



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA DESNUTRICIÓN Y LA PRIMIPARIDAD SOBRE LOS TIPOS DE FIBRAS DEL  
MÚSCULO PUBOCOCCÍGEO DE LA RATA**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

PRESENTA

ARACELI MENDOZA QUINTANA

DIRECTOR: DOCTORA KENIA LÓPEZ GARCÍA

CODIRECTOR: DOCTORA ERIKA ELIZABETH RODRÍGUEZ TORRES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería  
Institute of Basic Sciences and Engineering  
Área Académica de Biología  
Biology Department

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO  
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR, UAEH

PRESENTE

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Biología **Araceli Mendoza Quintana**, quien presenta el trabajo recepcional de tesis intitulado **"Efecto de la desnutrición y la primiparidad sobre los tipos de fibras del músculo pubococcígeo de la rata"**, después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE:	Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzun
SECRETARIO	M en C. Mario Segura Almaraz
PRIMER VOCAL:	Dra. Iriana Leticia Zuria Jordan
SEGUNDO VOCAL:	Dra. Erika Elizabeth Rodríguez Torres
TERCER VOCAL:	Dra. Kenia López García
PRIMER SUPLENTE:	M. en C. María del Carmen González Rodríguez
SEGUNDO SUPLENTE:	Dr. Luis Fernando Rosas Pacheco

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi más atenta consideración.

ATENTAMENTE  
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"  
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 06 de diciembre de 2017

M. EN C. MAGDALENA MEZA SÁNCHEZ  
COORDINADOR ADJUNTO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA



Ciudad del Conocimiento  
Carretera Pachuca - Tulancingo km. 4.5  
Colonia Carboneras  
Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184  
Tel. +52 771 7172000 exts. 6640 y 6642, Fax 2112  
aab\_icbi@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi familia por todo el apoyo que me han brindado durante mi formación académica, gracias a su esfuerzo y dedicación he logrado concluir este proyecto.

Agradezco a mis directoras de tesis Dra. Kenia López García y Dra. Erika Elizabeth Rodríguez Torres por haberme guiado con tanta paciencia y motivación durante la realización de este proyecto de tesis, así mismo quiero agradecer al Dr. Ismael Jiménez Estrada por darme su apoyo y permitirme trabajar en su laboratorio en el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), de igual manera quiero agradecer a Q. B. I. Silvia Mariscal Tovar por el apoyo técnico brindado en el desarrollo experimental. Para el desarrollo de este proyecto se contó con el financiamiento de PROMEP-1006 (a ERT) y Premio Sofia Kovalévskaya (a ERT) y estancia postdoctoral (265483 a KLG).

Agradezco a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y a los profesores que formaron parte de mi desarrollo académico.

Quiero agradecer especialmente a Edith por haberme enseñado tanto, por motivarme y por todos los buenos y malos momentos que pasamos juntas.

Quiero agradecer a Gonzalo y Enrique por tanta paciencia y todo el apoyo que me brindaron durante el desarrollo de este proyecto.

Finalmente agradezco a mis amigos Anahí, Jaime y Lizeth por acompañarme y hacer más ameno el tiempo transcurrido en la universidad, por mantenernos unidos y trabajar juntos.

## Tabla de contenido

<i>Lista de tablas</i>	6
<i>Lista de Figuras</i>	7
<b>1. RESUMEN</b>	8
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	9
<b>3. ANTECEDENTES</b>	11
3.1. Músculo	11
3.2. Músculo esquelético	12
3.3. Clasificación de las fibras musculares	17
3.4. Plasticidad muscular	19
3.5. Efecto de la desnutrición sobre el músculo esquelético	23
3.6. Efecto de la paridad sobre los músculos esqueléticos del piso pélvico	25
3.7. Músculo pubococcígeo	27
<b>4. HIPÓTESIS</b>	28
<b>5. JUSTIFICACIÓN</b>	29
<b>6. OBJETIVO GENERAL</b>	29
<b>7. OBJETIVOS PARTICULARES</b>	30
<b>8. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	30
8.1. Animales	30
8.2. Análisis histoquímico	31
8.2.1.1 Histoquímica para NADH-TR	31
8.2.1.2 Histoquímica para ATPasa pH 9.4	31
8.3. Análisis de imágenes	32
8.4. Análisis estadístico	32
<b>9. RESULTADOS</b>	33
9.1. Parámetros Morfométricos	33
9.2. Histoquímica para ATPasa alcalina (pH 9.4)	34
9.3. Histoquímica para NADH-TR	36
<b>10. DISCUSIÓN</b>	39
10.1. Histoquímica para ATPasa alcalina en el mPc de la rata: paridad y desnutrición	39
10.2. Histoquímica para NADH-TR en el mPc de la rata: paridad y desnutrición	42
<b>11. CONCLUSIÓN</b>	44
<b>12. REFERENCIAS</b>	44

