

Tomado de [http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul Paolini/ppp/lecture18slid027.htm](http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul%20Paolini/ppp/lecture18slid027.htm)

Las fibras musculares reciben su aporte sanguíneo mediante una red de capilares distribuidos entre las fibras individuales, y su inervación nerviosa proviene de vías sensoriales (aférentes) y de vías motoras (eferentes). En los mamíferos las vías nerviosas motoras se originan a partir de las motoneuronas del asta ventral de la médula, representadas por las motoneuronas gamma asociadas al huso muscular y las motoneuronas alfa, que inervan a las fibras extrafusales. La inervación sensorial proviene de las fibras intrafusales asociadas a los husos musculares, las cuales registran los cambios de longitud, y del órgano tendinoso de Golgi, localizado entre el músculo y el tendón, el cual transmite la información concerniente a las modificaciones de tensión que ocurren en el

músculo durante una contracción. Además los músculos esqueléticos presentan otros tipos de inervación aferente que transmiten información sobre sensaciones dolorosas (Keynes y Aidley, 1985; Aidley, 1978; Floeter, 1999)

Ultraestructura de la sarcómera:

Las sarcómeras, pueden ser definidas como un sistema de filamentos gruesos y delgados, interdigitados y separados entre sí por una distancia aproximada de 26 nm, (véase Figura 3). Estos representan la unidad morfológica y funcional del músculo. Los filamentos gruesos tienen una longitud aproximada de 1.55 μm y 15 nm de diámetro, y están compuestos primordialmente por una proteína llamada miosina, que al tratarse con tripsina se separa en dos proteínas llamadas meromiosina ligera (LMM) y meromiosina pesada (HMM). Además de otras proteínas unidas a la miosina, como la proteína C (MBP-C), la proteína H (MBP-H), la proteína M y la miomesina (Schiaffino, y Reggiani, 1996) La miosina, es una molécula que funciona como una ATPasa, es decir, hidroliza enzimáticamente al ATP para formar ADP y pirofosfato (Pi), esta reacción es activada por el Ca^{2+} , y es inhibida por el magnesio. Estructuralmente, la miosina es una molécula con forma de bastoncillo, con la cola (formada principalmente por meromiosina ligera) orientada al centro del filamento y una cabeza globular flexible (formada principalmente por meromiosina pesada; MHC) que se proyecta fuera de ésta. La cabeza tiene actividad ATPásica, y conforma la base molecular del puente cruzado. En la cabeza de la miosina se encuentran dos pares de cadenas livianas (MLC). Uno de estos pares se encuentra constituido por las llamadas cadena livianas esenciales (MLC 17) y el otro par, está formado por las cadenas livianas regulatorias (MLC 20), cuya fosforilación modula la cinética de los puentes cruzados.

Los filamentos delgados tienen 1 μm de longitud y de 5 a 6 nm de diámetro, estos filamentos se originan en las líneas Z (Aidley, 1978) y se extienden longitudinalmente (hacia el centro de la sarcómera) a lo largo de la banda I, hasta penetrar en la banda A, donde se intercalan con los filamentos

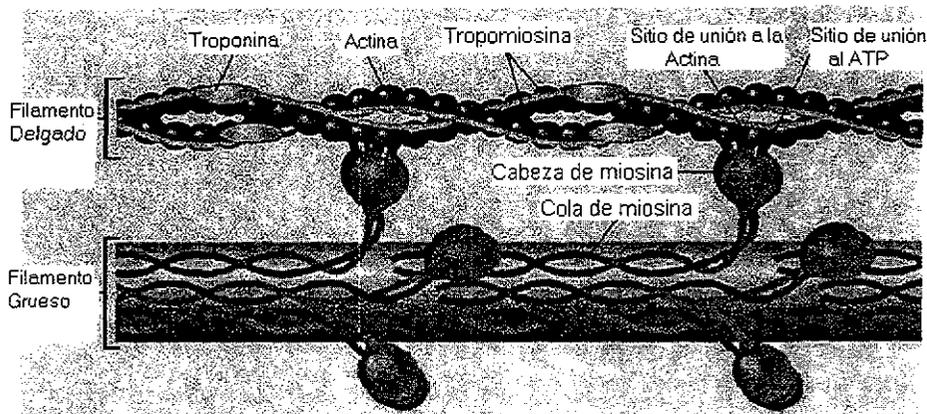


Figura 3: Interacción de los elementos moleculares de los filamentos gruesos y delgados.

Tomado de [http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul Paolini/ppp/lecture18sid027.htm](http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul%20Paolini/ppp/lecture18sid027.htm)

gruesos Los filamentos delgados, están compuestos fundamentalmente por una proteína llamada F-actina (formada a partir de moléculas globulares de actina llamadas G-actina (Pette y Staron, 1990) la cual tiene forma de hélice, además de otras proteínas fundamentales en la regulación de la contracción muscular, como la troponina y la tropomiosina. Las moléculas de F-actina se ordenan en el filamento fino en forma de cadenas enrolladas entre sí en forma helicoidal. La F-actina posee 2 propiedades fundamentales, la capacidad de interactuar con la miosina y la de activar la ATPasa. La troponina está conformada por un complejo de tres subunidades, llamadas troponina T, I y C (Ganong, 1994). La función de la troponina T es unir el complejo troponínico a la tropomiosina. La troponina I se le denomina así porque inhibe junto con la tropomiosina la interacción entre la actina y la miosina, y la troponina C recibe ese nombre por su capacidad para unirse al Ca^{2+} . Las moléculas de tropomiosina, son estructuras largas y delgadas, unidas entre sí, extremo con extremo, formando un filamento que se extiende a lo largo del filamento delgado, este filamento de tropomiosina se encuentra colocado en el hueco que se crea al enrollarse las dos cadenas de actina.

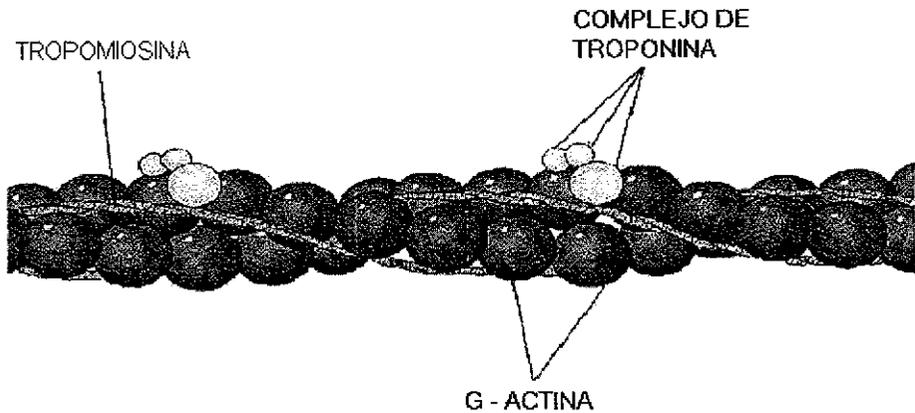


Figura 4: Muestra los principales componentes moleculares del filamento delgado
 tomado de <http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul.Paolini/ppp/lecture18std027.htm>

Además de las proteínas contráctiles y regulatorias mencionadas, se describen otras proteínas asociadas a las sarcómeras, tales como la titina (ocasionalmente llamada conectina) y la nebulina, que forman filamentos de titina y filamentos de nebulina. Los filamentos de titina, están estrechamente asociados con los filamentos gruesos, y se extienden dentro de la banda I, insertándose en los discos Z. Las moléculas de titina, sitúan a los filamentos de miosina en el centro de la sarcómera y los anclan a la banda Z y probablemente las propiedades elásticas de la titina puedan explicar en parte la relación longitud - tensión de reposo del músculo esquelético. Los filamentos de nebulina, se encuentran estrechamente asociados con los filamentos delgados y se extienden desde su inserción en la línea Z hasta el extremo libre del filamento delgado, determinando probablemente la longitud del filamento fino (Mattiazzi, 2000).

Se ha sugerido que las isoformas de troponina y de tropomiosina probablemente estén implicadas en las diferencias de sensibilidad al Ca^{2+} que presentan las proteínas contráctiles, en tanto que las isoformas de la titina podrían

determinar parte de las propiedades elásticas de las fibras en reposo (Schiaffino y Reggiani, 1996).

Como se ha visto la ultra estructura y la composición molecular de las sarcómeras implica un alto grado de variabilidad molecular debido a la existencia de varias isoformas en los componentes miofibrilares. La forma de expresión de las isoformas mencionadas durante el desarrollo de un organismo probablemente sea la determinante más importante de las diferencias que se presentan en las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos.

Actualmente se sabe que los músculos de los mamíferos presentan al menos nueve isoformas diferentes de las cadenas pesadas de miosina (MHC) (véase Tabla 1). También se conoce que la expresión de las diversas isoformas de MHC se encuentran asociadas a etapas específicas del desarrollo del organismo. Por ejemplo, las isoformas MHC- β (lenta), MHC-2A, MHC-2X y la MHC-2B son predominantes en los músculos esqueléticos de mamíferos adultos. Mientras que las isoformas embrionaria (MHC-emb) y neonatal (MHC – neo) son las predominantes en el músculo esquelético de animales durante su desarrollo temprano (Brozanski et al ,1991).

Existen numerosas evidencias que hacen suponer que la diversidad existente entre las isoformas de las cadenas pesadas de la miosina, pudiera ser la principal determinante de las diferencias de la actividad ATPasa y de la velocidad de contracción que presentan las células musculares (considerando que a mayor actividad ATPásica, mayor velocidad máxima de acortamiento). Además, también se ha determinado que las isoformas de las cadenas livianas esenciales de la miosina, también pudieran desempeñar un papel importante en la actividad ATPásica de la miosina y en la velocidad de acortamiento en el músculo estriado (Mattiuzzi,2000).

Isoformas de las cadenas pesadas de miosina

MHC - β /lenta
MHC - α
MHC - 2A
MHC- 2X
MHC - 2B
MHC - emb (embrionaria)
MHC - neo (neonatal)
MHC - eo (extraocular)
MHC - neo (neonatal)

Tabla 1: Principales isoformas de las MHC identificadas en los mamíferos Pette y Staron,1990; Schiaffino, y Reggiani,1996.

El papel del calcio en la contracción muscular:

En todos los tejidos musculares el proceso contráctil es iniciado cuando un potencial de acción es transmitido a todas las miofibrillas a través del sistema T disparando la liberación de Ca^{2+} , lo que incrementa la concentración de Ca^{2+} libre en el sarcoplasma de la célula hasta alcanzar aproximadamente 10^{-7} M a 10^{-5} M, concentración a la cual se inicia el proceso contractil (Perry y Dhoot, 1980) Se ha demostrado que la actividad del retículo sarcoplásmico (RS) ejerce una influencia definitiva sobre la contracción y relajación de un músculo esto es, de presentarse cambios en la liberación del ión calcio y/o cambios en la actividad de los canales de calcio en el RS se presentarán efectos significativos en las propiedades contráctiles del músculo esquelético (Danieli-Betto et al., 1995).

El modelo clásico empleado para explicar la regulación de la contracción muscular nos dice que el papel del calcio es el de liberar un bloqueo o inhibición preexistente, lo cual ocurre de la siguiente manera. Cuando el músculo está en reposo, el complejo troponina-tropomiosina cubre físicamente el sitio activo de la actina, bloqueando la interacción entre la actina y la miosina Cuando, la concentración intracelular del Ca^{2+} aumenta, el calcio se une a la troponina C. Esta unión produce un cambio conformacional en el complejo troponina-tropomiosina que determina el corrimiento de la tropomiosina. Este corrimiento libera el bloqueo del sitio activo y permite la interacción de la miosina

y la actina, lo cual es posible gracias a que parte del calcio unido a la subunidad C de la troponina induce cambios conformacionales en la carga de la molécula de actina, de modo que quedan expuestos siete sitios receptores por cada molécula de troponina unida a un ión calcio (Ganong, 1994) en los que se fijan las cabezas de miosina, formando así los puentes cruzados o transversos (Franzini-Armstrong, 1970; Kandel, 1997, Huerta et al., 1986). Posteriormente cuando la concentración citoplásmica del calcio disminuye el músculo retorna a su estado de relajación. Por otro lado, se ha demostrado que otra de las funciones del calcio es aumentar la velocidad con la que se forman los puentes cruzados durante la contracción (Mattiuzzi, 2000).

Existen evidencias que indican que las propiedades de liberación de iones calcio del músculo extensor digitorum longus (rápido, EDL) se asemejan a las del músculo soleo (lento) cuando aumenta la edad, lo que sugiere que este fenómeno puede contribuir al incremento del tiempo de contracción en el EDL observado durante el envejecimiento (Danieli-Betto et al., 1995). Asimismo, se han reportado alteraciones en la proporción del tipo de fibras rápidas tipo 2A con el envejecimiento que conduce a un perfil mayor de fibras lentas en los músculos de las ratas con una disminución en el número de fibras tipo 2B y un incremento de las cadenas de miosina tipo 2X (Danieli-Betto et al., 1995).

Modelo mecánico del músculo esquelético:

A pesar de la gran diversidad de formas y tamaños de los músculos esqueléticos, estos presentan un patrón estructural semejante. De acuerdo con el modelo visco-elástico de Hill (1938) se sabe que el músculo esquelético está formado por dos componentes mecánicos conectados en serie. El primero un componente contráctil, conformado por las propias fibras del músculo (representado por las proteínas del músculo) y el segundo, un elemento elástico constituido por los tendones y el tejido conjuntivo que rodea a las fibras musculares. Las propiedades del componente elástico son al parecer similares en los músculos rápidos y lentos (Close, 1964). El componente elástico puede a su

vez subdividirse en dos tipos, el componente elástico en serie y el componente elástico en paralelo (véase Figura 5). De acuerdo a este modelo físico, para que los músculos puedan ejercer tensión sobre una articulación es imprescindible que los elementos contráctiles ejerzan en primera instancia, una tensión equivalente a la fuerza necesaria para vencer la resistencia impuesta por el elemento elástico (tensión pasiva) y después ejercer tensión sobre la articulación (tensión activa). Por lo anterior, la manifestación de la tensión durante una sacudida simple depende en gran medida de las características de los dos tipos de elementos, esto es, mientras mayor sea el elemento elástico, mayor tensión tendría que desarrollar el elemento contráctil (Aidley, 1978).

El elemento contráctil. Es el elemento que produce fuerza o tensión durante el periodo de actividad muscular pero durante el reposo es libremente extensible y por lo tanto no ofrece ninguna resistencia al estiramiento, estructuralmente está constituido por las proteínas contráctiles que conforman los llamados filamentos finos y gruesos.

El elemento elástico en serie. Una parte de esta serie elástica es externa al músculo (aproximadamente la mitad) y reside principalmente en los tendones. Mientras que el resto está ubicado en las células musculares mismas, probablemente en los elementos productores de fuerza, los puentes cruzados o transversos (Mattiuzzi, 2000; Guyton y Hall, 1998).

Elemento elástico en paralelo. El elemento elástico en paralelo recibe esta denominación porque, como su nombre lo indica, está dispuesto en forma paralela al elemento contráctil y al elemento elástico en serie, se encuentra compuesto principalmente por la envoltura de tejido conectivo del músculo, pero además es probable que otros componentes de la célula muscular (tales como el hipotético filamento S) también estén involucrados (Aidley, 1978).

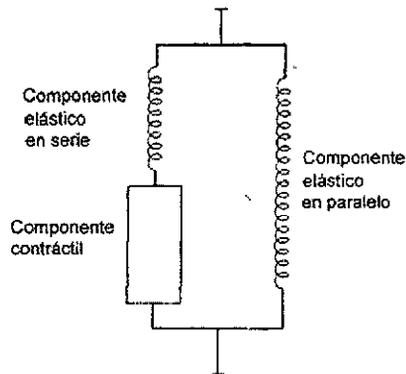


Figura 5: Modelo mostrando la disposición del elemento contráctil y el elemento elástico (Aidley, 1978.)

Clasificación y características de las fibras musculares:

Los músculos esqueléticos en los mamíferos están compuestos de mezclas de diferentes tipos de fibras musculares (Goldspink, 1999). Tal vez por esta razón, la clasificación de los músculos estriados, ha sido históricamente problemática (Brooke y Kaiser, 1970), como lo demuestra la existencia de varias clasificaciones. Por ejemplo, mientras que las clasificaciones más antiguas solo dividieron a los músculos estriados por su coloración como oscuros y pálidos, otras más recientes han dividido a las fibras musculares por sus propiedades enzimáticas y/o histoquímicas, en fibras tipo I y fibras tipo 2A y 2B (Brooke, y Kaiser, 1970; Sjogaard et al., 1978; Floeter, 1999). También han sido clasificadas por sus características contráctiles como: a) fibras oxidativas glucolíticas rápidas (FOG) también llamadas de contracción rápida pero resistentes a la fatiga, b) rápidas glucolíticas (FG) o rápidas fatigables y c) fibras oxidativas lentas (SO) o de contracción lenta, poco fatigables, las cuales solo desarrollan de 1 a 10 % de la fuerza que pueden desarrollar las fibras rápidas glucolíticas (Philippi, y Sillau, 1994).

Las fibras oxidativas lentas (tipo I) contienen un gran número de mitocondrias, y se requiere poco ATP para su mantenimiento, presentan tiempos de contracción prolongados y generan poca fuerza durante una sacudida simple. Sin embargo, la fuerza desarrollada por estas fibras no decae al ser estimuladas con trenes prolongados de estímulos, esto es, son "resistentes a la fatiga" (Close, 1964; Burke et al., 1974; Goldspink, 1978; Squire, 1981). Por lo anterior, podría decirse que las fibras musculares lentas se encuentran adaptadas para mantener fuerza isométrica muy económicamente o bien llevar a cabo contracciones isotónicas repetitivas en forma muy eficiente.

Las fibras musculares rápidas glucolíticas son reclutadas cuando se requiere producir movimientos rápidos, que requieren mayor fuerza o cuando la fuerza producida por las fibras lentas es insuficiente durante una contracción isométrica, debido a que éstas presentan un tiempo de contracción relativamente breve (lo cual se ha asociado con altas concentraciones intracelulares de miosina-ATPasa y de fosforilasas) y su metabolismo es glucolítico. La fuerza generada durante la contracción de las fibras rápidas es hasta 100 veces mayor que la producida por las fibras lentas, pero cuando se estimulan con trenes de pulsos, se fatigan con mayor rapidez.

El grupo de fibras rápidas, resistentes a la fatiga, presentan características contráctiles intermedias entre las fibras lentas y rápidas, pero la duración de su sacudida es ligeramente mayor que la de las fibras rápidas fatigables. Estas fibras presentan una resistencia a la fatiga que se asemeja a la de las fibras lentas. Durante la estimulación repetitiva, las fibras rápidas resistentes a la fatiga desarrollan más fuerza que las fibras rápidas y que las fibras lentas (Burke et al., 1974).

Dentro de los diferentes subtipos de fibras rápidas están incluidas las fibras 2A las cuales son razonablemente rápidas y están adaptadas para producir gran cantidad de fuerza, y las fibras rápidas 2X no oxidativas que se fatigan rápidamente, estas últimas y las fibras 2A son los tipos de fibras rápidas de los músculos del hombre. Mientras que otro tipo de fibras muy rápidas son las 2B las

cuales son el principal tipo de los músculos rápidos en los mamíferos pequeños (Goldspink, 1999).