## Lista de tablas

<b>Tabla I.</b> Pesos y Número de ratas (N ) de los grupos Control (C), Desnutrido (D), Primípara (P), Primípara desnutrido (PD).....	<b>32</b>
<b>Tabla II.</b> Porcentaje de las fibras lentas, intermedias y rápidas en el músculo pubococcígeo (ATPasa pH 9.4.) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido. Los datos representan la media $\pm$ E.....	<b>33</b>
<b>Tabla III.</b> Tabla ANOVA de dos vías con interacciones para las fibras Lentas, Intermedias y Rápidas en el músculo pubococcígeo (ATPasa pH 9.4.) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido. .....	<b>34</b>
<b>Tabla IV.</b> Porcentaje de las fibras oxidativas y glucolíticas en el músculo pubococcígeo (NADH-TR) de los grupos control, desnutrido, primípara y primípara desnutrido. Los datos representan la media $\pm$ SEM. Anova de dos vías.....	<b>35</b>
<b>Tabla V.</b> Tabla ANOVA de dos vías con interacciones para las fibras Oxidativas y Glucolíticas en el músculo pubococcígeo (NADH-TR) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido.....	<b>36</b>

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Microfotografías de la organización celular de los tres tipos de músculos. Sección longitudinal (A) y transversal (B) de músculo esquelético compuesto por células multinucleadas alargadas y cilíndricas. La flecha de dos cabezas indica el diámetro; sección longitudinal (A) y transversal (B) de una fibra muscular estriada: C y D fibras de músculo cardíaco compuesto por células unidas de extremo a extremo por discos intercalados; sección longitudinal (E) y transversal (F) de músculo liso compuesto de haces de células fusiformes alargadas (Modificado de Henrikson, R.C et al., 1997). \_\_\_\_\_ 11
- Figura 2.** Representación esquemática de la composición del músculo esquelético. (Tomado de Wilmore y Costill, 2007). \_\_\_\_\_ 13
- Figura 3.** Microfotografía electrónica longitudinal de varias miofibrillas, mostrando sus estrias. (B) Representación esquemática de los filamentos gruesos de miosina y de los filamentos delgados de actina, responsables de la apariencia estriada (modificado de MacIntosh et al., 2006).  
\_\_\_\_\_ 15
- Figura 4.** Vista longitudinal típica de una célula satélite tal como aparece en la periferia de la fibra de músculo esquelético de la anticus tibialis de la rana X 10.000 (Modificado de Mauro 1961). \_\_\_\_\_ 19
- Figura 5.** Esquema de la miogénesis de células satélite (Modificado de Zammit et al., 2006).  
\_\_\_\_\_ 20
- Figura 6.** Ubicación anatómica del músculo pubococcígeo en la coneja (A), la rata hembra (B) y la mujer (C) (Tomado de Martínez-Gómez et al., 2012) \_\_\_\_\_ 26
- Figura 7.** Pesos de los grupos de ratas hembras en el estudio. Control (C), desnutrido (D), Primípara (P), Primípara desnutrido (PD). Los datos representan la media  $\pm$  S. E. M. ANOVA de una vía, post-hoc de Tukey. \*P <0.05, \*\*P <0.01, \*\*\*P <0.001. \_\_\_\_\_ 31
- Figura 8.** Porcentaje de las fibras lentas, intermedias y rápidas en el músculo pubococcígeo (ATPasa pH 9.4.) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido. Los datos representan la media  $\pm$  SEM. ANOVA de dos vías. \*p <0.05, \*\*p <0.01, \*\*\*p <0.001 \_\_\_\_\_ 33
- Figura 9.** Porcentaje de las fibras oxidativas y glucolíticas en el músculo pubococcígeo (NADH-TR) de los grupos control, desnutrido, primípara y primípara desnutrido. Los datos representan la media  $\pm$  E.E. Prueba t de Student. Diferencias significativas entre grupos \*p <0.05, \*\*p <0.01, \*\*\*p <0.001. \_\_\_\_\_ 35