Entre las clasificaciones más utilizadas se encuentra la propuesta por Goldspink, (1980) en la que, en función de las características contráctiles y diferencias metabólicas de las fibras, distingue dos tipos básicos de fibras musculares, que a continuación se describen. Las fibras lentas o tónicas que responden con sacudidas lentas y sostenidas, y las fibras de sacudida rápida o fásicas llamadas así porque responden a estímulos nerviosos únicos con una sacudida rápida. Estos dos tipos de fibras, están presentes en todos los músculos, pero la proporción de ellas varía dependiendo de la función del músculo, así como del estadio de desarrollo, del estado patológico, etc. (Huerta et al., 1986)

Las fibras tónicas (lentas) Son características de los músculos posturales en los mamíferos y otros animales, presentan inervación multi-terminal y usualmente no muestran una propagación de potenciales de acción, cuando son estimuladas con un solo estímulo. En general poseen un metabolismo oxidativo, por lo que contienen un gran número de mitocondrias y altos niveles de enzimas oxidativas y además son capaces de mantener tensión isométrica de manera prolongada (Aidley, 1978) ya que tienen una muy baja actividad específica de la miosina ATPasa (m -ATPasa) Además las fibras lentas contienen una gran cantidad de mioglobina que les da su característico color rojo oscuro, típico de las fibras lentas.

Fibras fásicas lentas. Son fibras cuya contracción es menos lenta que las de las tónicas. A diferencia de estas últimas, las fibras fásicas muestran propagación del potencial de acción, que provoca la sacudida muscular. Por lo cual se les llama fibras lentas de sacudida, estas fibras generalmente son las encargadas de mantener la postura y de la realización de movimientos repetitivos lentos, y usualmente contienen muchas mitocondrias y se fatigan lentamente. Las

fibras de sacudida lenta, también llamadas oxidativas, se caracterizan por presentar un tiempo de contracción prolongado y generar poca fuerza durante la sacudida simple. Sin embargo, la fuerza que pueden desarrollar estas fibras no decae al ser estimuladas con trenes prolongados de estímulos, esto es "son resistentes a la fatiga". La resistencia a la fatiga ha sido asociada a la presencia de un número considerable de mitocondrias y a una baja tasa en la utilización de ATP (Close, 1964, Goldspink, 1978; Squire, 1981).

Fibras fásicas rápidas glucolíticas: Este tipo de fibras poseen una alta velocidad de acortamiento, y por lo tanto mayor actividad específica de la ATPasa de la miosina. Estas fibras usualmente participan en la ejecución de movimientos rápidos, tienen pocas mitocondrias y altos niveles de glucógeno y de enzimas glucolíticas (Kandel, 1997.)

Fibras fásicas rápidas oxidativas: Estas fibras son similares a las anteriores pero contienen un mayor número de mitocondrias, por lo que están aparentemente más adaptadas para realizar movimientos rápidos de naturaleza repetitiva y son utilizadas después de la sacudida de las fibras de sacudida lenta. Debido a que contienen una mayor cantidad de mitocondrias, se fatigan más lentamente y se recuperan más rápido después del ejercicio (Goldspink, 1980).

PRINCIPALES DIFERENCIAS ESTRUCTURALES ENTRE FIBRAS RÁPIDAS Y LENTAS

FIBRAS RÁPIDAS	FIBRAS LENTAS
Miofibrillas con diámetro similar y separadas regularmente unas de otras	Miofibrillas con diámetros distintos, separadas en forma irregular
Reticulo sarcoplásmico relativamente abundante	Reticulo sarcoplásmico menos abundante
Sistema T con distribución regular y aprox. El 80 % de los túbulos transversales en contacto con el R/S	Sistema T en forma de red aplanada, sinuosa de forma compleja, con orientación longitudinal. Con solo el 30 % o menos de los túbulos transversales en contacto con el R/S
Línea Z de forma relativamente recta	Línea Z en forma de zigzag o dentada
Usualmente mono-inervadas por una unidad terminal motora larga y gruesa terminada en forma de placa	Usualmente multi-inervada, con terminales nerviosas cortas, delgadas y ramificadas que frecuentemente terminan en finas varicosidades con apariencia de racimo de uvas
Abundantes invaginaciones sarcolémicas visibles en la placa	Menor desarrollo de invaginaciones sarcolémicas o ausencia de ellas
Tienden a ser grandes y poco vascularizadas, con contenido bajo de mitocondrias	En general son de menor tamaño, altamente vascularizadas y con un contenido alto de mitocondrias
Grandes cantidades de glucógeno, y poca cantidad de mioglobina que les da un color rojo pálido	Gran cantidad de mioglobina, que les da un color rojo oscuro

Floeter, 1999., Huerta, et al. 1986., Kandel, 1997.



Es importante destacar que en los músculos de la rata adulta las fibras del tipo II generan una fuerza específica 1.5 veces mayor que las fibras del tipo I (Prakash et al., 1993). Incluso, se ha establecido en el músculo diafragmático de la rata la existencia de un cuarto tipo de fibras (II C), aunque la proporción de tales fibras es menor del 5%, por lo cual se piensa que las fibras IIC, contienen una mezcla de miosina rápida y lenta y se considera que sean solo una transición entre los tipos rápido y lento (Harrison et al., 1996; Sjogaard et al., 1978)

Propiedades mecánicas del músculo estriado:

El músculo esquelético sufre cambios profundos en la composición de sus sistemas contráctiles, regulatorios y de producción de energía durante el crecimiento, particularmente justo antes del nacimiento y durante la vida postnatal temprana (Goldspink y Ward, 1979). En este sentido se ha observado que los perfiles, ultraestructural y metabólico, de las fibras del músculo esquelético cambian durante el desarrollo. Por ejemplo, la densidad de mitocondrias y el sistema de túbulos transversos decrece entre la décima y quincuagésima semana después del nacimiento y la actividad de las enzimas glucolíticas y oxidativas también puede cambiar durante el crecimiento bajo la influencia de factores neurológicos, hormonales o medioambientales (Takekura et al. 1994). Por otro lado, se ha considerado que las propiedades contráctiles de un músculo dado están relacionadas en forma primaria con la actividad de la miosina ATPasa, sobre todo en el caso de las fibras de contracción rápida. Aunque esta afirmación no parece ser tan cierta para todas las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos, como por ejemplo en el tiempo de contracción o el tiempo al pico de una sacudida isométrica, ya que también otros elementos adicionales en las fibras musculares (la presencia de uno u otro tipo específico de isoformas de troponina) podría influir en las propiedades contráctiles, además de otros factores como el nivel de bombeo y secuestro de iones calcio, la actividad de la ATPasa-Ca²⁺ y

cambios en la composición del retículo sarcoplásmico pueden correlacionarse con alteraciones de las propiedades contráctiles (Pette y Staron, 1990).

Los músculos en general pueden contraerse de dos maneras 1) **contracción isométrica**: En este tipo de contracción, el músculo no cambia de longitud pero desarrolla una gran cantidad de fuerza (por ejemplo al sostener un objeto pesado, ver Figura 6 A). 2) **Contracción isotónica**: En este tipo de contracción el músculo cambia de longitud pero no desarrolla gran fuerza (por ejemplo al mover la articulación de un brazo, ver Figura 6 B) Por ello, la contracción isométrica es característica de músculos encargados de mantener la posición corporal constante, mientras que la contracción isotónica es típica de los músculos cuya función es desplazar articulaciones (Aidley, 1978)

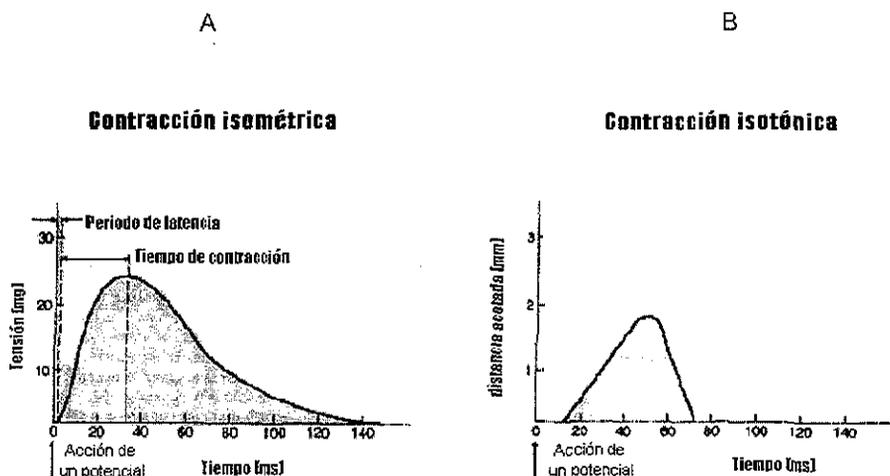


Figura 6: Muestra las características generales de los registros de los dos tipos de contracción que es capaz de realizar el músculo esquelético
<http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul.Paolini/ppp/lecture18slid027.htm>

La respuesta del músculo a un estímulo eléctrico único, se llama sacudida simple. Como se ve en la Figura 6 el registro de una sacudida simple de tipo isométrico muestra una fase de contracción inicial (incremento de la tensión), seguida de una fase de relajación (caída de la tensión), tras la cual se restablece la tensión basal (Keynes y Aidley, 1985). En algunos mamíferos, los músculos de las extremidades son uniformemente lentos al momento del nacimiento, pero

estos músculos se diferencian durante el desarrollo hasta que en el estadio adulto se encuentran ya diferenciados en músculos rápidos y lentos, estas dos clases de músculos, han sido clasificados en base a las diferencias en los tiempos de contracción y relajación de la respuesta isométrica. Por ejemplo, en los animales adultos los músculos lentos desarrollan sacudidas con tiempos de contracción y tiempos medios de relajación que son dos o tres veces mayores que los de los músculos rápidos. Se ha sugerido (Close, 1964) que tales diferencias en la forma de la sacudida isométrica, no se deben a diferencias en las propiedades del componente mecánico pasivo tales como la serie de elementos elásticos, lo cual podría sugerir, que los procesos de diferenciación seguramente incluyen cambios tanto en el estado activo de Hill (véase más adelante), como en la fuerza desarrollada por los elementos contráctiles (Close, 1964)

La respuesta mecánica a la estimulación repetitiva se caracteriza por la suma de las sacudidas simples, es decir, la aplicación de estímulos repetidos puede causar la fusión de la respuesta mecánica ya que en esa condición la relajación es incompleta. Este fenómeno recibe el nombre de sumación tetánica o tétano (véase Figura 7). Dicho en otras palabras, si se estimula el músculo durante la fase de relajación de una respuesta contráctil, antes de que alcance la tensión basal, el músculo responde desarrollando tensión nuevamente de modo que se produce otra respuesta antes de concluir la anterior, fusionándose las respuestas. Mientras más alta sea la frecuencia de estimulación mayor será la tensión desarrollada por el músculo y menor el tiempo de separación entre las contracciones, produciendo en un registro de respuesta mecánica una curva hiperbólica continua que indica la fuerza máxima que un músculo puede ejercer (Aidley, 1978).

La fatiga muscular se ha definido como la imposibilidad de un músculo para mantener un tétano, o como una falla para mantener la fuerza en contracciones repetidas (Lee, 1994). Asimismo, el índice de fatigabilidad de un músculo es un índice de la disminución en la cantidad de energía disponible para la contracción (Russell et al., 1984). Los músculos de sacudida tónica, a diferencia de los de sacudida fásica, presentan un índice de fatigabilidad menor

debido a su mayor eficiencia energética lo que probablemente está relacionado con una menor actividad específica de la miosina ATPasa (Aidley, 1978)

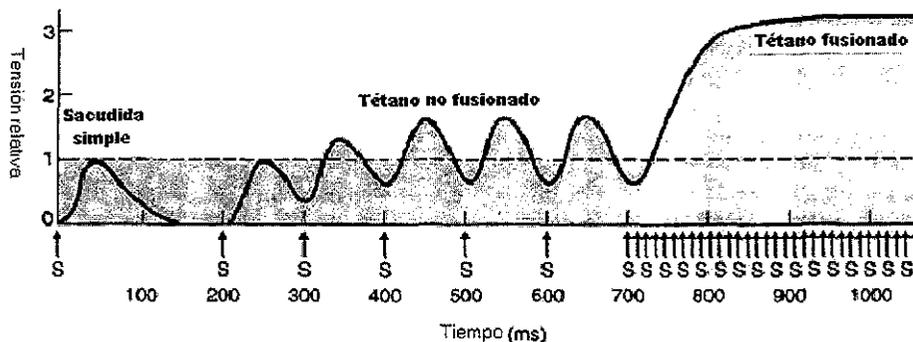


Figura 7: Mostrando el esquema de una sumación tetánica y un tétano.

tomado de http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul_Paolini/ppp/lecture18std027.htm

La capacidad del componente contráctil de desarrollar fuerza o acortarse a diferentes tiempos después de un estímulo se conoce como estado activo, de acuerdo con el modelo de Hill, (1938), la diferencia de tensión desarrollada entre una sacudida simple y un tétano resulta del estiramiento del elemento elástico en serie durante la fase de aumento de la fuerza. De modo que, a medida que aumenta la fuerza del elemento elástico, disminuye la velocidad de acortamiento del elemento contráctil, así cuando el elemento elástico en serie está totalmente estirado, la transmisión de la fuerza desarrollada por el elemento contráctil es instantánea. Otros autores también han propuesto que el estado activo pudiera reflejar indirectamente la concentración de calcio del retículo sarcoplásmico o que los cambios de concentración reflejasen los cambios del estado activo (Segura, 1993).

Teoría del deslizamiento de los filamentos:

Para explicar el desarrollo de tensión que genera un músculo durante la contracción, Huxley y Niedergerke propusieron en 1954, que el acortamiento de las fibras musculares resulta del movimiento de los filamentos finos sobre los filamentos gruesos, hacia el centro de la sarcómera, por lo cual el músculo se acorta sin que la longitud de los filamentos individuales se modifique, esta propuesta se conoce como la teoría del deslizamiento de los filamentos, (véase Figura 8) (Schutt y Lindberg, 1993 , Huxley, 1974).

La teoría del deslizamiento de los filamentos propone que durante el proceso de la contracción muscular los puentes cruzados que sobresalen transversalmente de los filamentos gruesos (formados por la cabeza de miosina) se unen al filamento fino a través de un sitio activo localizado en la actina, en una posición de 90 grados, y cuando el músculo desarrolla tensión, estos puentes giran su eje a una posición de 45 grados, de modo que desarrollan tracción sobre el filamento fino, el cual se desliza sobre el filamento grueso hacia la zona media de la sarcómera. Esta teoría predice que las fuerzas contráctiles pueden ser linealmente proporcionales al número de puentes transversos (Kandel, 1997; Huerta et al., 1986) Posteriormente, el puente cruzado se separa del filamento fino para volver a unirse a otro punto del filamento. Los puentes cruzados de las mitades opuestas giran en dirección contraria y de esta manera, acercan a cada mitad de la sarcómera hacia el centro (véase figura 9). Un ciclo único de unión – rotación – desunión, produce un movimiento relativo, de los dos filamentos de aproximadamente 100 Å. Si todos los puentes cruzados de un músculo cumplieran un solo ciclo, el músculo se acortaría aproximadamente 1 % de su longitud, los puentes cruzados cumplen en realidad varios ciclos durante la contracción lo que explica que el músculo pueda acortarse más del 50 % de su longitud en reposo (Mattiuzzi, 2000)

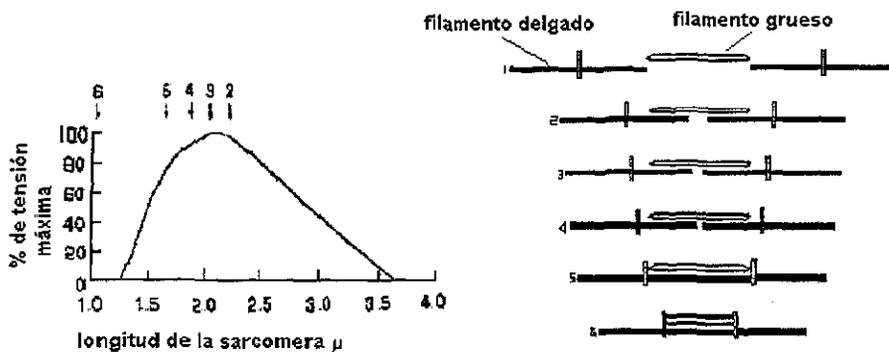


Figura 8: Muestra la relación tensión longitud de una fibra aislada de músculo semitendinoso de rana. Los números del 1 al 6 de la curva de tensión longitud corresponde con los números del esquema de filamentos delgados y gruesos Tomado de <http://www.uic.edu/classes/phyb/phyb516/index.htm>

Cuando una molécula de ATP se une a un sitio particular de la cabeza de miosina, inhibe la unión de la cabeza de miosina a la actina, hasta que la miosina por su actividad ATPásica desdobla el ATP. Sin embargo, los productos del desdoblamiento del ATP ($ADP + P_i$) no se disocian inmediatamente por lo que se forma un complejo intermedio miosina- $ADP-P_i$ y la subsecuente disociación del ADP y el P_i de la miosina ocurre muy lentamente. La afinidad de la miosina por el ATP es muy grande, por lo que en condiciones de reposo cada puente cruzado tiene unida una molécula de ATP o los productos del desdoblamiento del ATP (miosina- $ADP-P_i$). El tercer paso, en esta secuencia es la unión del complejo miosina- $ADP-P_i$, con la actina que da lugar a la formación del denominado complejo activo (Actina-Miosina- $ADP-P_i$). La unión de la miosina y la actina constituye una unión débil en la que no hay producción de fuerza, la interacción de la actina con la miosina, activa a la ATPasa de la miosina, promoviendo así la liberación del fosfato de alta energía del ATP, la liberación del P_i determina una unión fuerte de la miosina a la actina que se acompaña de un cambio en la posición del puente cruzado, provocando el deslizamiento del filamento fino sobre el grueso

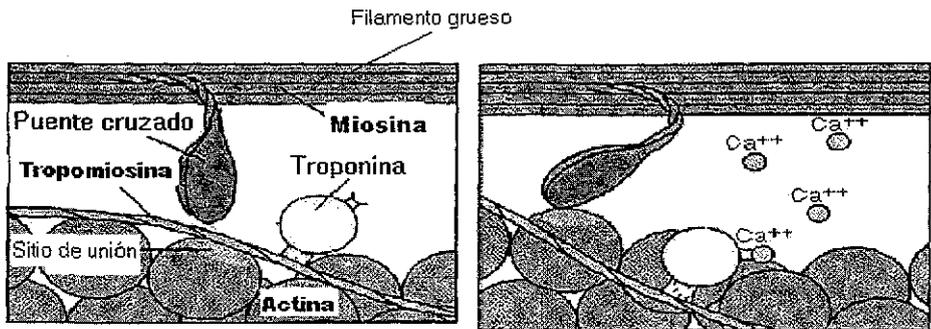


Figura 9 Muestra el movimiento de los puentes cruzados, que provoca el deslizamiento de los filamentos delgados hacia el centro de la sarcómera. Tomado de <http://www.sci.sdsu.edu/faculty/paul/Paolini/ppp/lecture18slid027.htm>

Desarrollo ontogénico del músculo esquelético:

La mayoría de los músculos esqueléticos de los mamíferos se derivan de células del mesodermo paraxial, a excepción de algunos músculos de la cabeza, los cuales se forman a partir de células del mesodermo precordial (Buckingham, 1994). Durante las primeras etapas del desarrollo embrionario de los mamíferos se establecen en cada una de las somitas, dos linajes de células miogénicas que darán origen en etapas posteriores a un grupo de células mononucleadas llamadas mioblastos.

A partir de un linaje de células que se establece en la región dorsomedial de las somitas, se originarán los músculos paraxiales y a partir de otro linaje de células, establecidas en la región ventromedial de las somitas, se producirán olas sucesivas de migración celular, dirigida hacia algunos sitios específicos del embrión, en donde se diferenciarán y originarán en etapas posteriores del desarrollo, los primordios musculares de los miembros pélvicos y torácicos (Ordhal y Le-Duarin, 1992). De manera general, cuando una línea de mioblastos se fusiona forma una fibra muscular en la que muchos mioblastos pueden permanecer latentes, los mioblastos en ese estado son llamados células satélite

(Winick y Noble, 1966). Estas células son muy importantes en el desarrollo y mantenimiento de la fibra muscular ya que mientras algunas células satélite en etapa de proliferación se fusionan y se asocian con la fibra muscular y contribuyen a incrementar el número de núcleos de la fibra, algunas otras células satélite permanecen como células miogénicas pluripotenciales, localizadas entre la membrana basal y la membrana celular de la fibra manteniendo su capacidad de proliferación y fusión para eventualmente formar nuevas fibras musculares, cuando ello fuese requerido (Schiaffino y Reaggiani, 1996)

A partir de algunas evidencias experimentales se ha establecido que los músculos estriados de los mamíferos presentan un desarrollo bifásico (Wilson et al., 1988). Durante la primera fase del desarrollo cuando los mioblastos se encuentran ya establecidos en sus sitios de diferenciación, éstos entran en una etapa de proliferación para luego fusionarse en un sincisio multinucleado que da origen a células alargadas y multinucleadas que reciben el nombre de miotubos primarios (fibras musculares inmaduras), los cuales forman inicialmente el esqueleto celular. Posteriormente, la parte medial de los miotubos primarios recién formados da origen a otras estructuras tubulares llamadas miotubos secundarios, (que proporcionan el volumen principal del músculo) los cuales crecen en forma longitudinal y rodean los miotubos que les dieron origen hasta alcanzar y eventualmente conectarse con los tendones de los músculos (Wilson et al., 1988)

También cabe mencionar, que los miotubos primarios (mioblastos) de la primera generación son los que definen la forma, origen e inserciones de los músculos y que estos tienden en general a formar fibras musculares lentas. Mientras que los mioblastos de migraciones subsecuentes en general tienden a formar fibras musculares rápidas (Vanswearingen y Lance-Jones, 1995). Diversos autores han mostrado que el número de fibras de los músculos de los mamíferos ya no se incrementa después de que la diferenciación embriológica de los tejidos ha terminado. También se ha observado que aunado al aumento de diámetro que sufren las fibras musculares durante el crecimiento postnatal, también se produce un incremento en la longitud de las fibras, el cual se encuentra asociado a un

incremento en el número de sarcómeras de las miofibrillas (por ejemplo, se ha reportado que en el músculo soleo, el número de sarcómeras localizadas en las miofibrillas puede incrementarse durante el desarrollo de 700 a 2200 unidades). Algunos autores, sugieren que las nuevas sarcómeras se adicionan en las miofibrillas a lo largo de algunos puntos de su longitud, mientras que otros afirman que el incremento en longitud de la fibra se produce por la adición seriada de sarcómeras en la parte final de las miofibrillas preexistentes (Goldspink 1980; Stickland et al , 1975).

El desarrollo ontogénico normal de un músculo puede ser afectado por varios factores, por ejemplo se ha reportado que el número de miotubos secundarios en los músculos rápidos puede ser reducido significativamente por la desnutrición (Wilson et al , 1988) aunque también se sabe que el desarrollo de los músculos puede ser afectado durante su diferenciación por otras variables como la parálisis, la desnervación (Redenbach y Bressler, 1988; Harris et al , 1989), o por alteraciones hormonales tales como el hipotiroidismo (Wilson et al,1988). Contrariamente a lo que ocurre con los miotubos secundarios, los efectos producidos por la desnutrición sobre el número de miotubos primarios al parecer no son significativos, por lo cual los músculos lentos constituidos principalmente por fibras lentas tipo I derivadas de los miotubos primarios no resultan afectados de forma significativa por la desnutrición. En cambio los músculos rápidos de los adultos constituidos predominantemente por fibras del tipo II que se originan tanto de miotubos primarios como de secundarios, resultan afectados en forma irreversible por la desnutrición (Prakash et al ,1993)

El desarrollo del músculo esquelético se caracteriza por la diferenciación embriológica y neonatal de generaciones sucesivas de fibras musculares. Esta diferenciación está representada por diferentes patrones de expresión de las isoformas de las cadenas pesadas de miosina que al parecer determinan en forma muy importante las características fisiológicas y bioquímicas de los músculos esqueléticos. Por ejemplo, el patrón de fibras musculares de los músculos de las extremidades pélvicas de la rata durante el estadio embrionario, fetal y perinatal temprano, está representado por fibras lentas que presentan un

patrón de isoformas de las cadenas pesadas de miosina del tipo MHC-emb β /lenta y MHC- β /lenta-neo (véase Figura 10), mientras que durante la tercera y cuarta semana de vida postnatal se ha determinado que ocurre la diferenciación de estas isoformas embrionarias y neonatales a las isoformas β /lenta típica de la primera generación. De igual manera las fibras de la segunda generación derivadas de las forma embrionaria o embriogénica neonatal pueden diferenciarse hasta las formas MHC- β /lenta, 2A, 2X y 2B. Inclusive las isoformas ya diferenciadas son capaces de reconvertirse entre ellas mismas durante etapas postnatales como resultado de diversos factores tales como modificaciones hormonales, nutricionales, desnervación, intensidad del ejercicio físico, etc (De Nardi et al., 1993, Schiaffino y Reggiani, 1996).

La forma de expresión de las isoformas de las MHC, mencionadas anteriormente, ha permitido proponer que las propiedades contráctiles de algunos músculos pueden cambiar durante el desarrollo postnatal, desde músculos típicamente lentos a músculos rápidos. De esa misma manera ocurre con algunos músculos de las extremidades posteriores de las ratas los que en el estadio perinatal de desarrollo, presentan características predominantemente de músculo lentos y posteriormente entre las primeras tres o cuatro semanas de vida se diferencian en músculos típicamente rápidos. Este fenómeno puede ser modificado por algunos de los factores que se mencionan previamente.

Hay evidencias inmunohistoquímicas que indican que la expresión de las cadenas pesadas de miosina (MHC) en los músculos lentos y rápidos, ocurre de forma secuencial durante el desarrollo de los músculos en los mamíferos. Esta expresión secuencial parece ocurrir en las fibras musculares lentas y rápidas de la rata de acuerdo a la secuencia mostrada en la Figura 10.

En la actualidad, se conoce que el crecimiento del músculo esquelético ocurre mediante dos procesos acoplados entre sí, el primero resulta de un incremento en el número de células preexistentes, llamado hiperplasia muscular. El segundo, por un aumento del tamaño de las células, producto de la hiperplasia, que recibe el nombre de hipertrofia muscular. El primer fenómeno, la hiperplasia

se produce en el estadio de células precursoras mononucleadas (mioblastos) mientras que la hipertrofia se produce más tarde durante el estadio de célula multinucleada (Brameld et al., 1998). Asimismo, también debe considerarse que las fibras musculares pueden incrementar su número cuando alcanzan un cierto volumen y tamaño crítico y comienzan a dividirse en forma longitudinal, ocasionando una subdivisión de la masa miofibrilar que permite que sean añadidas nuevas sarcómeras a lo largo de las miofibrillas, las fibras musculares y el músculo (Goldspink, 1977).

Desde el punto de vista mecánico, se ha encontrado que durante el desarrollo ontogénico, se producen cambios en la actividad contráctil del músculo esquelético. Close, (1964 y Close y Hoh, 1972) ha reportado que durante el desarrollo posnatal temprano de la rata todos los músculos de las extremidades pélvicas presentan tiempos de contracción similares, pero que éstos se modifican en las primeras cuatro semanas de vida postnatal en el momento en que se produce la diferenciación de los músculos a sus formas rápidas o lentas (de tipo adulto). También se ha reportado que en los animales adultos los músculos lentos pueden desarrollar sacudidas que presentan tiempos de contracción y de relajación 2 ó 3 veces mayores que los de músculos rápidos (Close, 1964). Al parecer la velocidad de contracción de un músculo completo refleja en forma indirecta el número y la proporción relativa del tipo de fibras que contiene. Estas fibras pueden ser, fibras de sacudida rápida o fibras de sacudida lenta. El EDL tiene una mayor proporción de fibras del tipo II y por lo tanto se contrae y relaja rápidamente, mientras que el sóleo es lento para contraerse y relajarse debido a que tiene una mayor proporción de fibras tipo I (Wareham et al , 1982).

ANTECEDENTES

Existe una gran variedad de músculos en los vertebrados, la cual se deriva de su localización corporal, de la función que desempeñan y de la composición de los distintos elementos musculares que los conforman. Tal heterogeneidad (ningún músculo es similar a otro, ya sea en forma o función) plantea un reto para la comprensión de las propiedades funcionales de los músculos. Por lo anterior, la investigación sobre la expresión fenotípica y la fisiología de las fibras del músculo esquelético, durante los diversos estadios del desarrollo de los organismos y bajo distintas condiciones de normalidad o patológicas, adquiere una gran importancia (Pette y Staron, 1990).

A pesar de que actualmente se cuenta con un considerable cúmulo de evidencias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y conductuales sobre los posibles efectos que genera la desnutrición en distintos órganos y tejidos corporales (Morgane et al 1992, 1993), paradójicamente y a pesar de que el tejido muscular sea uno de los mayormente afectados (Brozanski et al., 1993; Harrison et al , 1996, Desai et al., 1996, Smart y Bedi, 1982), existen muy pocas evidencias experimentales que establezcan las alteraciones que genera una deficiencia alimenticia, en cantidad y/o calidad, sobre las propiedades funcionales de los músculos esqueléticos (Wareham et al., 1982; Bissonnette y Jeejeebhoy, 1998; Prezant et al , 1994; Krishnamurthy et al., 1992). En este sentido, cabría resaltar que en la mayoría de los estudios que se han orientado para el análisis de los efectos de la desnutrición o la malnutrición sobre los músculos esqueléticos, se emplean animales adultos (Wareham et al., 1982; Prakash et al., 1993). En la mayoría de tales estudios se ha determinado que los músculos presentan una notoria pérdida de peso y volumen, así como alteraciones en la respuesta contráctil (incremento en la duración de la contracción y resistencia a la fatiga; véase: Prezant et al , 1994), mientras que en unos muy pocos estudios se utilizan animales en distintas etapas de desarrollo postnatal (véase: Segura, 1993). También es importante destacar que la mayoría de los estudios realizados sobre o bien muchos de estos estudios han sido abordados desde el punto de vista

histológico o bioquímico (Ward y Stickland, 1993; Bissonette y Jeejeebhoy, 1998; Rowe y Goldspink, 1969; Ihemelandu, 1985)) y prácticamente no existen en la literatura estudios de índole fisiológico o funcional orientados al análisis de los efectos que ejerce la desnutrición sobre las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos (véase: Segura, 1993)

En un estudio previo realizado en nuestro laboratorio (Segura, 1993), se observó en ratas de cuatro edades diferentes (21, 23, 25 y 27 días de edad) sometidas a desnutrición neonatal (mediante hacinamiento de 14 crías por camada), que la respuesta mecánica provocada por estímulos únicos o trenes de pulsos aplicados directamente al músculo gastrocnemio-soleo (GS, músculo mixto), mostraban incrementos significativos en los tiempos de contracción y de relajación y una reducción en la frecuencia de fusión de la respuesta mecánica, con respecto a los músculos GS de animales control (8 crías por camada). Asimismo, se observó que la fuerza por gramo de tejido húmedo desarrollada por el músculo GS durante la sacudida tetánica, era mayor en los animales desnutridos que en los control. De los resultados obtenidos se consideró que los músculos GS de animales desnutridos presentaban una mayor proporción de fibras de sacudida lenta que el de las ratas control y que la mayor respuesta, provocada durante el tétano, podría deberse a cambios en el metabolismo energético muscular. Esto último fue corroborado en el mismo estudio (Segura, 1993) al observar un incremento significativo en la actividad de la enzima creatina-cinasa, la cual forma parte importante del metabolismo anaeróbico para la producción de ATP (Walliman et al., 1992). Sin embargo, debido a que el músculo GS en el animal adulto está conformado por una mezcla de fibras de sacudida lenta y de sacudida rápida, en ese estudio no fue posible determinar el tipo de fibra muscular que fue mayormente afectada por la alimentación deficiente. Por ello, en el presente proyecto consideramos analizar las posibles alteraciones que produce la desnutrición perinatal sobre las propiedades contráctiles de músculos que en el adulto poseen predominancia de fibras

rápidas, como es el caso del músculo EDL y de músculos con predominancia de fibras lentas, como el músculo soleo.

Características generales de los músculos empleados:

Músculo extensor largo de los dedos (EDL)

El músculo extensor digitorum longus o extensor largo de los dedos (EDL), es un músculo pinado, fusiforme, frecuentemente utilizado en experimentación como representativo de un músculo de sacudida rápida (Wareham, et al 1982., Rosenblueth et al.,1978). Las fibras musculares del EDL se originan de un tendón unido al epicóndilo lateral en la parte distal del fémur. En el tobillo, las fibras musculares del EDL se dividen en 4 grupos y cada grupo se une a un tendón separado. Cada tendón pasa a través del ligamento anular y calcáneo, y posteriormente se insertan sobre la falange distal de los cuatro orjeos de la pata (2°, 3°, 4° y 5° orjejo). Este músculo recibe su principal aporte sanguíneo a partir de la arteria tibial anterior (Balice-Gordon y Thompson.,1988).

El nervio del EDL, en la rata, es una rama del nervio peroneal común, este nervio (del EDL) se bifurca en dos ramas. La rama K, la cual inerva las fibras de la mitad anteromedial del músculo. Mientras que la rama F inerva las fibras localizadas en la región postero-lateral (Balice-Gordon,1988). Los axones eferentes del nervio EDL provienen de motoneuronas localizadas en los segmentos L4, L5 y S1 de la medula espinal.

Músculo soleo

Es un músculo característico de sacudida lenta, de tipo antigravitatorio cuya función es básicamente postural y de flexión plantar (Westerga y Gramsbergen, 1994). Se encuentra formado predominantemente por fibras del tipo I (Syroví y Gutmann, 1977, Howells y Jordan,1978) y tiene su origen en la línea soleal superior de la tibia para insertarse posteriormente en el calcáneo, a través de la porción medial del tendón calcáneo, su función principal es la flexión

plantar. Su aporte sanguíneo proviene principalmente de algunas ramas de la arteria poplitea y de ramas de la arteria peroneal posterior además de algunas ramas de la arteria tibial. Su inervación se realiza principalmente a través del nervio tibial y por nervios de las raíces sacras S1 y S2 de la médula espinal.

En la rata recién nacida las fibras de los músculos de las extremidades posteriores presentan características contráctiles semejantes a las fibras de sacudida lenta, presentes en el animal adulto (Close, 1964, Pette y Vrbova, 1985), y la diferenciación muscular se lleva a cabo en las primeras tres o cuatro semanas de vida postnatal (Navarrete y Vrbova, 1993; Pette y Vrbova, 1985). Diversos investigadores han mostrado que durante la diferenciación muscular ocurren cambios de gran importancia a nivel inmunohistoquímico (Kelly y Zaks, 1969; Rubinstein y Kelly, 1981; Botinelli et al., 1991), energético (Eppenberger et al., 1964, Hall y DeLuca, 1975; Morris et al., 1976) y mecánico (Close y Rhot, 1972).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Se sabe que la desnutrición ejerce múltiples efectos sobre diversos órganos y tejidos de los seres vivos pero paradójicamente, a pesar de que el tejido muscular esquelético es uno de los tejidos más afectados por esta patología, existen en la actualidad pocas evidencias experimentales, y falta de consenso sobre las alteraciones que genera una deficiencia alimenticia en cantidad y/o calidad, sobre las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos. También cabe resaltar que la mayoría de los estudios realizados han sido abordados desde el punto de vista histológico, bioquímico y/o conductual y se han llevado a cabo en animales adultos por lo que prácticamente no existen evidencias experimentales que describan el efecto de la alimentación perinatal deficiente sobre las distintas etapas del desarrollo muscular. Por lo cual, resulta imprescindible incrementar la investigación sobre la fisiología de las fibras del músculo esquelético, durante los diversos estadios del desarrollo y bajo distintas condiciones de normalidad o patológicas para determinar con mayor claridad los efectos que produce la desnutrición sobre las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos y así contar en un futuro con el conocimiento suficiente

plantar. Su aporte sanguíneo proviene principalmente de algunas ramas de la arteria poplitea y de ramas de la arteria peroneal posterior además de algunas ramas de la arteria tibial. Su inervación se realiza principalmente a través del nervio tibial y por nervios de las raíces sacras S1 y S2 de la médula espinal.

En la rata recién nacida las fibras de los músculos de las extremidades posteriores presentan características contráctiles semejantes a las fibras de sacudida lenta, presentes en el animal adulto (Close, 1964, Pette y Vrbova, 1985), y la diferenciación muscular se lleva a cabo en las primeras tres o cuatro semanas de vida postnatal (Navarrete y Vrbova, 1993; Pette y Vrbova, 1985). Diversos investigadores han mostrado que durante la diferenciación muscular ocurren cambios de gran importancia a nivel inmunohistoquímico (Kelly y Zaks, 1969; Rubinstein y Kelly, 1981, Botinelli et al., 1991), energético (Eppenberger et al., 1964, Hall y DeLuca, 1975; Morris et al., 1976) y mecánico (Close y Rhot, 1972)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Se sabe que la desnutrición ejerce múltiples efectos sobre diversos órganos y tejidos de los seres vivos pero paradójicamente, a pesar de que el tejido muscular esquelético es uno de los tejidos más afectados por esta patología, existen en la actualidad pocas evidencias experimentales, y falta de consenso sobre las alteraciones que genera una deficiencia alimenticia en cantidad y/o calidad, sobre las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos. También cabe resaltar que la mayoría de los estudios realizados han sido abordados desde el punto de vista histológico, bioquímico y/o conductual y se han llevado a cabo en animales adultos por lo que prácticamente no existen evidencias experimentales que describan el efecto de la alimentación perinatal deficiente sobre las distintas etapas del desarrollo muscular. Por lo cual, resulta imprescindible incrementar la investigación sobre la fisiología de las fibras del músculo esquelético, durante los diversos estadios del desarrollo y bajo distintas condiciones de normalidad o patológicas para determinar con mayor claridad los efectos que produce la desnutrición sobre las propiedades contráctiles de los músculos esqueléticos y así contar en un futuro con el conocimiento suficiente

para establecer procedimientos apropiados para reducir o abatir las alteraciones producidas por este problema de salud pública que hoy en día sufren más de mil millones de personas en el mundo.

HIPÓTESIS:

Es conocido que la diferenciación de los músculos esqueléticos de la rata ocurre en las primeras cuatro semanas de vida y que el correcto desarrollo de este proceso determina en forma importante las propiedades funcionales del músculo esquelético en el estadio adulto, también se sabe que la desnutrición perinatal, disminuye la masa corporal y probablemente afecte las propiedades contráctiles del músculo esquelético. Por lo cual se espera que la desnutrición perinatal provoque en los músculos esqueléticos con predominancia de fibras rápidas o lentas de las ratas: 1) Una disminución de la masa muscular, 2) Una disminución de la capacidad de los músculos para generar tensión, y 3) Disminuya la capacidad de los músculos para responder a los estímulos sucesivos (por ejemplo: durante la sacudida tetánica) lo podría resultar en un incremento de la fatiga muscular.

OBJETIVO GENERAL:

El presente estudio pretende caracterizar las posibles alteraciones que produzca una ingesta perinatal insuficiente de alimento (desnutrición) sobre la mecánica contráctil de músculos esqueléticos lentos y rápidos durante distintos estadios del desarrollo postnatal de la rata.

METAS:

- Determinar las alteraciones que produce una alimentación deficiente en cantidad (durante la gestación, la lactancia y el post-destete) sobre el desarrollo postnatal

para establecer procedimientos apropiados para reducir o abatir las alteraciones producidas por este problema de salud pública que hoy en día sufren más de mil millones de personas en el mundo.