## 1. RESUMEN

El tejido muscular estriado de la región pélvica es importante para el desarrollo de funciones reproductivas y fisiológicas como el embarazo, el parto y la micción en las hembras de mamíferos. Se ha documentado que factores intrínsecos, como la reproducción, y extrínsecos como la nutrición, pueden alterar la musculatura estriada, por una parte, el aumento de presión intra-abdominal asociada a la gestación puede provocar incontinencia urinaria de esfuerzo, así mismo la distensión de la musculatura estriada pélvica y perineal durante el parto se asocia a la aparición de incontinencia urinaria de estrés. Por otra parte, se ha comprobado que la desnutrición afecta de manera importante a este tejido. Considerando estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la restricción alimenticia y la experiencia reproductiva (gestación, parto y lactancia) sobre el músculo pubococcígeo (mPc), para esto se utilizó un modelo de restricción alimenticia y primiparidad (un parto) en el que se evaluaron los porcentajes de los tipos de fibras del mPc; y cómo éstas pueden ser alteradas por estos factores combinados.

Se utilizaron músculos pubococcígeos (mPc) de 4 grupos de ratas Wistar (*Rattus norvegicus*): control (C), desnutrido (D), primíparas control (PC) y primíparas desnutridas (PD). Los grupos desnutridos (D y PD) recibieron el 50% de la comida suministrada a los grupos controles. Los músculos fueron disectados y se obtuvieron cortes seriados de 10µm de grosor, para teñirlos con las técnicas histoquímicas de ATPasa básica (pH 9.4) y NADH-TR. Se tomaron microfotografías de las preparaciones para identificar los tipos de fibras con base a su coloración. Esto último para determinar los porcentajes de fibras en cada condición.

Los resultados muestran que la primiparidad y la desnutrición leve + primiparidad no modificaron significativamente el fenotipo de las fibras del músculo pubococcígeo; sin embargo, la desnutrición sí provocó un incremento significativo en el porcentaje de fibras rápidas (ATPasa). Los resultados del metabolismo de las fibras (NADH-TR) mostraron un incremento en el porcentaje de fibras glucolíticas en el grupo PD, mientras que en los grupos restantes no se observaron cambios. Esto sugiere que la desnutrición leve es capaz de alterar por si sola el fenotipo de las fibras que componen el mPc y la suma de los efectos de la paridad parecen amortiguar este efecto.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los movimientos de un organismo, como caminar, mover una extremidad del cuerpo y aquellos involucrados en la reproducción (ej. el parto) son mecanismos indispensables para todos los miembros del reino animal. Estos procesos son realizados mediante la contracción muscular, por lo tanto, el músculo es el tejido más abundante en la mayoría de los animales (Hill y Olson, 2012). Casi todos los sistemas del organismo están involucrados en la locomoción, pero la acción coordinada del sistema muscular, con ayuda del sistema nervioso, es la que produce los movimientos. Los huesos y las articulaciones no pueden moverse por ellos mismos sin ayuda del tejido muscular debido a las características de contractilidad, extensibilidad y elasticidad de este último (Parker y Kolthoff, 1977).

Las células que conforman al músculo esquelético se conocen como fibras, por su forma filiforme; sin embargo, poseen estructuras análogas a las demás células, pero con distinto nombre. El sarcolema es el nombre que se le da a la membrana plasmática de una fibra muscular y a su citoplasma se le conoce como sarcoplasma.

A diferencia de las células procariotas que no presentan un núcleo definido o las células eucariotas que generalmente presentan un solo núcleo, las fibras musculares pueden contener hasta varios miles de núcleos derivados de la fusión de mioblastos durante la vida fetal y postnatal. La mayor parte de estos están localizados en la periferia, así mismo, existen ciertas estructuras presentes en las fibras musculares esqueléticas y ausentes en las demás células. Por ejemplo, hay haces de fibrillas muy finas que se conocen como miofibrillas. Las miofibrillas a su vez están constituidas por fibras aún más finas denominadas filamentos gruesos de miosina y filamentos delgados de actina, ambos conforman los elementos básicos contráctiles de la fibra muscular (Parker y Kolthoff, 1977). De acuerdo a sus propiedades contráctiles y metabólicas, los tres principales tipos de fibras son: 1) Lentas, fibras resistentes a la fatiga de baja potencia mecánica y con metabolismo aeróbico muy activo; 2) Rápidas, fibras rápidamente fatigables con alta potencia mecánica y metabolismo predominantemente glucolítico; y 3) Rápidas intermedias, con fibras que combinan una alta potencia mecánica y resistencia a la fatiga (Blaauw *et al.*, 2013).