HIPÓTESIS:

Es conocido que la diferenciación de los músculos esqueléticos de la rata ocurre en las primeras cuatro semanas de vida y que el correcto desarrollo de este proceso determina en forma importante las propiedades funcionales del músculo esquelético en el estadio adulto, también se sabe que la desnutrición perinatal, disminuye la masa corporal y probablemente afecte las propiedades contráctiles del músculo esquelético. Por lo cual se espera que la desnutrición perinatal provoque en los músculos esqueléticos con predominancia de fibras rápidas o lentas de las ratas: 1) Una disminución de la masa muscular, 2) Una disminución de la capacidad de los músculos para generar tensión, y 3) Disminuya la capacidad de los músculos para responder a los estímulos sucesivos (por ejemplo: durante la sacudida tetánica) lo podría resultar en un incremento de la fatiga muscular.

OBJETIVO GENERAL:

El presente estudio pretende caracterizar las posibles alteraciones que produzca una ingesta perinatal insuficiente de alimento (desnutrición) sobre la mecánica contráctil de músculos esqueléticos lentos y rápidos durante distintos estadios del desarrollo postnatal de la rata.

METAS:

- Determinar las alteraciones que produce una alimentación deficiente en cantidad (durante la gestación, la lactancia y el post-destete) sobre el desarrollo postnatal

para establecer procedimientos apropiados para reducir o abatir las alteraciones producidas por este problema de salud pública que hoy en día sufren más de mil millones de personas en el mundo.

HIPÓTESIS:

Es conocido que la diferenciación de los músculos esqueléticos de la rata ocurre en las primeras cuatro semanas de vida y que el correcto desarrollo de este proceso determina en forma importante las propiedades funcionales del músculo esquelético en el estadio adulto, también se sabe que la desnutrición perinatal, disminuye la masa corporal y probablemente afecte las propiedades contráctiles del músculo esquelético. Por lo cual se espera que la desnutrición perinatal provoque en los músculos esqueléticos con predominancia de fibras rápidas o lentas de las ratas: 1) Una disminución de la masa muscular, 2) Una disminución de la capacidad de los músculos para generar tensión, y 3) Disminuya la capacidad de los músculos para responder a los estímulos sucesivos (por ejemplo: durante la sacudida tetánica) lo podría resultar en un incremento de la fatiga muscular.

OBJETIVO GENERAL:

El presente estudio pretende caracterizar las posibles alteraciones que produzca una ingesta perinatal insuficiente de alimento (desnutrición) sobre la mecánica contráctil de músculos esqueléticos lentos y rápidos durante distintos estadios del desarrollo postnatal de la rata.

METAS:

- Determinar las alteraciones que produce una alimentación deficiente en cantidad (durante la gestación, la lactancia y el post-destete) sobre el desarrollo postnatal

para establecer procedimientos apropiados para reducir o abatir las alteraciones producidas por este problema de salud pública que hoy en día sufren más de mil millones de personas en el mundo.

HIPÓTESIS:

Es conocido que la diferenciación de los músculos esqueléticos de la rata ocurre en las primeras cuatro semanas de vida y que el correcto desarrollo de este proceso determina en forma importante las propiedades funcionales del músculo esquelético en el estadio adulto, también se sabe que la desnutrición perinatal, disminuye la masa corporal y probablemente afecte las propiedades contráctiles del músculo esquelético. Por lo cual se espera que la desnutrición perinatal provoque en los músculos esqueléticos con predominancia de fibras rápidas o lentas de las ratas: 1) Una disminución de la masa muscular, 2) Una disminución de la capacidad de los músculos para generar tensión, y 3) Disminuya la capacidad de los músculos para responder a los estímulos sucesivos (por ejemplo: durante la sacudida tetánica) lo podría resultar en un incremento de la fatiga muscular.

OBJETIVO GENERAL:

El presente estudio pretende caracterizar las posibles alteraciones que produzca una ingesta perinatal insuficiente de alimento (desnutrición) sobre la mecánica contráctil de músculos esqueléticos lentos y rápidos durante distintos estadios del desarrollo postnatal de la rata.

METAS:

- Determinar las alteraciones que produce una alimentación deficiente en cantidad (durante la gestación, la lactancia y el post-destete) sobre el desarrollo postnatal

de las propiedades contráctiles de los músculos soleo (lento) y Extensor digitorum longus (rápido) de la rata

- Establecer los posibles cambios que induzca la desnutrición perinatal en los procesos de diferenciación muscular que ocurren durante el desarrollo postnatal de la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Para caracterizar las posibles alteraciones que produce la desnutrición en los músculos esqueléticos estudiados, se pretenden alcanzar los siguiente objetivos particulares

- 1) Determinar las posibles alteraciones que induce la desnutrición perinatal en el peso corporal y en el peso de los músculos EDL y sóleo de ratas con distintas edades postnatales (15, 25, 35, 60 y 90 días de vida postnatal).
- 2) Establecer las posibles alteraciones que produce una alimentación perinatal deficiente en cantidad sobre la tensión desarrollada por gramo de tejido durante la contracción isométrica simple
- 3) Determinar los efectos de una dieta insuficiente en cantidad (desnutrición) sobre el curso temporal de la sacudida simple (tiempo al pico y tiempo de relajación) de los músculos EDL y soleo de ratas con distintas edades postnatales.
- 4) Determinar las posibles modificaciones que provoca la desnutrición perinatal sobre la respuesta tetánica (tensión desarrollada y frecuencia de fusión) de los músculos EDL y soleo, en ratas con distintas edades postnatales.
- 5) Establecer, los efectos de la desnutrición perinatal en el índice de fatigabilidad (porcentaje de disminución en la tensión muscular tetánica a los 10 seg. de estimulación) de los músculos EDL y soleo de ratas controles y desnutridas de las edades mencionadas.

de las propiedades contráctiles de los músculos soleo (lento) y Extensor digitorum longus (rápido) de la rata

- Establecer los posibles cambios que induzca la desnutrición perinatal en los procesos de diferenciación muscular que ocurren durante el desarrollo postnatal de la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Para caracterizar las posibles alteraciones que produce la desnutrición en los músculos esqueléticos estudiados, se pretenden alcanzar los siguiente objetivos particulares

- 1) Determinar las posibles alteraciones que induce la desnutrición perinatal en el peso corporal y en el peso de los músculos EDL y sóleo de ratas con distintas edades postnatales (15, 25, 35, 60 y 90 días de vida postnatal).
- 2) Establecer las posibles alteraciones que produce una alimentación perinatal deficiente en cantidad sobre la tensión desarrollada por gramo de tejido durante la contracción isométrica simple
- 3) Determinar los efectos de una dieta insuficiente en cantidad (desnutrición) sobre el curso temporal de la sacudida simple (tiempo al pico y tiempo de relajación) de los músculos EDL y soleo de ratas con distintas edades postnatales.
- 4) Determinar las posibles modificaciones que provoca la desnutrición perinatal sobre la respuesta tetánica (tensión desarrollada y frecuencia de fusión) de los músculos EDL y soleo, en ratas con distintas edades postnatales.
- 5) Establecer, los efectos de la desnutrición perinatal en el índice de fatigabilidad (porcentaje de disminución en la tensión muscular tetánica a los 10 seg. de estimulación) de los músculos EDL y soleo de ratas controles y desnutridas de las edades mencionadas.

METODOLOGÍA:

Para alcanzar los objetivos previamente planteados, la fase experimental que comprende el presente estudio se realizó en las instalaciones del laboratorio 11 del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, del CINVESTAV, IPN a cargo del Dr. Ismael Jiménez Estrada.

Método de desnutrición perinatal:

Los experimentos fueron realizados en ratas macho de la variedad Wistar (del bioterio general del CINVESTAV) sometidas a distintas condiciones de alimentación perinatal. Para ello un lote de hembras (de entre 250 y 300 gramos) fue dividido al azar en dos grupos.

- a) **Grupo de animales control.** Las ratas madre y las crías de este grupo tuvieron libre acceso al agua y al alimento (Formulab 5008, Lab diet) durante toda la fase experimental.
- b) **Grupo de animales desnutridos.** Desde 3 semanas antes del apareamiento y durante los periodos de gestación y lactancia, las ratas madre de este grupo fueron alimentadas con el 50 % de la cantidad de alimento que en promedio ingerían las ratas hembra control (Bedi, 1994) a partir del destete (día 21 de vida), las crías fueron alimentadas con el mismo régimen alimenticio que recibieron las ratas madre.

Todos los animales tuvieron libre acceso al agua y en el día del parto (día cero postnatal) se ajustó a nueve el número de crías por camada. A partir del nacimiento, cada ocho días se determinó el peso corporal de cada una de las crías hasta el día en que se realizó el experimento agudo (registro de la actividad contráctil del músculo)

Mecánica contráctil:

Procedimientos generales.

El registro de la actividad contráctil de los músculos EDL y sóleo de crías control y desnutridas se efectuó **in vivo** a los días 15, 25, 35, 60 y 90 de vida postnatal, lapso de tiempo que incluye el periodo en que se completa la diferenciación de las fibras musculares (Close, 1964). Los animales fueron anestesiados mediante la aplicación intraperitoneal de uretano SIGMA (1.6 g/kg de peso; Komisaruk et al., 1972) y se expusieron los músculos mediante incisiones longitudinales realizadas en la piel de las extremidades posteriores y se identificaron los músculos EDL y sóleo siguiendo las indicaciones anatómicas de Popesko, et al., (1990), teniendo especial cuidado en mantener intacta la circulación sanguínea del tejido expuesto durante todo el experimento. En su oportunidad, el tendón distal de cada uno de los músculos fue atado con un hilo resistente e indeformable a un miógrafo isométrico (Grass, FT 03B). Para evitar en lo posible la generación de artefactos de índole mecánica durante el registro, tanto la pelvis como la parte distal de la tibia fueron fijadas firmemente a una tabla de disección con alfileres de acero inoxidable. Asimismo, los músculos se mantuvieron en un ambiente húmedo durante las fases experimentales de disección y registro, mediante la aplicación continua de solución salina isotónica preparada en nuestro laboratorio (cloruro de sodio 0.9 %) a una temperatura de 37 ± 1 °C. Al finalizar el experimento los animales fueron sacrificados por dislocación cervical.

Estimulación y registro:

Para provocar la respuesta contráctil de los músculos EDL y sóleo de las ratas control y desnutridas, se utilizaron electrodos de estimulación colocados sobre la superficie de los músculos, a través de los cuales se aplicaron pulsos

eléctricos (de intensidad supramáxima y 0.2 mseg de duración) o trenes de pulsos (de similar intensidad y duración pero con las siguientes frecuencias: 1, 10, 20, 30, 40, 50 y 100 Hz; durante 3 segundos). Con este último procedimiento se determinó la frecuencia de estimulación en la que se fusiona la respuesta mecánica del músculo ("frecuencia de fusión")

La actividad contráctil de los músculos EDL y sóleo fue registrada y almacenada mediante un programa de computadora (en ambiente LabView) elaborado exprofesamente en nuestro laboratorio. La tensión máxima desarrollada por los músculos fue determinada a partir de la interpolación del valor máximo obtenido con respecto a los valores de las curvas de calibración construidas al agregar pesas de masa conocida a la palanca del miografo isométrico utilizado. Adicionalmente, se determinó tanto el tiempo al pico como el tiempo de relajación de la sacudida simple a partir de la tensión máxima obtenida de una sacudida simple o de las respuestas generadas con distintas frecuencias de estimulación, se calculó la tensión desarrollada por gramo de tejido muscular húmedo.

Es bien conocido que para lograr que las sarcómeras de las fibras musculares puedan desarrollar tensión es necesario que los elementos elásticos en serie que lo unen al hueso (tendones), estén parcial o totalmente estirados (Hill, 1938; Huxley y Niedergerke, 1954). Por ello, antes de efectuar el registro de la actividad contráctil de cada músculo se determinó la longitud óptima en la que los músculos desarrollaban la máxima tensión durante la sacudida simple

Los datos obtenidos fueron sometidos a la prueba estadística de student (t) para determinar las posibles diferencias entre tratamientos (Zar, 1974). Debido a que esta prueba se puede utilizar para comprobar si las medias de dos muestras son diferentes, también cuando la distribución de la población es normal, asimismo cuando la variable es continua y cuando el tamaño de las muestras son diferentes.

RESULTADOS

Morfometría:

Durante los primeros 180 días de vida postnatal, las ratas (Wistar) cursan por dos periodos de crecimiento morfométrico diferentes (Iossa, 1999). El primer período ocurre desde el nacimiento hasta los 90 días de vida postnatal, en el que se presenta un incremento importante en el peso y en la talla, así como un almacenamiento acelerado de lípidos y proteínas en los animales. El segundo período acontece de los 90 a los 180 días de edad y se caracteriza por una reducción significativa en el depósito de proteínas y en el almacenamiento de grasa (Iossa, 1999). En virtud de lo anterior, resulta sencillo suponer que una ingesta perinatal deficiente en cantidad (desnutrición) podría alterar considerablemente el peso y la talla de los animales en crecimiento.

Esta aseveración fue analizada en el presente estudio al determinar el peso corporal de las crías controles y desnutridas en distintos días postnatales. En la Figura 12 se indican los valores correspondientes al peso corporal de las ratas con distintas edades postnatales (15, 25, 35, 60 y 90 días). Los resultados obtenidos muestran que los animales control incrementan paulatinamente de peso corporal a medida que van creciendo (véase Tabla 2)

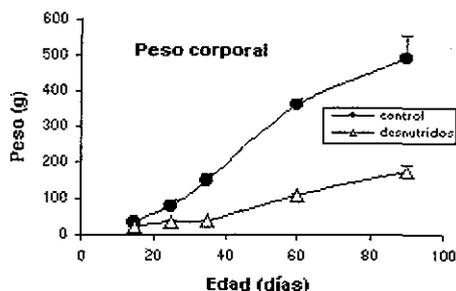


Figura 12: Peso corporal de las ratas controles y desnutridas, a diversas edades postnatales.

PESO CORPORAL

Edad (días)	Peso (gramos)		% de disminución de peso (desnutr)
	Control	desnutridos	
15 días	33.22 ± 0.07	20.19 ± 1.0	39.30 %
25 días	78.37 ± 15.5	33.40 ± 4.1	57.30 %
35 días	147.95 ± 17.9	39.41 ± 3.6	73.40 %
60 días	360.62 ± 18.7	108.08 ± 4.7	70.10 %
90 días	493.00 ± 65.6	175.34 ± 16.9	64.50 %

Tabla 2: Valores promedio del peso corporal obtenido a las diferentes edades en controles y desnutridos, así como el porcentaje de pérdida de peso en los animales desnutridos comparado con los animales control

Nuestros resultados permiten concluir que la dieta deficiente en cantidad empleada en este estudio, resultó ser adecuada para propiciar la desnutrición de las ratas durante su desarrollo postnatal. Además de la disminución significativa del peso corporal, que presentaban las crías desnutridas, pudo apreciarse cualitativamente que estas mostraban una menor talla, pelo reseco y erizado, lo cual podría estar asociado a la carencia de vitaminas (Isselbacher et al , 1998).

La diferencia porcentual del peso de los músculos EDL de animales desnutridos fue mayor a los 25 y 35 días de edad (Tabla 3) mientras que los músculos sóleos presentaron mayores pérdidas porcentuales de peso entre los 35 y 60 días de vida postnatal.

De acuerdo a los resultados expuestos, resulta posible considerar que los músculos EDL (rápido) y soleo (lento) de los animales desnutridos transitaron por tres etapas diferentes de ganancia porcentual de peso. La primera etapa podría estar representada por una menor pérdida de peso corporal, la cual abarcó por lo menos hasta los primeros 15 días de vida postnatal y probablemente estuvo relacionada con una acumulación de reservas energéticas que fuese dependiente de la presencia de la madre. La segunda etapa, representada por una mayor pérdida porcentual de peso, se presentó entre los 25 y 60 días de edad, la cual ocurre poco después de la separación de la cría de la madre ("destete") a los 21 días de vida postnatal

La tercera etapa se presenta hasta los 90 días de edad, en la que ocurre una ligera recuperación del peso de los músculos y que probablemente se encuentra relacionada con una disminución del metabolismo, compatible con el aumento de edad y con una menor tasa de síntesis y degradación de proteínas (miofibrilar y sarcoplásmica).

PESO DE LOS MÚSCULOS EDL

Edad (días)	Peso (g) Control	Peso (g) Desnutridos	% de disminución en desnutridos
15 días	0.011 ± 0.00	0.0053 ± 0.00	51.3
25 días	0.040 ± 0.01	0.011 ± 0.00	72.5
35 días	0.064 ± 0.00	0.013 ± 0.00	79.7
60 días	0.158 ± 0.00	0.048 ± 0.00	69.7
90 días	0.230 ± 0.02	0.083 ± 0.01	64.0

Tabla 3: Valores promedio del peso determinado en los músculos EDL de animales controles y desnutridos, así como el porcentaje de pérdida de peso en los músculos desnutridos con respecto a los controles.

PESO DE LOS MÚSCULOS SÓLEO

Edad (días)	Peso (g) Control	Peso (g) Desnutridos	% de disminución en desnutridos
15 días	0.012 ± 0.00	0.0065 ± 0.00	45.9
25 días	0.027 ± 0.00	0.0120 ± 0.00	55.6
35 días	0.067 ± 0.01	0.0150 ± 0.00	77.7
60 días	0.150 ± 0.01	0.0460 ± 0.00	69.4
90 días	0.152 ± 0.03	0.0710 ± 0.01	53.3

Tabla 4: Promedios del peso del músculo Sóleo control y desnutridos, así como el porcentaje de pérdida de peso en los músculos desnutridos con respecto a los controles.

El comportamiento del peso corporal y de los pesos de los músculos EDL y soleo en los animales desnutridos, es compatible con lo reportado por otros

autores (Desai et al., 1996; Wareham et al., 1982; Stickland et al., 1975, Ward y Stickland, 1991; Wilson et al., 1988.) y sugiere que la dieta hipocalórica utilizada afectó en forma negativa el peso corporal y el peso de los músculos en las ratas durante el desarrollo postnatal debido probablemente al aporte insuficiente de proteínas proporcionadas perinatalmente a los animales

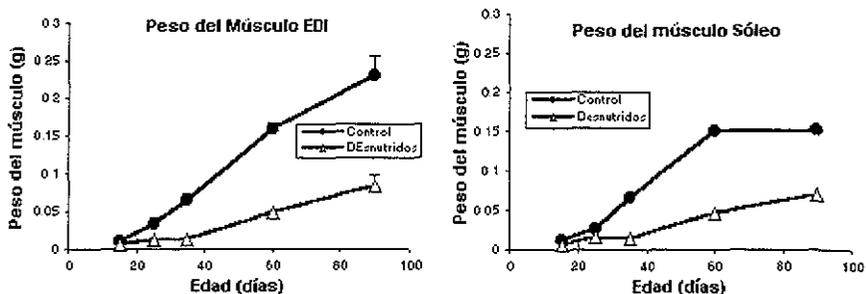


Figura 13: Peso promedio de los músculos EDL y sóleo de ratas desnutridas y controles a los 15, 25, 35, 60 y 90 días de vida postnatal.

Fuerza desarrollada durante la contracción simple.

En la sección previa, se mostró que los músculos EDL y sóleo de animales desnutridos presentan menor peso que los músculos control, por lo tanto sería de esperar que los músculos desnutridos desarrollen menor fuerza durante una contracción que los músculos control. Esta posibilidad fue analizada al determinar la fuerza neta que generan los músculos EDL y sóleo, controles y desnutridos, durante una sacudida simple. Las gráficas A y B de la Figura 14 indican que a medida que crecen los animales control, los músculos EDL y sóleo producen gradualmente mayor fuerza. También en estas gráficas es posible discernir que los EDL, de sacudida rápida, generan mayor fuerza que los músculos sóleos, de sacudida lenta. Esto último podría explicarse si se considera que los músculos rápidos presentan un predominio de fibras de alta eficiencia de fibras de alta

eficiencia contráctil y un metabolismo predominantemente anaeróbico (Goldspink, 1978, 1980; Bissonnette, 1998)

El análisis de la fuerza desarrollada con respecto a la edad muestra que a los 35, 60 y 90 días de edad, los EDL control generan mucho mayor fuerza ($p < 0.05$) que los músculos de animales desnutridos, mientras que a los 15 y 25 días postnatales, la fuerza producida por los músculos control no fue significativamente diferente que la generada por los músculos desnutridos. Estas observaciones podrían explicarse si se considera que la mayor fuerza desarrollada por los músculos desnutridos, se encuentra estrechamente relacionada con una mayor cantidad de masa muscular (medida de manera indirecta a través del peso de los músculos (véase Figura 13A).

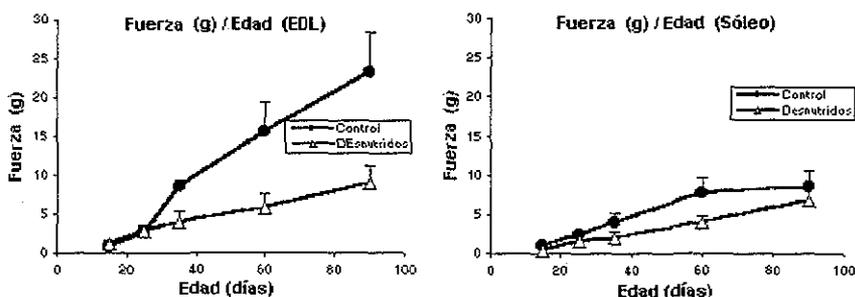


Figura 14: Fuerza neta desarrollada por los músculos completos EDL y soleo control y desnutridos, en las distintas edades estudiadas. Obsérvese la mayor fuerza desarrollada por los músculos rápidos.

El análisis estadístico de la fuerza neta desarrollada con respecto a la edad para los músculos sóleos indica que la fuerza generada fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en los músculos control de 15, 25, 35 y 60 días, que en los músculos sóleos de animales desnutridos, lo cual probablemente podría deberse a las diferencias cuantitativas de masa muscular entre los músculos controles y desnutridos.

Tensión máxima durante la sacudida simple (twitch).

La principal función que desempeña el músculo esquelético es el desarrollar tensión y realizar trabajo (Harrison et al., 1996, Keynes y Aidley, 1985; Daucey y Gilmour, 1996). Como se sabe, la capacidad de realizar tensión y/o trabajo por parte del músculo depende de varios factores, entre los que destacan a) la fuerza intrínseca que es capaz de desarrollar, b) la rapidez con la puede ser activado al comienzo de una contracción y su posterior desactivación (Josephson, 1993), así como del c) tamaño, d) volumen y e) peso. Dado que la fuerza desarrollada por un músculo depende en gran medida del tamaño o peso del mismo, en el presente estudio se determinó la fuerza desarrollada por los músculos con respecto al peso húmedo del mismo músculo. Tal medida fue denominada en el presente estudio como tensión normalizada.

Las respuestas contráctiles de los músculos EDL y soleo provocadas por estímulos eléctricos simples y de intensidad supra-máxima, generadas en las distintas edades postnatales, son ilustradas en el panel A de las Figuras 15 y 16. Como se puede apreciar en ambas figuras, La tensión normalizada que desarrollan los músculos EDL, controles y desnutridos, fue mayor que la tensión desarrollada por los músculos sóleo (Figura 16A y B). Lo cual es explicable debido a que los músculos de contracción rápida poseen una mayor proporción de fibras de alta eficiencia contráctil (IIA, IIX y IIB) que los músculos lentos, quienes presentan proporciones mayores de fibras del tipo I (véase la sección de antecedentes).

Para sorpresa nuestra, al analizar la tensión normalizada generada durante una sacudida simple en los músculos desnutridos con respecto a los músculos controles, observamos que en las edades comprendidas entre los 15 y 35 días postnatales, los músculos EDL desnutridos desarrollaron mayor tensión normalizada que los músculos control (Figura 15). Sin embargo, en las edades de 60 y 90 días postnatales no se observaron diferencias significativas entre las tensiones normalizadas generadas por los músculos EDL, controles y desnutridos (Figura 15 B).

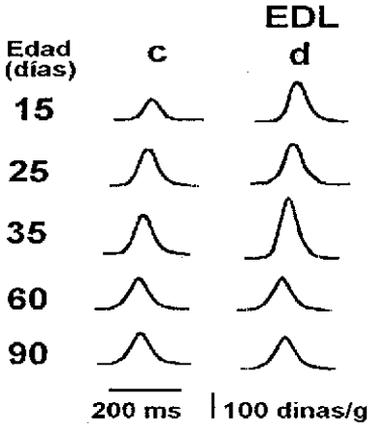
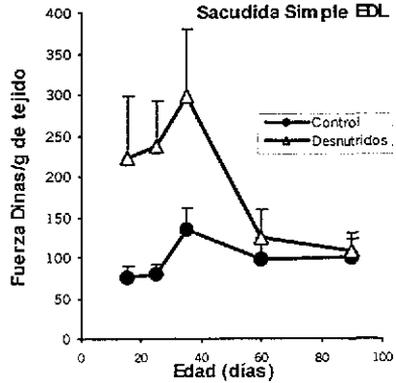
A**B**

Figura 15: (A) Respuestas contráctiles únicas de músculos EDL de animales control (c) y desnutridos (d) provocados en los días indicados; (B) Valores promedio de la tensión normalizada generada por los músculos control y desnutridos en distintas edades postnatales.

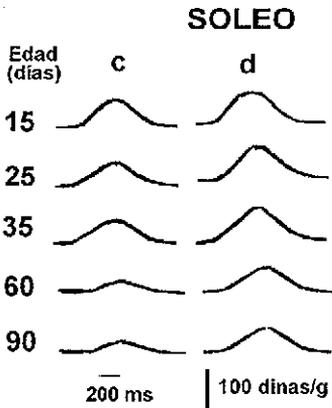
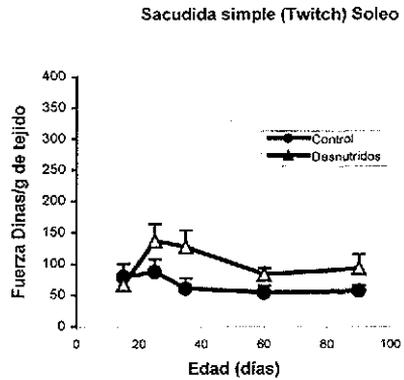
A**B**

Figura 16: (A) Respuestas contráctiles únicas de músculos soleos de animales control (c) y desnutridos (d) provocados en los días señalados. (B) Valores promedio de la tensión normalizada generada por los músculos soleo control y desnutridos en distintas edades postnatales.

Por otro lado, la fuerza normalizada que desarrollan los músculos soleo de los animales desnutridos durante una sacudida simple también fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que la de los músculos control en los días 25, 35, 60 y 90 días de vida postnatal.

Las observaciones presentadas en esta sección permiten sugerir que la desnutrición induce un incremento en la tensión normalizada de los músculos EDL y soleo en etapas tempranas del desarrollo postnatal de la rata. Tales observaciones podrían explicarse de muy variadas maneras, destacando entre ellas la posibilidad de que en los músculos desnutridos se active un mayor número de elementos contráctiles (sarcómeras) que en los músculos control o bien que en los primeros se encuentre incrementada su eficiencia contráctil.

Contracción tetánica.

El incremento observado en la tensión normalizada de los músculos EDL y soleo durante etapas tempranas del desarrollo postnatal de la rata desnutrida, podría estar asociada a un aumento en el número de elementos contráctiles (sarcómeras) activados durante una sacudida simple, ello se puede lograr ya sea por un incremento en el contenido total de elementos contráctiles o bien, por un aumento en el número de sarcómeras disponibles para ser activadas, sin que se vea alterado el contenido total de elementos contráctiles del músculo.

Se acepta que durante la contracción tetánica, la totalidad de los componentes contráctiles del músculo se activa, de tal manera que el músculo desarrolla la máxima tensión que sea capaz de realizar (Keynes y Aidley, 1985). Con base en lo anterior y para determinar si la desnutrición induce un incremento en el contenido de elementos contráctiles de la rata en desarrollo postnatal, en el presente estudio se analizaron las respuestas tetánicas de los músculos EDL y soleo provocadas en crías de la rata sometidas a deficiencias alimenticias perinatales

En el panel A de las Figuras 17 y 18 se muestran registros de las respuestas tetánicas provocadas por trenes de estímulos (100Hz) aplicados a

músculos EDL y soleo de ratas control y desnutridas, en las edades postnatales indicadas. En tales registros se puede observar que entre los 15 y 60 días postnatales, la respuesta tetánica de los músculos EDL desnutridos desarrolla mayor tensión normalizada que los músculos EDL de animales control. Lo mismo ocurre, pero en menor proporción con las respuestas tetánicas de los músculos soleos, entre los 25 y 35 días de vida postnatal (Figura 18A)

El análisis estadístico de los resultados mostró que la fuerza desarrollada por el músculo EDL desnutrido fue significativamente mayor ($p < 0.05$) a los 15, 35 y 60 días de vida con respecto a los músculos EDL control (véase Figura 17B) Mientras que únicamente a los 25 y 35 días postnatales, la fuerza tetánica desarrollada por los músculos soleo de animales desnutridos también fue significativamente mayor ($p < 0.05$).

La evidencia obtenida en este apartado podría sugerir que la desnutrición perinatal provoca un incremento en la cantidad total de elementos contráctiles que participan en la generación de tensión por los músculos EDL y soleo en etapas tempranas del desarrollo postnatal de la rata.

Relación sacudida simple / tétano.

La relación entre la magnitud de la sacudida simple y la respuesta tetánica de un músculo permite determinar la probable proporción de sarcómeras que son activadas durante la contracción simple, con respecto a la totalidad de las mismas, presentes en el músculo. Asimismo, se ha propuesto a la relación sacudida simple / tétano como un índice apropiado de la sensibilidad al calcio (Ca^{2+}) por parte del aparato contráctil de los músculos (Noremborg et al., 1996). Por lo que un incremento en la sensibilidad al calcio por parte de las sarcómeras podría provocar que un músculo desarrolle mayor tensión, pudiendo inclusive superar la fuerza máxima que normalmente se alcanza durante una contracción isométrica simple, a pesar de que sean pequeños los niveles citoplásmicos de calcio

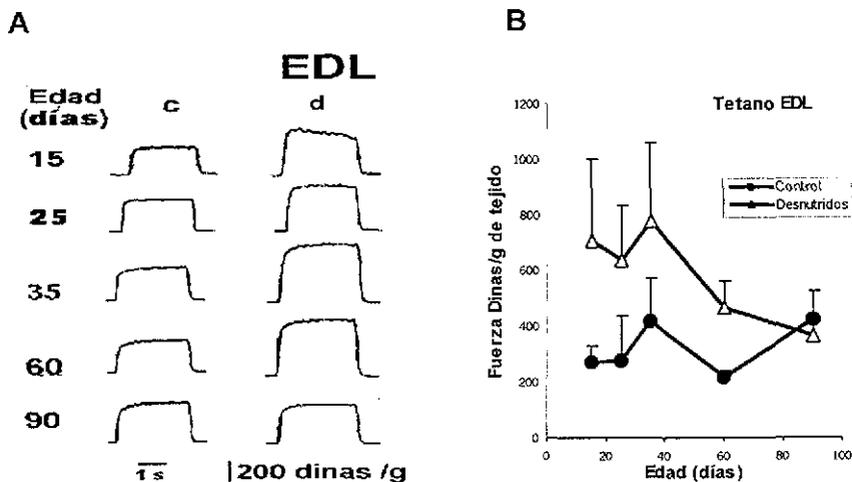


Figura 17: (A) Registros promedio de las respuestas tetánicas producidas en músculos EDL control (c) y desnutridos (d) en las distintas edades postnatales. (B) Tensión normalizada desarrollada por el músculo EDL control y desnutrido durante una contracción tetánica

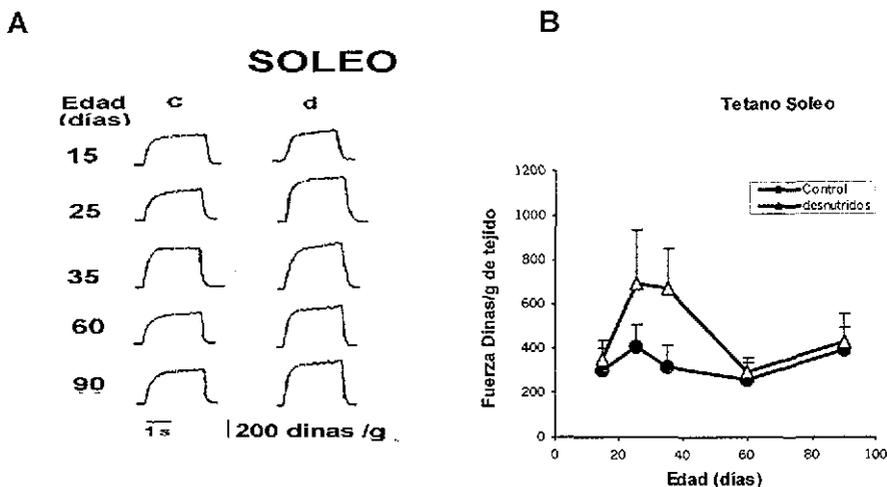
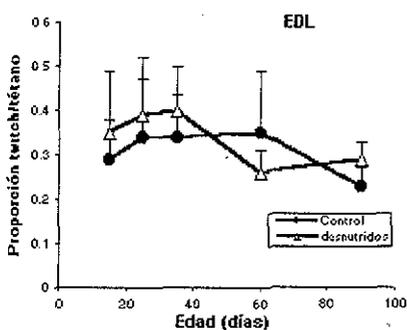


Figura 18: (A) Registros promedio de las respuestas tetánicas producidas en los músculos soleo control (c) y desnutridos (d) en distintas edades postnatales. (B) Tensión normalizada que desarrolla el músculo EDL control y desnutrido en una contracción tetánica durante el desarrollo postnatal de la rata.

Por otra parte, también se ha considerado que cambios en la proporción sacudida simple / tétano podrían indicar cambios en la función del retículo sarcoplásmico, los cuales permitirían liberar grandes cantidades de calcio durante una sacudida simple y de ese modo desarrollar mayor tensión (Noremborg et al., 1996). Con base en lo anterior, se determinaron los valores de la relación sacudida simple / tétano de los músculos controles y desnutridos

En la Figura 19 se grafican los valores obtenidos de la relación sacudida simple / tétano correspondientes a los músculos EDL y sóleo, controles y desnutridos, de animales con distintas edades postnatales. Como puede inferirse en estas gráficas, la proporción de sarcómeros que se activan durante una sacudida simple en los músculos (EDL) (rápidos), controles y desnutridos, es mayor que la de los músculos sóleos (lentos). Lo anterior va de acuerdo con la probable presencia de diferencias estructurales (asociadas posiblemente a la proporción relativa de los distintos tipos de fibras rápidas) y/o a procesos metabólicos diferentes en las dos clases de músculos (Bissonnette et al., 1997)

A



B

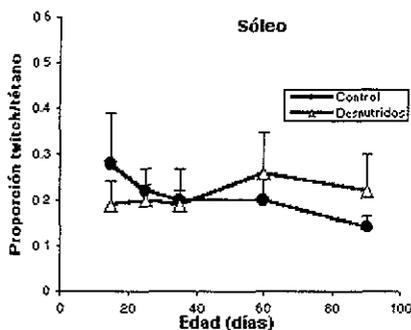


Figura 19 Relaciones sacudida simple / tétano determinadas en músculos EDL (A) y sóleo (B) de animales controles y desnutridos con diferentes edades postnatales

Además, las gráficas de la Figura 19 muestran que la proporción sacudida simple/ tétano de los músculos EDL y sóleo de los animales desnutridos no

presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto a los valores obtenidos en los mismos músculos pero de animales control.

El hecho de que no se observen diferencias significativas entre las relaciones sacudida simple / tétano de los músculos desnutridos con respecto a las de los músculos control, permite sugerir que el incremento en la tensión normalizada durante la sacudida simple se presenta en forma concomitante, y en paralelo con incrementos de la tensión tetánica de los músculos, particularmente entre los días 15 y 35 de su vida postnatal. Lo anterior conlleva a suponer que la desnutrición induce un aumento en la cantidad total de elementos contráctiles presentes en los músculos EDL y soleo de la rata (sin embargo, véase la discusión), y excluye la posibilidad de que tales incrementos fuesen debidos a una mayor eficiencia contráctil de los músculos.

Curso temporal de la sacudida simple.

Los tiempos que un músculo requiere para alcanzar el pico de tensión en una sacudida simple (**tiempo de contracción**) y para regresar a su estado basal (**tiempo de relajación**) son índices de la duración del acoplamiento entre la excitación y la contracción muscular. La duración de la contracción está íntimamente relacionada con las características del tipo de fibra muscular predominante y con el tipo de metabolismo que posea el músculo. Ahora bien, si se incrementa la duración del acople excitación-contracción, los músculos por lo general desarrollan mayor tensión (Davson, 1970). Esto último se explica porque la tensión desarrollada por un músculo depende en gran medida de la cantidad de iones calcio presentes en el espacio intracelular (Noremberg, et al. 1996, Danieli - Betto et al., 1995; Perry y Dhoot, 1980). Esto es, un incremento en la salida de Ca^{2+} ($\uparrow \text{Ica}$) del retículo sarcoplásmico (RS), probablemente por un alargamiento del potencial de acción muscular, conduciría a un aumento en la formación de los puentes de actina y miosina y en consecuencia a un mayor desarrollo de tensión muscular, el cual ocurriría en paralelo a un alargamiento del inicio de la respuesta contráctil (tiempo al pico), mientras que una reducción en la re-captura del ión

Ca²⁺ por el RS, asociada a una probable disminución de la actividad de la bomba metabólica de Ca²⁺ en el RS. (Evert, 1996; Matiazzi, 2000; Franzini-Armstrong, 1970, Kandel, 1997), traería como consecuencia una mayor permanencia de ese ión en el medio intra-fibra, e induciría una mayor y más prolongada activación de las proteínas contráctiles, produciendo en consecuencia un aumento en la tensión desarrollada por el músculo y un alargamiento de la fase de relajación (tiempo de relajación) de la sacudida simple.

Tiempo de contracción:

Para establecer si la desnutrición perinatal afecta la duración del acople excitación-contracción, en el presente estudio analizó el tiempo al pico y el tiempo de relajación de la sacudida simple provocadas por estímulos supramáximos únicos en músculos controles y desnutridos, de animales con distintas edades postnatales. Las gráficas de la Figura 20 muestran los valores promedio de los tiempos al pico de las respuestas simples provocadas en músculos EDL (gráfico A) y soleo (gráfico B), control y desnutridos. Nuestros resultados muestran que los músculos de sacudida rápida (EDL) presentaron tiempos de contracción menores que los músculos de sacudida lenta (soleo), lo cual concuerda con lo reportado por diversos autores (Close, 1964, Close y Hoh, 1972; Wareham et al., 1982).

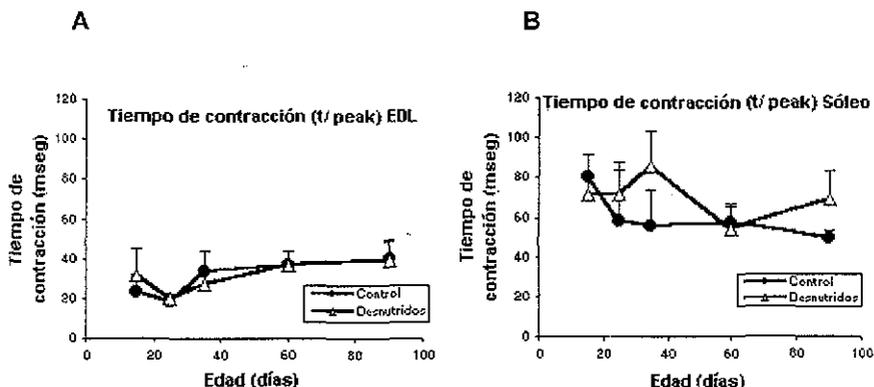


Figura 20: Tiempo de contracción en los músculos EDL (A) y soleo (B) de animales control y desnutridos en cada una de las edades estudiadas

Lo anterior se debe probablemente a que los músculos de contracción rápida poseen una mayor proporción de fibras de alta eficiencia contráctil (IIA y IIB), mientras que los músculos con una mayor proporción de fibras lentas (tipo I) presentan tiempos de contracción mayores (por ejemplo el soleo)

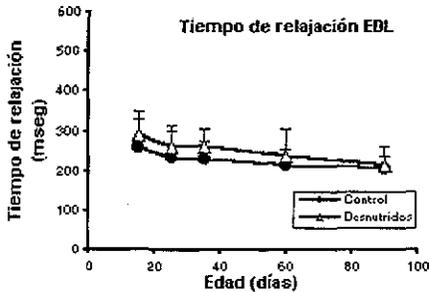
En cambio, el tiempo al pico de la sacudida simple provocada en los músculos EDL desnutridos no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto al tiempo obtenido en los músculos control, en las cinco edades estudiadas. De igual manera, el tiempo al pico de la contracción provocada en los músculos soleo tampoco presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) con los control, excepto a los 35 y 90 días en donde se observó un ligero aumento, aunque no significativo, en el tiempo al pico de la contracción. Estas observaciones podrían sugerir en términos generales que los mecanismos de acople entre la excitación y la generación de tensión en los músculos rápidos y lentos no se ven afectados por la desnutrición perinatal.

Tiempo de relajación.

La relajación posterior a una contracción de los músculos esqueléticos está determinada por el tiempo en que el RS recaptura el Ca^{2+} del medio intracelular (Evert, 1996), de tal modo que un retraso en la recaptura de Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico involucraría un alargamiento en el tiempo de relajación de la contracción muscular.

Los gráficos de la Figura 21 muestran los valores promedio de los tiempos de relajación de la sacudida simple provocada en los músculos EDL (gráfico A) y soleo (gráfico B) controles y experimentales, en distintos días postnatales. Como se puede apreciar en las gráficas, los músculos EDL presentaron en general tiempos de relajación menores que los músculos soleo, tal como era de esperar por la diferente proporción de fibras rápidas y lentas que contienen respectivamente (Takekura et al, 1994)

A



B

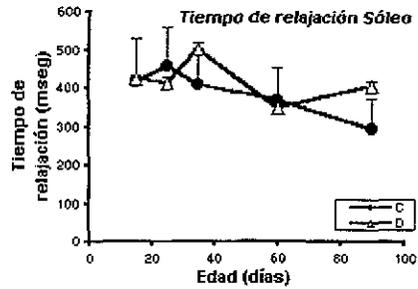


Figura 21: Tiempos de relajación de la sacudida simple provocada en los músculos EDL (A) y soleo (B) de animales control y desnutridos.

Por otra parte el análisis estadístico de nuestros resultados mostró que los tiempos de relajación de los músculos EDL y soleo excepto a los 35 días de edad de animales control y desnutridos no presentaban diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), lo cual sugiere que el método de desnutrición empleado en este estudio no alteró la proporción de los tipos de fibras rápidas y lentas presentes en los músculos EDL y sóleo y probablemente tampoco afectó el acople excitación-contracción en ambas clases de músculos.

Frecuencia de fusión:

La fusión de la respuesta contráctil de un músculo se presenta cuando ocurren varias contracciones sucesivas, dispuestas a una frecuencia tal que impidan al músculo alcanzar su relajación, ya que una respuesta se suma paulatinamente a la previa (suma tetánica), hasta que las respuestas contráctiles se fusionan y el músculo realiza la máxima tensión que es capaz, a lo cual se ha denominado **tétano** (Keynes y Aidley, 1985), la frecuencia mínima de

estimulación con la cual el músculo alcanza el tétano se conoce como frecuencia de fusión (Aidley, 1978).

En las graficas de la Figura 22 se ilustran los valores de la frecuencia de fusión promedio de los músculos EDL y soleo determinadas en distintas edades postnatales de los animales control y desnutridos. Como era de esperar, la frecuencia de fusión de la respuesta contráctil del músculo EDL fue mayor que la del músculo sóleo, lo que indica en primera instancia una diferencia en la proporción y tipo de fibras que conforman a un músculo rápido en comparación a las de un músculo lento, ya que como es conocido las fibras lentas (tipo I) presentan frecuencias de fusión menores que las fibras de sacudida rápida IIA y IIB (Close, 1964, Close, 1972).

El análisis estadístico realizado a partir de los datos obtenidos en las distintas edades estudiadas mostró que los músculos EDL de los animales control presentan a los 15 y 25 días de edad una frecuencia de fusión significativamente mayor ($p < 0.05$) que la de los músculos EDL de animales desnutridos, mientras que a los 35, 60 y 90 días, las diferencias ya no son significativas ($p > 0.05$).

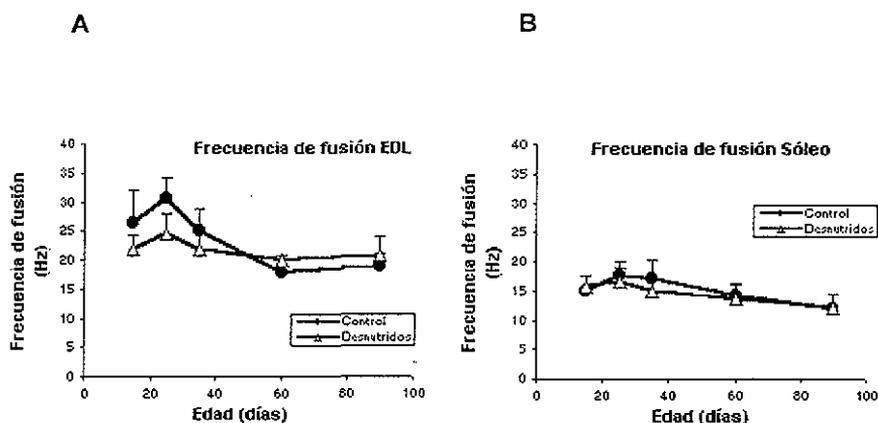


Figura 22: Frecuencias de fusión de las respuestas contráctiles de los músculos EDL (A) y soleo (B) de animales sometidos perinatalmente a dietas control y deficiente en cantidad

La evidencia anterior podría sugerir que en edades postnatales tempranas los músculos EDL presentan una mayor proporción de fibras musculares con características contráctiles correspondientes al tipo I (fibras lentas, resistentes a la fatiga) o de fibras tipo IIX o IIA (fibras rápidas resistentes a la fatiga) y que en edades posteriores adquieren características contráctiles correspondientes a fibras tipo IIB (fibras rápidas fatigables).

En el caso de los músculos soleo, la frecuencia de fusión de los músculos desnutridos es prácticamente similar que la de los músculos control ($p > 0.05$), lo que implica entre otras cosas que la proporción y el tipo de fibra característica de este tipo de músculo (lento) no fueron afectados por la desnutrición perinatal.

Fatigabilidad:

La actividad muscular sostenida conduce frecuentemente a una reducción temporal de la capacidad del músculo esquelético para generar fuerza, tal disminución transitoria de la fuerza máxima es definida como fátiga muscular (Williams, 1997). Por otro lado, el índice de fatigabilidad se ha definido como la disminución porcentual de tensión que se observa a los 30 segundos del inicio de la sacudida tetánica (Russel et al., 1984, López et al., 1982; Segura, 1993). La fatigabilidad, entendida como la capacidad del músculo para mantener la fuerza contráctil durante una sacudida tetánica, se ha relacionado con diversos procesos, entre los que destacan: a) con fallas en el acople excitación-contracción, como por ejemplo, con alteraciones en la cinética del calcio, Jones, 1996; Bissonnette y Jeejeebhoy, 1998), b) con la proporción relativa de fibras resistentes a la fatiga o fatigable, c) con el tipo de metabolismo del músculo, d) con la cantidad de ATP disponible para la activación de las ATPásas (Williams, 1997) entre otras.

En la sección anterior se supuso que en edades postnatales tempranas, los músculos EDL desnutridos presentan una mayor proporción de fibras de contracción lenta o rápida, resistentes a la fatiga que los músculos control. Para

obtener mayor información acerca de esta posibilidad, decidimos determinar en el presente estudio el índice de fatigabilidad de los músculos EDL y sóleo de animales control y desnutridos en distintas edades postnatales

En los registros y en las graficas de las Figuras 23 y 24 se puede apreciar que en todas las edades estudiadas, los músculos EDL por lo general presentan índices de fatigabilidad mayores que los músculos sóleos, lo cual concuerda con el tipo predominante de fibras y la clase de metabolismo (anaerobio-EDL y aerobio-sóleo, Bissonnette et al., 1997), que presenta cada uno de los músculos señalados.

Por otra parte, en las edades 15, 25 y 35 días postnatales los músculos EDL de animales control muestran mayor fatigabilidad ($p < 0.05$) que los músculos de animales desnutridos, en cambio, a los 60 y 90 días la diferencia entre ambos grupos ya no fue significativa ($p > 0.05$). Estos resultados permiten sugerir que los músculos EDL de animales desnutridos perinatalmente presentan una mayor proporción de fibras lentas (tipo I) o rápidas no fatigables (tipo IIA o Tipo IIX) que de fibras rápidas no fatigables (tipo IIB). Por otra parte, los porcentajes de fatigabilidad de los músculos sóleos desnutridos no difirieron significativamente ($p > 0.05$) de los obtenidos en los músculos sóleos control, en todas las edades estudiadas. Esta evidencia podría indicar que la desnutrición perinatal no altera apreciablemente la fatigabilidad del músculo sóleo, el cual contiene predominantemente fibras de contracción lenta (tipo I), durante todo el desarrollo postnatal de la rata.

Los resultados obtenidos en esta sección permiten sugerir que la desnutrición perinatal afecta selectivamente la fatigabilidad de los músculos de sacudida rápida (EDL) más que la de los músculos de sacudida lenta (sóleo), lo cual concuerda con lo reportado por diversos investigadores (Howells y Jordan, 1978; Ward y Stickland, 1991; Dwyer y Stickland, 1992 y Dwyer et al., 1995). Puesto que la desnutrición no afecta a la fatigabilidad de las fibras de contracción lenta (tipo I), presentes en el músculo sóleo, por exclusión podría suponerse que las fibras mayormente afectadas en el músculo EDL desnutrido correspondieron a las fibras del tipo IIA o IIX (rápidas no fatigables).

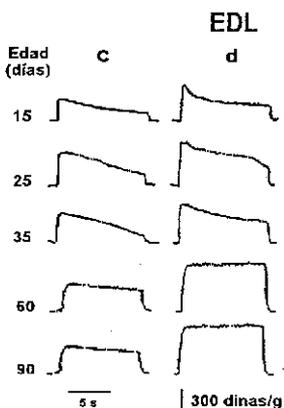
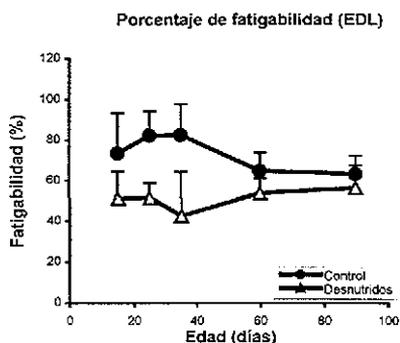
A**B**

Figura 23: (A) Registros de las respuestas tetánicas producidas por trenes de estímulos con una frecuencia de 100 Hz aplicados a músculos EDL de animales control (c) y desnutridos (d) con las edades postnatales indicadas (B) Valores promedio del porcentaje de fatigabilidad obtenidos de músculos EDL de crías control desnutridas con distintas edades.

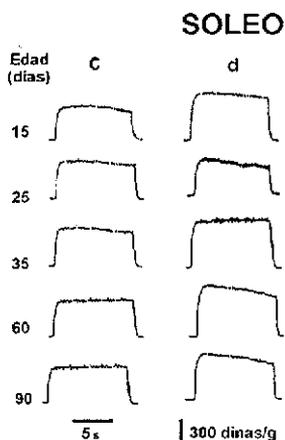
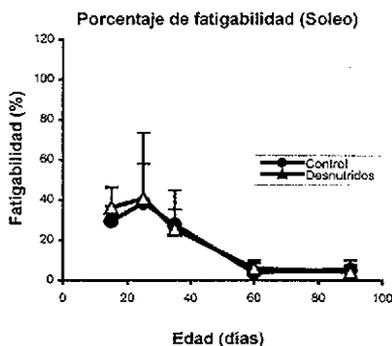
A**B**

Figura 24: (A) Registros de las respuestas tetánicas producidas por trenes de estímulos con una frecuencia de 100 Hz aplicados a músculos soleo de animales control (c) y desnutridos (d) con las edades indicadas. (B) Valores promedio del porcentaje de fatigabilidad obtenido de músculos soleo de crías control y desnutridas con distintas edades.

DISCUSIÓN:

Es bien conocido que la desnutrición perinatal provoca múltiples alteraciones en el músculo esquelético durante el desarrollo de los animales (algunas de las cuales pueden resultar irreversibles a pesar de que se realimenta a los organismos (Smart et al., 1973, Bedi et al., 1978;1982; Goldspink y Ward, 1979; Wilson et al., 1988), estas alteraciones no solo se manifiestan en una reducción del peso corporal y la talla, sino que también provocan alteraciones en la morfometría y fisiología de la fibra muscular, como por ejemplo reducciones en el tamaño y el diámetro de las fibras (Stickland et al., 1975; Bedi et al., 1982; Nascimento et al., 1990, Brozanski et al., 1991), o alteraciones en la cantidad total de fibras y la proporción relativa de los distintos tipos de fibras contenidas en los músculos (Raju,1975; Bedi et al.,1982., Brozanski et al., 1991). Además, se ha establecido que la desnutrición provoca también alteraciones considerables en las propiedades contráctiles de las fibras individuales y músculos completos de individuos adultos. Estas se han asociado a cambios metabólicos u hormonales, tales como alteraciones en la síntesis de las hormonas tiroideas (disminución de T3 y T4) y de la insulina (Desai et al., 1996), la cual regula el depósito y la síntesis de proteínas en el músculo esquelético (Wray et al., 1998), tejido reconocido como el principal sitio periférico de acción de esta hormona (White et al., 2000). Tanto la reducción en la síntesis de insulina como el aporte insuficiente de proteínas, limita el porcentaje neto de síntesis de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas en los músculos (Fiorotto et al., 2000), lo que a su vez provoca una drástica disminución en el peso corporal y muscular, tal como lo observado en los animales desnutridos perinatalmente en el presente estudio. Puesto que los músculos esqueléticos representan del 40 al 45% del peso corporal de los organismos, entonces resulta factible suponer que la reducción del número de sarcómeras y/o fibras musculares provocaría la disminución de los procesos de hiperplasia e hipertrofia que normalmente ocurren en los músculos en desarrollo

Además de las probables alteraciones hormonales antes mencionadas provocadas por la desnutrición, también se ha reportado una reducción en la síntesis de la hormona del crecimiento, así como del factor I, ligado a la insulina (White et al., 2000), lo cual también podría ser causante del bajo peso mostrado por los animales desnutridos.

Es ampliamente conocido que la desnutrición perinatal limita severamente el desarrollo muscular de los animales, debido posiblemente a que induce una reducción notoria de la actividad anabólica de los organismos, en los estadios del desarrollo en que éstos son más activos, es decir, durante el desarrollo gestacional y postnatal temprano (Goldspink, 1980; Goldspink y Ward, 1979) Cabe mencionar que durante tales periodos ocurre la diferenciación de las fibras musculares, lo cual determina tanto el número como el tipo de fibras que los músculos contendrán en su madurez (Schiaffino y Reggiani, 1996). También se ha sugerido que la desnutrición provoca una reducción en la degradación de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas (Fiorotto et al., 2000) y una reducción del DNA (Stickland et al., 1975, Ward y Stickland, 1993; Winick y Noble, 1966), así como la redistribución de proteínas, aminoácidos y materiales energéticos del músculo hacia otros órganos clave de la economía (Goldberg y Chang, 1974)

Dentro de las evidencias experimentales obtenidas en este estudio, destaca la observación de que en estadios tempranos del desarrollo postnatal los músculos EDL y soleo de animales desnutridos perinatalmente generan mayor tensión por gramo de tejido húmedo durante la sacudida simple y la respuesta tetánica (preferentemente entre los 15 y 35 días postnatales) que los músculos EDL control. Estos hallazgos sugieren en primera instancia que la desnutrición perinatal altera de alguna manera los procesos musculares de generación de fuerza en estadios tempranos del desarrollo postnatal de la rata. Incrementos similares de tensión pero por área de corte transversal han sido reportados por Wareham y colaboradores (1982) en los músculos EDL y soleo de ratas adultas desnutridas perinatalmente, aunque estos autores no infieren en su estudio cuáles podrían ser los mecanismos contráctiles afectados por la deficiencia alimenticia.

Para explicar el incremento de la tensión normalizada por gramo de tejido que observamos en las respuestas contráctiles de los músculos de crías desnutridas, podrían considerarse diversas posibilidades, entre las que destacan las siguientes:

1) **Incremento en la eficiencia del proceso de excitación-contracción.** Se ha fundamentado ampliamente que un mejor acople entre la excitación y la contracción muscular da como resultado una mayor generación de fuerza por parte de las fibras musculares, lo cual se ve acompañado por un notorio incremento en la duración de la contracción (aumentan los tiempos al pico y de relajación), así como por la reducción de la frecuencia de fusión de la respuesta contráctil y por cambios en la relación sacudida simple-tetáno (Davson, 1970) Sin embargo, en virtud de que las respuestas contráctiles de los músculos afectados por la desnutrición, determinados en este estudio, mostraron valores de tiempo al pico, tiempo de relajación, frecuencia de fusión y relaciones sacudida simple-tetáno que fueron notablemente semejantes a los obtenidos en los músculos control, sería factible proponer que la desnutrición perinatal no afecta los procesos de acople excitación-contracción, involucrados en la generación de fuerza, de los músculos rápidos y lentos durante el desarrollo postnatal de la rata.

2) **Un incremento en la densidad de miofibrillas en las fibras musculares.** El incremento de la tensión por gramo de tejido de la sacudida simple y tetánica en los músculos EDL y sóleo de las ratas desnutridas, podría explicarse si se considera un incremento en la densidad de miofibrillas presentes en las fibras de los músculos EDL y sóleo (en etapas tempranas del desarrollo). Esta posibilidad implicaría un incremento relativo en el número de puentes cruzados entre la actina y la miosina por gramo de tejido. Recientemente, Fiorotto y colaboradores (2000) mostraron que la desnutrición reduce los porcentajes de síntesis de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas de los músculos de las extremidades posteriores de la rata, en etapas tempranas de su desarrollo. Sin embargo, estos autores consideran que tal efecto es minimizado por un decremento en los porcentajes

respectivos de degradación de las proteínas. Fiorotto y colaboradores (2000) concluyen que si bien la adaptación en el recambio de proteínas reduce el crecimiento total de la masa muscular, ésta también mitiga los efectos de la desnutrición en la concentración normal de proteínas en las miofibrillas de los músculos de las ratas desnutridas.

Conviene señalar que un incremento en la densidad de proteínas en las fibras musculares podría deberse, no necesariamente a un aumento en su síntesis o a una disminución en su degradación, sino más bien, a cambios en el volumen intrafibra de agua (contenido de agua), lo que incrementaría la concentración de todos los solutos que se localizan dentro de las fibras musculares. A pesar de que no existen evidencias experimentales sobre esta posibilidad, en la literatura se presentan una serie de observaciones, predominantemente morfométricas que apoyan esta posibilidad. Es bien conocido que la desnutrición, en cualquier etapa de la vida de los organismos induce una clara reducción en el tamaño, peso y volumen de los músculos esqueléticos. Ello se ha explicado parcialmente por la notable reducción del contenido proteínico de las fibras musculares, aunque no se ha contemplado una reducción en el contenido hídrico de las mismas. Esta posibilidad por sí misma de gran interés, está abierta para estudios posteriores en los que se utilicen procedimientos experimentales diferentes a los empleados en este trabajo

3) Proporciones relativas diferentes de los tipos de fibras en el músculo. Durante el desarrollo normal de los músculos esqueléticos (de los mamíferos) estos presentan cuatro tipos de fibras musculares. Las fibras tipo I (oxidativas), las tipo IIA (rápidas oxidativas-glucolíticas), las tipo IIX (rápidas glucolíticas-oxidativas) y las fibras tipo IIB (rápidas glucolíticas). La diferenciación de los distintos tipos de fibras durante el desarrollo hasta la etapa adulta de los músculos ocurre en varias etapas. Cada una se caracteriza por una isoforma particular de las cadenas pesadas de la miosina (MyHC), las cuales atraviesan por las isoformas embrionaria - fetal - neonatal y adulta. La trayectoria postnatal de algunas de estas etapas puede seguirse a través de las transiciones de las

isoformas adultas de los tipos I – IIA – IIX y IIB (Schiaffino y Reggiani, 1996; Lefaucheur et al., 1998; Mckoy et al., 1998). Una de las características contráctiles que permiten distinguir los tipos de fibras rápidas IIA y IIX de las fibras musculares rápidas tipo IIB, es su resistencia a la fatiga (Sieck et al., 1996). Tomando en cuenta lo anterior, en este trabajo utilizamos el porcentaje de fatigabilidad de los músculos como una indicación de la transición postnatal de los tipos de fibras rápidas, resistentes a la fatiga (IIA y IIX) a fibras rápidas fatigables (IIB). Debido a que los músculos EDL de los sujetos desnutridos presentan mayor resistencia a la fatiga que los músculos de los animales control en edades postnatales tempranas (15, 25 y 35 días), nos permite proponer que la diferenciación postnatal de las fibras rápidas resistentes a la fatiga (IIA oxidativas-glucolíticas o tipo IIX glucolíticas-oxidativas) a fibras tipo IIB rápidas fatigables (glucolíticas) se ve enlentecida durante el desarrollo postnatal de los músculos. Lo cual es consistente con la evidencia de que las fibras musculares rápidas de los tipos IIA, IIX y IIB (derivadas de los miotubos secundarios) son afectadas por la desnutrición (Ward y Stickland, 1991; Prakash et al., 1993; Bedi et al., 1978). Por otra parte y dado que los valores del porcentaje de fatigabilidad de los músculos sóleo no presentaron diferencias significativas con respecto a los músculos control, podría considerarse que ello fue debido al hecho de que los músculos lentos (como el soleo) presentan una mayor proporción de fibras tipo I (derivadas de miotubos primarios), las cuales al parecer no son afectadas por la desnutrición perinatal (Ward y Stickland, 1991; Prakash et al., 1993).

La evidencia anterior permite sugerir que la desnutrición perinatal ejerce un mayor efecto sobre los músculos de sacudida rápida que sobre los músculos de sacudida lenta.

Conviene hacer notar que la mayor resistencia a la fatiga que presentan los músculos EDL de los sujetos desnutridos ocurre concomitantemente y en paralelo con los incrementos en la tensión por gramo de tejido que generan tales músculos entre los días 15 y 35 de edad postnatal. Ésto abre la posibilidad de que exista una relación funcional entre la proporción relativa de tipos de fibras y la tensión (normalizada) desarrollada por los músculos rápidos durante los estadios

tempranos del desarrollo postnatal Brozansky y colaboradores (1993) reportaron un incremento relativo en el número de las fibras que contenían las isoformas neonatales lentas de las cadenas pesadas de miosina MyHC y un decremento en la proporción relativa de las isoformas rápidas (en particular de la tipo IIB) en el músculo diafragmático de la rata. Esto sugirió que podría reducir el costo energético de la contracción y provocar un incremento en la resistencia a la fatiga del músculo. Sin embargo, esta posibilidad requiere de un análisis experimental más extenso en el que se determine, sobre todo en los músculos rápidos de las extremidades, las proporciones relativas de los tipos de fibras musculares presentes en etapas tempranas del desarrollo postnatal de la rata.

4) Cambios en el estado hormonal y/o en la eficiencia metabólica de los animales. La actividad contráctil y el estado hormonal desempeñan un papel fundamental en la regulación de la transición de las fibras lentas a fibras rápidas y sus efectos son dependientes del estadio de desarrollo en que se presenten (Daucey y Gilmour, 1996; Goldspink, 1999). Por ejemplo, la hormona tiroidea en estadios prenatales induce la formación de miotubos a partir de los mioblastos, mientras que postnatalmente esta hormona estimula la conversión de las fibras tipo I a fibras tipo II (d' Albis y Butler-Browne, 1993). En adición, está bien establecido que el hipotiroidismo ligero que sufren los animales desnutridos (Dauncey, 1990) es capaz de modificar la estructura de los músculos esqueléticos. Esto es a través de incrementar la proporción de fibras de sacudida lenta (tipo I), o por una reducción selectiva de fibras de sacudida rápida, siendo las más afectadas las fibras del tipo IIB, sin que el número de fibras rápidas, no fatigables (tipo IIA) presenten modificaciones (Mc Allister et al., 1991). Esto último sugiere la posibilidad de que, inducida por la desnutrición, ocurra un incremento relativo del número de las fibras IIA (o incluso IIX). También se ha establecido que el estado hipotiroideo de las ratas desnutridas incrementa la cantidad de mitocondrias y enzimas respiratorias, lo que al parecer provoca después del nacimiento un incremento en la actividad de la ATPása dependiente de Ca^{2+} , en los músculos de sacudida rápida (Simonides y Van Hardeveld, 1989)

Por otro lado, también se ha establecido que la desnutrición induce alteraciones en la persistencia de las isoformas neonatales de las cadenas pesadas de la miosina (Brozanski et al., 1991) y afecta la transformación de las fibras musculares tipo IIA y IIB (Mabuchi et al., 1982). Además, se ha demostrado que el estado hipotiroideo de las ratas desnutridas reduce la regulación de la Na^+ - K^+ ATPasa y la Ca^{2+} ATPasa, mejorando la eficiencia energética en el sarcolema y el retículo sarcoplásmico, respectivamente (Harrison et al., 1996).

Recientemente White y colaboradores (2000) reportaron que la desnutrición postnatal moderada, incrementa la capacidad oxidativa de los músculos de las extremidades, y provoca que la proporción de fibras oxidativas lentas se incremente a expensas de las fibras glucolíticas rápidas, tal y como se mencionó antes. De acuerdo a sus resultados estos autores proponen un papel crítico de la nutrición postnatal en la regulación de la expresión de los genes de la miosina y del fenotipo del músculo. Sin embargo, un incremento de la capacidad oxidativa involucra un aumento concomitante en la eficiencia energética de aquellos músculos que contienen una proporción relativamente alta de fibras oxidativas (tipo I) y oxidativo-glucolíticas (tipo IIA) o glucolítico-oxidativas (tipo IIX). Un incremento en la eficiencia metabólica puede influenciar en las propiedades contráctiles de los músculos de sacudida rápida, al aumentar la resistencia a la fatiga y / o la capacidad de generar tensión por gramo de tejido de tales músculos. Sin embargo, esta posibilidad necesita ser evaluada usando otras técnicas experimentales además de las usadas en este estudio.

Conviene señalar que los efectos que ejerce la desnutrición sobre la estructura y la función muscular pueden variar de un músculo a otro. Ello es debido a la gran diversidad que presentan los músculos esqueléticos en su diseño y en la composición de sus fibras (Pette y Staron, 1990).

Finalmente, es importante resaltar que de acuerdo a diversas evidencias experimentales (Smart et al., 1973; Bedi et al., 1978; Wilson et al., 1988 y Goldspink y Ward, 1979), los efectos causados por la desnutrición perinatal sobre los músculos esqueléticos, aparentemente no son revertidos por la rehabilitación alimenticia de los animales, cuando este procedimiento se aplica durante estadios

intermedios o tardíos del desarrollo postnatal de las crías (Wareham et al 1982). Por lo cual es imprescindible desarrollar estudios de investigación en los que se utilicen diversos procedimientos de rehabilitación alimenticia sobre las alteraciones que produce la desnutrición perinatal en las características morfométricas y contráctiles de los músculos esqueléticos, rápidos y lentos, durante el desarrollo postnatal.

CONCLUSIONES

1.- La desnutrición perinatal provocó una disminución significativa del peso corporal de los animales experimentales, que probablemente resulta de una reducción significativa del peso de los músculos esqueléticos (asociada probablemente a una reducción del número de sarcómeros y/o de fibras musculares).

2.- De acuerdo al punto anterior, podría considerarse que el método de privación perinatal de alimento empleado en este estudio es adecuado para provocar alteraciones en el desarrollo muscular y funcional de la rata

3.- En edades tempranas, los músculos EDL y soleo de animales desnutridos desarrollan mayor tensión por gramo de tejido húmedo que los músculos de animales control. Esta observación podría deberse a cambios en la concentración de las proteínas contráctiles y no del contenido proteico de las fibras musculares, o bien a cambios en el estado hormonal o metabólico de los organismos, pero no a alteraciones en los mecanismos que generan el acoplamiento de la excitación y la contracción muscular.

4.- Los resultados obtenidos con respecto al porcentaje de fatigabilidad sugieren que la desnutrición produce alteraciones selectivas sobre los músculos de contracción rápida, en estadios tempranos de desarrollo de la rata, probablemente

intermedios o tardíos del desarrollo postnatal de las crías (Wareham et al 1982). Por lo cual es imprescindible desarrollar estudios de investigación en los que se utilicen diversos procedimientos de rehabilitación alimenticia sobre las alteraciones que produce la desnutrición perinatal en las características morfométricas y contráctiles de los músculos esqueléticos, rápidos y lentos, durante el desarrollo postnatal.

CONCLUSIONES

- 1.- La desnutrición perinatal provocó una disminución significativa del peso corporal de los animales experimentales, que probablemente resulta de una reducción significativa del peso de los músculos esqueléticos (asociada probablemente a una reducción del número de sarcómeros y/o de fibras musculares).
- 2.- De acuerdo al punto anterior, podría considerarse que el método de privación perinatal de alimento empleado en este estudio es adecuado para provocar alteraciones en el desarrollo muscular y funcional de la rata
- 3.- En edades tempranas, los músculos EDL y soleo de animales desnutridos desarrollan mayor tensión por gramo de tejido húmedo que los músculos de animales control. Esta observación podría deberse a cambios en la concentración de las proteínas contráctiles y no del contenido proteico de las fibras musculares, o bien a cambios en el estado hormonal o metabólico de los organismos, pero no a alteraciones en los mecanismos que generan el acoplamiento de la excitación y la contracción muscular.
- 4.- Los resultados obtenidos con respecto al porcentaje de fatigabilidad sugieren que la desnutrición produce alteraciones selectivas sobre los músculos de contracción rápida, en estadios tempranos de desarrollo de la rata, probablemente

al retrasar el proceso de diferenciación de las fibras musculares de los tipos IIA y IIX, lo que induce la persistencia de estos tipos de fibras durante períodos prolongados de tiempo. Debido a que el proceso de retardo en la diferenciación de las fibras musculares concurre con incrementos relativos en la tensión normalizada por gramo de tejido generada durante una acudida simple, es posible que haya una relación funcional entre el tipo de fibra y el mejoramiento de la eficiencia energética de los músculos.

REFERENCIAS:

Aidley, D.J. (1978) The physiology of excitable cells . Cambridge University press
2° edition pp 223 – 235.

Balice- Gordon, J.R. y Thompson, J.W. (1988). The organization and development of compartmentalized innervation in rats extensor digitorum longus muscle . J. Physiol **398** : 211 – 231.

Bedi, K.S., Birkzgalis , A.R. , Mahon, M. , Smart, J. L. y Wareham , A.C. (1982). Early life undernutrition in rats quantitative histology of skeletal muscles from underfed young and refeed adult in animal. Br. J. Nutr. **47**: 417 – 431

Bedi, K.S., Mahon, A.R. y Smart. A. (1978). A quantitative light microscopical study of muscles from adults rats previously undernourished in early life. Proc. Nutr. Soc. **37**: 59A-68A.

Bedi, K.S. (1994). Undernutrition of rats during early life does not affect de total number of cortical neurons. J. Comp. Neurol. **342**: 595-602

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

Bissonnette, J.D. y Jeejeebhoy , N.K. (1998). Feeding a low energy diet and refeeding a control diet affect glycolysis adult male wistar rats. J. Nutr **128**. 1723 – 1730.

Blakburn, G.L. (2001). Pasteur Quadrant and Malnutrition. Nature **409** 397-401.

Botinelli, R., Schiaffino, S. y Reggiani, C. (1991). Force-velocity relation and myosin heavy chain isoform composition of skinned fibres from rat skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)* **437**: 655-672.

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

Brooke, M.H. y Kaiser, K.K. (1970). Muscle fiber types how many and what kind. *Arch. Neurol.* **23** 369 – 379.

Brozanski, B.S., Daood, M.J., Laframboise, W.A., Watcho, J.F., Foley, Jr. T.P., Butler-Browne, G.S., Whalen, R.G., Guthiere, R.D. y Ontei, M. (1991). Effects of perinatal undernutrition on elimination of immature myosin isoforms in the rats diaphragm. *Am. J. Physiol.* **261**: 49 – 54.

Brozanski, B.S., Watchko, F.J. y O´Day , L.T. (1993) . Undernutrition effects on function of developing diaphragm. *J. Appl. Physiol.* May. **74**: 2121 – 2126.

Buckingham, M. (1994). Molecular biology of muscle development *Cell.* **78**: 15 – 21.

Burke, R.E., Levine, D.N., Sachmann, M. y Tsairis, P. (1974). Motor units in cat soleus muscle: Physiological, histochemical and morphological characteristics *J. Physiol. (Lond.)* **238**: 503-514.

Close, R. (1964). Dynamic properties of fast and slow skeletal muscles of the rat during development . *J. Physiol.* **173**: 74 – 95.

Close, R. (1972). Dynamic properties of mammalian skeletal muscle. *Physiol Rev* **52**: 129-197.

Close, R. y Rhot, J.F. (1972). Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiol. Revs.* **52**: 29-197

d'Albis, A. y Butler-Browne, G. (1993). The hormonal control of myosin isoform expression in skeletal muscle of mammals: A review *Basic Appl Myol* **3** 7-16.

Danieli-Betto, R., Megighian, A., Midrio, M., Salviati, G. y Larson, L. (1995). Effects of age on sarcoplasmic reticulum properties and histochemical composition of fast and slow twitch rat muscles *Acta Physiol. Scand* **154**: 59-64

Darnell, J., Lodish, H. y Baltimore, D. (1990). Molecular cell biology. (chapter 22) 2° edition Scientific American Books . USA pp. 859 – 900.

Dauncey, M.J. y Gilmour, R.S. (1996). Regulatory factors in the control of muscle development. *Proc.Nutr. Soc.* **55** 543 – 559.

Davson, H. (1970). A Textbook of General Physiology Churchill, 4^{ed} vol 2 London, Chaps XX-XXII, pp. 1347-1474.

De Nardi, C.S., Ausoni, P. Moretti, L. Garza, M. Valleca, M. Buckingham, M. y Schiaffino. (1993). Type 2X myosin heavy chain in coded by a muscle fiber type-specific and developmentally regulated gene. *J. Cell Biol* **123**: 823-835

Desai, M., Crowtheler, N.J., Lucas, A. y Hales, N. (1996). Organ-Selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Brit J Nutr.* **76** 591-603.

Dwyer, C. M. y Stickland, N. C. (1992). Does the anatomical location of a muscle affect the influence of undernutrition on muscle fiber number. *J. Anat.* **181** : 873 – 876.

Dwyer, C.M., Madgwick, A.J., Ward, S.S. y Stickland, N.C. (1995). Effect of maternal undernutrition in early gestation on the development of fetal myofibres in the guinea pig *Reprod. Fertil Dev.* **7** 1285-1292

Eppenberger, H.M., Eppenberger, M., Richter, R. y Aebi, H. (1964). The ontogeny of creatin kinase isoenzymes. *Dev. Biol.* **10**. 1-16.

Evert, M.E. (1996). Effect of thyroid hormones on contractility and cation transport in skeletal muscle *Acta Physiol Scand.* **156**: 225-233.

Fiorotto, M.L. Davis, T.A. y Reeds, P.J. (2000). Regulation of miofibrillar protein turnover during maturation in normal and undernourished rat pups. *Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **278**: R845-854.

Floeter, M.K. (1999). Muscle, motor neurons, and motor neuron pools (chapter 30) en: Fundamental neuroscience Zigmond, M.J ; Bloom, F.E. ; Landis, S.C. , Roberts, J.L. y Squire, L.R. Editors 1° edition, Academic Press. San Diego California USA pp. 863 – 887.

Franzini–Armstrong, C. (1970). Studies of the triad. I. structure of the junction in frog twitch fibres. *J. Cell Biol.* **47**: 488 – 499.

Ganong, W. F. (1994). Fisiología Médica El manual moderno SA, 14° edición México D.F. pp 67-87

Goldberg, A.L. y Ghang, J.F. (1974). Intracellular protein degradation in mammalian and bacterial cells. *Annu. Rev. Biochem.* **43**: 835-869.

Goldspink, D.F. (1977). The influence of activity on muscle size and protein turnover. *J. Physiol. (Lond)* **264**: 283-296.

Goldspink, G. (1978). The ATP usage by fast and slow muscle in the maintenance of isometric tension. *J. Physiol.* **206**: 28-29.

Goldspink, G. y Ward, P.S. (1979). Changes in rodents muscle fibre types during postnatal growth, undernutrition and exercise. *J. Physiol.* **296**: 453 – 469.

Goldspink, G. (1980). Growth of muscle. Societe for experimental Biology seminar series Development and specialization of skeletal muscle Cambridge Univ. Press pp 20-35

Goldspink, G. (1999). Changes in muscle mass and phenotype and the expression of autocrine and systemic growth factors by muscle in response to stretch and overload. *J. Anat.* **194**: 323-334.

Guyton, A.C. y Hall, J.E. (1998). Human physiology and mechanism of disease. 6° edition. Sauders, W.B. Company. USA 79-93.

Hall, N. y DeLuca, M. (1975). Developmental changes in creatine phosphokinase isoenzymes in neonatal mouse hearts. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **66**: 988-994.

Harris, A.J., Fitzsimons, R.B. y McEwan, J.C. (1989). Neural control of the sequence of expression of myosin heavy chain isoforms in fetal mammalian muscles. *Development.* **170**: 751-769.

Harrison , A. P., Tivey , D. R., Clausen, T., Duchamp, C. y Dauncey, M. J. (1996). Role of thyroid hormones in early postnatal development of skeletal muscle and its implication for undernutrition . *Brit. J. Nutr.* **76:** 841 – 855.

Hill, A.V. (1938). The heat of shortening and dynamic constants of muscle. *Proc. Roy Soc. B.* **1365:** 136-195

Howells, K.F. y Jordan, T.C. (1978). The effects of perinatal undernutrition on the succinic dehydrogenase content of muscle fibres from fast and slow rat muscles . *Histochemistry* **58:** 97 – 102

Huerta , M., Muñiz, J. y Gamboa , R. (1986) . Contracción muscular. en *Temas Selectos de Biología Celular.* México Dirección de comunicación social / Cosnet/ SEP / Cosnet / Cinvestav Departamento de fisiología y Biofísica. 1-38

Huxley, H.E. y Niedergerke, R. (1954). Structural changes in muscle during contraction Interference microscopy of living muscle fibres. *Nature* **173:** 971-973

Huxley, A. F. (1974). Muscle contraction. Review Lecture. *J. Physiol.* **243:** 1 – 43.

Ihemelandu, E.C. (1985). Fibre number and sizes of mouse soleus muscle in early postnatal protein malnutrition. *Acta Anat* **121:** 89 – 93

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

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

Jones, D.A.(1996). High – and low – frequency fatigue revisited *Acta Physiol. Scand.* **156:** 265-270

Josephson, R.K. (1993). Contraction dynamics and power output of skeletal muscle. *Annu. Rev. Physiol.* **55:** 527-546.

Kandel, R.E., Schwartz, H.J. y Jessell, M.T. (1997) Principles of neural science. 3° edition (chapter 36) Ed. Appleton y Lange Norwalk. Connecticut USA 548-570

Kelly, A. M. y Zaks, S.I. (1969). The hystogenesis of the rat intercostal muscle. *J. Cell Biol.* **42:** 135-153.

Keynes, P.D. y Aidley, D.J. (1985). Nerve and Muscle. Cambridge University Press, 1° ed. New York USA pp 103-140.

Komisaruk , R.B., Adler, N.T. y Hutchinson , P. (1992). General sensory field : enlargement by estrogen treatment in female rat. *Science* **178:** 1295 – 1298.

Krishnamurthy, N., Balakumar, B., y Thombre, D.P. (1992). Effect of undernutrition and sex difference of skeletal muscle function in young rats. *Indian J. Physiol Pharmacol.* **36:** 234-238

Lee J. (1994). Roots of fatigue *Inside Science.* **71:** 1- 4.

Lefaucheur, L., Hoffman, R.K., Gerrard, D.E., Okamura, C.S., Rubinstein, N., y Kelly, A. (1998). Evidence for three adult fast myosine heavy chain isoforms in type I skeletal muscle fiber in pigs. *J animal Sci.* **76** 1584-1593.

López, J., Russell, D.M., Whitwell, M., y Jeejeebhoy, K. N. (1982). Skeletal muscle function in malnutrition *Am J Clín. Nut.* **36:** 602-610.

Mabuchi, K., Szvetko, D., Pinter, K., y Sreter, F.A. (1982). Type IIB to IIA fiber transformation in intermittently stimulated rabbit muscles. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **242**: C373-C381

Mckoy, G., Leger, M.E., Bacou, F. y Goldspink, G. (1998). Differential expression of myosine heavy chain mRNA and protein isoform in four functionally diverse rabbit skeletal muscles during pre-and potnatal development. *Dev. Dynamics* **211**:193-203.

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

McAllister, R.M., Ogilvie, R.W. y Terjung, R.L. (1991). Functional and metabolic consequences of skeletal muscle remodeling in hypothyroidism. *Am J. Physiol* **260**: (Endocrinol Metab 23) E272 – E279.

Morgane, P.J., Austin-Lafrance, R.J., Bronzino, J.D., Tonkiss, J., y Galler, J.R. (1992). Malnutrition and the Developing Central Nervus System. En: Issacson, R.L. y Jensen, K.F. (Eds.) The Vulnerable Brain and Enviromental Risks, Vol.1: Malnutrition and Hazard Assessment. Plenum Press New York. pp 3-34.

Morgane, P.J., Austin-Lafrance, R.J., Broncino, J.D., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. y Galler, J.R. (1993). Prenatal malnutrition and Development of the Brain. *Neurosc. Biobehav.Rev.* **17**: 91-98

Morris, G.E., Piper, M. y Cole, R. (1976). Do Increases in Enzyme Activities during Muscle Diffentiation Reflect Expression of New Genes. *J. Cell. Biol.* **263**: 76-77.

Navarrete, R. y Vrbova, G. (1993). Activity-dependent interactions between motoneurons and muscles: Their role in the developing of the motor unit. *Prog Neurobiol* **41**: 93-124.

Nascimento, O. J., Madi, K. J.B., Guedes e Silva,P.J., Soares Filho,M.D., Hahn, B. Couto, B. y Freitas, M.R. (1990). Striated muscle in protein malnutrition: An experimental study in albino rats. *Arq. Neuropsiquiatr* **48** 395-402

Noremborg, K. M., Herb, R.A., Dodd, S.L. y Powers, S.K. (1996). The effects of hypothyroidism on single fibers of the rat soleus muscle *Can. J. Physiol Pharmacol* **74** 362-367.

Ordahl, C.P. y Le-Duarin, N.M. (1992). Two myogenic lineages within the developing somite. *Development* **114**: 339-353

Pette, R. y Vrbova, G. (1985). Invited Review. Neural control of phenotypic expression in mammalian muscle fibers. *Muscle & Nerve* **8**: 676-689.

Pette, D. y Staron , R. (1990). Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **116**: 1 – 75

Philippi, M. y Sillau, H. (1994). Oxidative capacity distribution in skeletal muscle fibers of the rats. *J. Exp. Biol.* **189** : 1 – 11.

Perry, S. y Dhoot, G. (1980). Biochemical aspect of muscle development and differentiation En: Goldspink D (Ed). Development and specialization of skeletal muscle. Cambridge Univ. Press. Cambridge. 51-64.

Popesko, P., Ratjová, V. y Horák, J. (1990). Anatomy of small laboratory animals. Vol. II. Rat, mouse and hamster. Wolfe Pub England. pp. 306-307.

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

Prezant, D.J., Richner, B., Aldrich, T.K., Valentine, D.E., Gentry, E.I. y Cahill, J. (1994). Effect of long-term undernutrition on male and female rat diaphragm contractility, fatigue, and fiber types. *J. Appl. Physiol.* **76:** 1540-1547.

Raju, N. V. (1975). Effect of early malnutrition on muscle function and metabolism in rats. *Life Sciences.* **15:** 949-960.

Rendenbach, D.M. y Bressler, B.H. (1988). Alteration in contractile properties of extensor digitorum longus muscle from C57BL/6J mice following denervation at 1 day of age. *Exper. Neurol.* **100:** 542-555.

Rosenblueth, A., Alanis, J. y Rubio, R. (1978). A comparative study of the isometric and isotonic contractions of striated muscles. *Arch. Int. Physiol. et Biochim.* **66:** 330-353.

Rowe, R.W. y Goldspink, G. (1969). Muscle fibre growth in five different muscles in both sexes of mice. *J. Anat.* **104:** 519-530.

Rubinstein, N. y Kelly, A. (1981). Development of muscle fiber specialization in the rat hindlimb. *J. Cell. Biol.* **90:** 128-144.

Rusell, D.M., Walker, P.M., Leiter., L.A., Sima, A., Tanner, W.K., Mickle, N.A., Whitwell, J., Marliss, E.B., y Jeejeebhoy, K.N. (1984). Metabolic and structural changes in skeletal muscle during hypocaloric dieting. *The Amer. J. Clin. Nutr.* **39:** 503 – 513.

Salleh, M. et al. (1989). Enzymatic and metabolic adaptation in the gastrocnemius plantaris and soleus muscles of hypocaloric rats. *Biochem. J.* **261 :** 219 – 225

Segura, Alegría, B. (1993). Efecto de la desnutrición neonatal sobre las propiedades funcionales del músculo esquelético de la rata. Tesis de maestría, Fisiología, Biofísica y Neurociencias CINVESTAV. México.

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

Schutt, E., y Lindberg, U. (1993). A new perspective on muscle contraction Minireview. *Federation of European Biochemical Societies* **325** 59 – 62.

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

Simonides, W.S. y Van Hardeveld, C. (1989). The postnatal development of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport activity in skeletal muscle of the rat is critically dependent on thyroid hormone. *Endocrinology* **124** 1145-1152

Sjogaard, G., Houston, M. E., Nygaard, E. y Salting, B. (1978) Subgrouping of fast twitch fibres in skeletal muscles of man *Histochemistry*. **58**: 79 –87.

Smart, J.L., Dobbing, J., Adlar, B.P., Lynch, A. y Sand, J. (1973). Vulnerability of developing brain Relative effect of growth restriction during fetal and suckling periods on behavior and brain composition of adult rats. *J. Nutr* **103**: 1327-1338.

Smart, J.L. y Bedi, K.S. (1982). Early Life Undernutrition in Rats. *Br. J. Nutr* **47**: 439-444.

Squire, J. (1981). The Structural Basis of Muscular Contraction Eds. Plenum Press, New York. pp 1-389.

Stickland , N.C., Widdowson, M.E. y Goldspink, G. (1975). Effects of severe energy and protein deficiencies on the fibres and nuclei skeletal muscle of pigs. *Br. J. Nutr.* **34**: 421 – 428.

Syroví, I. y Gutmann, E. (1977). Differentiation in soleus and extensor digitorum longus muscle in different animal species during development. *Plügers Arch* **369**: 85 –89.

Takekura, H. , Kasuga, N., y Yoshioka, T. (1994). Differences in ultrastructural and metabolic profiles within the same type of fibres in various muscles of young and adult rats. *Acta Physiol Scand.* **150**: 335-344.

Vanswearingen, J.M. y Lance-Jones, C. (1995). Slow and fast muscle fiber and preferentially derived from myoblasts migrating into the chick limb bud at different developmental times. *Dev. Biol.* **170**: 321 – 337.

Wallimann, T., Wyss, M., Brdicka, P., Nicolay, K. y Eppenberger, H.M. (1992). Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the phosphocreatine circuit for cellular energy homeostasis. *Bioch. J.* **281**: 21 – 40.

Ward, S.S. y Stickland, N.C. (1991). Why are slow and fast muscles differentially affected during prenatal undernutrition. *Muscle & Nerve* **14** (3): 259-267.

Ward, S.S. y Stickland, N.C. (1993). The effect of undernutrition in the early postnatal period on skeletal muscle tissue. *British. J. Nut.* **69**: 141-150.

Wareham, C.A., Mahon, M., Bedi, S.K. y Smart, J.L. (1982). Early life undernutrition in rats 2.- some contractile properties of skeletal muscles from adult animals Br. J. Nutr. **47**: 433 – 437.

Westerga, J. y Gramsbergen, A. (1994). Development of the EMG of soleus muscle in the rat. Dev. Brain Res **80**: 233-243

White, P., Cattaneo, D. y Dauncey, M.J. (2000). Postnatal regulation of myosin heavy chain isoform expression and metabolic enzyme activity by nutrition. British J Nutr. **84**: 185-194.

Wilson, S. J., Ross , J.J. y Harris , A.J. (1988) . A critical period for formation of secondary myotubes defined by prenatal undernourishment in rats Development. **102**: 815 – 821

Williams, H.J. (1997) Contractil apparatus and sarcoplasmic reticulum function effects of fatigue and elevated Ca²⁺ . J. Appl. Physiol. **83** 444-450

Winick, M. y Noble, A. (1966). Cellular response in rats during malnutrition at various ages. J. Nutr **89**: 300 – 306

Wray Cahen, D., Nguyen, HV., Burrin, DG., Beckett, PR., Fiorotto, ML., Reeds, P.J. y Davis, T.A. (1998). Response of skeletal muscle protein synthesis to insulin in suckling pigs decreases with development. Am. J. Physiol, **275**: 4 Pt, E602-609

Zar, J. H. (1974). Biostatistical Analysis. Prentice-Hall. Eglewood Cliffs. New Jersey, U. S.A. 121-124.

Anexos

Tabla 1 Muestra los promedios y las desviaciones estándar del peso corporal y peso de los músculos EDL y soleo de ratas control y desnutridas.

Edad (días)	Peso corporal (g)	Peso del EDL (mg)	Peso del soleo (mg)
15 (d)			
Control	33.22 ± 0.70	0.011 ± 0.018	0.012 ± 0.0021
Desnutridos	20.19 ± 1.08	0.005 ± 0.009	0.006 ± 0.0022
25 (d)			
Control	78.37 ± 15.54	0.040 ± 0.017	0.027 ± 0.0033
Desnutridos	33.40 ± 4.15	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.0030
35 (d)			
Control	147.9 ± 17.9	0.064 ± 0.0083	0.067 ± 0.010
Desnutridos	37.4 ± 3.66	0.013 ± 0.0022	0.015 ± 0.0043
60 (d)			
Control	360.6 ± 18.7	0.158 ± 0.0079	0.15 ± 0.018
Desnutridos	108.0 ± 4.77	0.048 ± 0.0040	0.046 ± 0.007
90 (d)			
Control	493.0 ± 65.6	0.23 ± 0.026	0.152 ± 0.034
Desnutridos	175.3 ± 16.9	0.083 ± 0.015	0.071 ± 0.011

Media ± D.E

Tabla 2 Muestra los promedios y las desviación estándar de la relación twitch/tétano, y de la frecuencia de fusión en los músculos EDL y soleo.

Edad (días)	Frecuencia de fusión (EDL) (Hz)	Frecuencia de fusión (soleo) (Hz)	Twitch/tétano EDL (Hz)	Twitch/tétano soleo (Hz)
15 (d)				
Control	26.4 ± 5.56	15.0 ± 0	0.29 ± 0.88	0.28 ± 0.11
Desnutridos	21.8 ± 2.52	15.7 ± 1.88	0.35 ± 0.14	0.19 ± 0.05
25 (d)				
Control	30.7 ± 3.45	17.5 ± 2.63	0.34 ± 0.13	0.27 ± 0.18
Desnutridos	24.5 ± 3.50	16.4 ± 2.43	0.39 ± 0.13	0.20 ± 0.03
35 (d)				
Control	25.0 ± 3.77	17.14 ± 3.23	0.34 ± 0.094	0.20 ± 0.07
Desnutridos	21.8 ± 2.58	15.0 ± 0	0.39 ± 0.081	0.19 ± 0.03
60 (d)				
Control	18.0 ± 2.73	14.1 ± 2.0	0.45 ± 0.14	0.18 ± 0.05
Desnutridos	20.0 ± 0	13.5 ± 2.4	0.27 ± 0.05	0.26 ± 0.10
90 (d)				
Control	19.0 ± 2.10	11.8 ± 2.58	0.23 ± 0.04	0.14 ± 0.02
Desnutridos	20.9 ± 3.0	11.9 ± 2.53	0.29 ± 0.03	0.22 ± 0.08

Media ± D.E

Tabla 3 Muestra los promedios y la desviación estándar del tiempo al pico, tiempo de relajación de los músculos EDL y soleo control y desnutridos

Edad (días)	Tiempo al pico EDL (mseg)	Tiempo al pico Soleo (mseg)	Tiempo de relajación EDL (mseg)	Tiempo de relajación soleo (mseg)
15 (d)				
Control	23.3 ± 8.16	80.0 ± 11.5	259.9 ± 69.8	417.1 ± 113.9
Desnutridos	31.8 ± 13.2	71.42 ± 10.6	291.8 ± 59.1	422.8 ± 71.5
25 (d)				
Control	20.0 ± 0	58.0 ± 25.7	235.7 ± 66.2	453.3 ± 107.7
Desnutridos	20.0 ± 0	71.4 ± 15.7	262.8 ± 49.5	414.2 ± 53.8
35 (d)				
Control	33.3 ± 10.3	55.7 ± 17.8	230.0 ± 45.1	407.1 ± 95.9
Desnutridos	26.2 ± 7.4	86.1 ± 17.0	261.2 ± 46.2	503.0 ± 71.5
60 (d)				
Control	36.8 ± 7.0	57.3 ± 9.7	214.0 ± 41.1	369.0 ± 83.4
Desnutridos	36.3 ± 7.5	54.3 ± 10.6	236.6 ± 70.2	345.7 ± 55.9
90 (d)				
Control	40.1 ± 9.4	49.6 ± 3.4	208.1 ± 29.3	294.8 ± 77.3
Desnutridos	38.4 ± 9.9	69.3 ± 14.2	213.0 ± 49.3	402.0 ± 145

Media ± D.E.

Tabla 4 Muestra los promedios y la desviación estándar de la fuerza desarrollada durante la sacudida simple (twitch) y durante la sacudida tetánica (tétano) de los músculos EDL y soleo de controles y desnutridos

Edad (días)	Twitch EDL (Dinas / g)	Twitch Soleo (Dinas / g)	Tétano EDL (Dinas / g)	Tétano Soleo (Dinas / g)
15 (d)				
Control	75.9 ± 13.5	79.8 ± 20.5	267.9 ± 60.1	297.4 ± 98.5
Desnutridos	221.8 ± 75.9	67.3 ± 13.9	706.0 ± 293.0	349.7 ± 86.6
25 (d)				
Control	79.3 ± 11.9	87.8 ± 19.4	276.0 ± 158.7	404.3 ± 125.2
Desnutridos	236.7 ± 54.1	137.1 ± 26.8	635.0 ± 197.8	695.5 ± 182.4
35 (d)				
Control	134.3 ± 27.4	61.1 ± 16.1	415.1 ± 154.7	311.7 ± 104.6
Desnutridos	298.1 ± 80.6	127.2 ± 26.3	777.0 ± 283.8	669.5 ± 182.4
60 (d)				
Control	98.7 ± 26.1	50.6 ± 11.3	218.9 ± 24.2	257.8 ± 39.1
Desnutridos	124.8 ± 35	83.8 ± 9.8	467.0 ± 90.1	347.4 ± 94.7
90 (d)				
Control	100.7 ± 20.8	56.2 ± 8.4	426.1 ± 95.4	396.0 ± 86.7
Desnutridos	107.6 ± 23.1	92.8 ± 22.3	363.5 ± 47.8	429.6 ± 129

Media ± D.E.

Tabla 5 Muestra los promedios y la desviación estándar de la relación fuerza /edad y el porcentaje de fatigabilidad de los músculos EDL y soleo control y desnutridos.

Edad (días)	Fuerza / Edad EDL	Fuerza / edad Soleo	% fatigabilidad EDL	% fatigabilidad Soleo
15 (d)				
Control	0.83 ± 0.2	0.95 ± 0.2	73.6 ± 19.7	29.6 ± 7.2
Desnutridos	1.1 ± 0.4	0.42 ± 0.09	51.3 ± 13.1	36.3 ± 9.9
25 (d)				
Control	2.6 ± 0.9	2.36 ± 0.58	82.4 ± 11.9	38.7 ± 19.3
Desnutridos	2.7 ± 0.6	1.6 ± 0.52	51.5 ± 7.3	49.2 ± 32.7
35 (d)				
Control	8.5 ± 0.9	4.0 ± 1.0	82.6 ± 15.1	27.9 ± 16.9
Desnutridos	4.0 ± 1.3	2.0 ± 0.7	42.6 ± 21.6	25.6 ± 9.6
60 (d)				
Control	15.5 ± 3.8	7.6 ± 2.1	64.9 ± 8.8	4.0 ± 4.4
Desnutridos	5.8 ± 1.7	3.9 ± 0.9	53.8 ± 7.4	5.9 ± 4.0
90 (d)				
Control	23.1 ± 5.2	8.4 ± 2.1	63.3 ± 8.9	5.5 ± 4.7
Desnutridos	8.9 ± 2.2	7.1 ± 2.6	56.4 ± 11.1	4.2 ± 3.3

Media ± D.E