Los músculos presentan una variedad y equilibrio de estos tipos de fibras en su composición, la cantidad de fibras musculares y el porcentaje que representan en cada músculo vienen determinadas por una serie de factores complejos entre los que encontramos la genética, niveles hormonales y estímulos mecánicos (ej. el ejercicio), entre otros. Las fibras musculares son células sumamente dinámicas, capaces de cambiar sus características fenotípicas bajo varias condiciones, por ejemplo, la actividad neuromuscular alterada, la carga mecánica, modificaciones en los patrones hormonales (especialmente de las hormonas tiroideas) y la edad (Insua, 2003). La desnutrición temprana es otro factor, que además de modificar el peso muscular, se relaciona con cambios en las proporciones relativas de los tipos de fibras musculares (Toscano *et al.*, 2008). Esto debido a que el músculo esquelético es uno de los tejidos con mayor actividad metabólica, por lo cual resulta afectado debido a una alimentación deficiente en calidad o cantidad, asimismo es un tejido dependiente de la nutrición materna durante el desarrollo embrionario (Zhu *et al.*, 2006).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2005), la desnutrición es un problema grave de salud pública que se ha relacionado con un aumento sustancial en el riesgo de mortalidad y morbilidad (Spencer *et al.*, 2014). Una de las causas de este problema es que algunos individuos no cuentan con los suficientes nutrientes para que tengan un desarrollo adecuado en las etapas embrión/feto/niño, lo que conlleva a diversas alteraciones en los órganos y sistemas, en particular de glándulas como la tiroides (Ayala-Moreno *et al.*, 2013). Debido a la gravedad del problema, se han realizado diversos estudios con modelos de desnutrición, entre los cuales se encuentra Vázquez-Mendoza *et al.* (2017), quienes reportaron un aumento de fibras rápidas en los fascículos 2 y 4, así como una disminución de las fibras IIb en los fascículos 3 y 5 del músculo EDL de la rata joven desnutrida crónicamente. Asimismo, Howells *et al.* (1978) observaron un aumento en la proporción de fibras tipo IIb en el músculo tibial anterior, ambos trabajos fueron realizados en el modelo de la rata desnutrida en la etapa perinatal. Además de la desnutrición, el ejercicio y los niveles hormonales existen otros factores que pueden provocar modificaciones en el tejido muscular esquelético, entre estos factores se encuentra la experiencia reproductiva. Se ha encontrado que el daño estructural y neurológico durante el trabajo de parto contribuye a la disfunción del piso pélvico en la vida posterior (Snooks *et al.*, 1984; Allen *et al.*, 1990).

Lin *et al.* (1998) simularon el parto vaginal mediante la utilización de un globo dentro de la vagina de ratas durante cuatro horas y se les provocó un estornudo. Los resultados anatómicos, fisiológicos funcionales mostraron que 19 de 48 ratas presentaron incontinencia urinaria de esfuerzo. Por una parte, se observaron alteraciones en músculos del piso pélvico como el iliococcígeo (Icm) y el puborectalis (PRm), tales como la degeneración muscular, forma y tamaño irregulares en las fibras musculares y disminución significativa en la musculatura de la pared uretral. Por otra. Feola *et al* (2014) utilizando ultrasonidos 3D estudiaron la biomecánica de la vagina de la rata durante y después del parto, haciendo comparaciones entre diferentes fases del embarazo (14 y 18 días) y después del parto (7 y 30 días) respecto a un grupo control, encontrando que de todas las fases, la cavidad pélvica fue más distendida en el día 18 e iba aumentando gradualmente durante el embarazo; y al día 7 hubo una disminución rápida de la distensión de la vagina, la cual continuó hasta el día 30.

Como ya fue citado anteriormente, la desnutrición y la paridad provocan alteraciones sobre el músculo esquelético; sin embargo, se desconoce el efecto sumado de la desnutrición y la paridad sobre los músculos pélvicos importantes para el buen funcionamiento sexual y fisiológico como la micción. Para dilucidar los efectos de la combinación de los factores antes mencionados, se ha realizado la presente investigación utilizando el músculo pélvico Pc de ratas sometidas a protocolos de desnutrición y paridad (un parto). Se realizaron cortes histológicos seriados de mPc de ratas divididas en cuatro grupos, Control, Desnutrido, Primípara y Primípara desnutrido, posteriormente se les aplicaron las técnicas histoquímicas de ATPasa básica (pH 9.4) y NADH-TR, se obtuvieron microfotografías y se identificaron los tipos de fibras con base a su coloración para posteriormente determinar los porcentajes relativos.

### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1. Músculo**

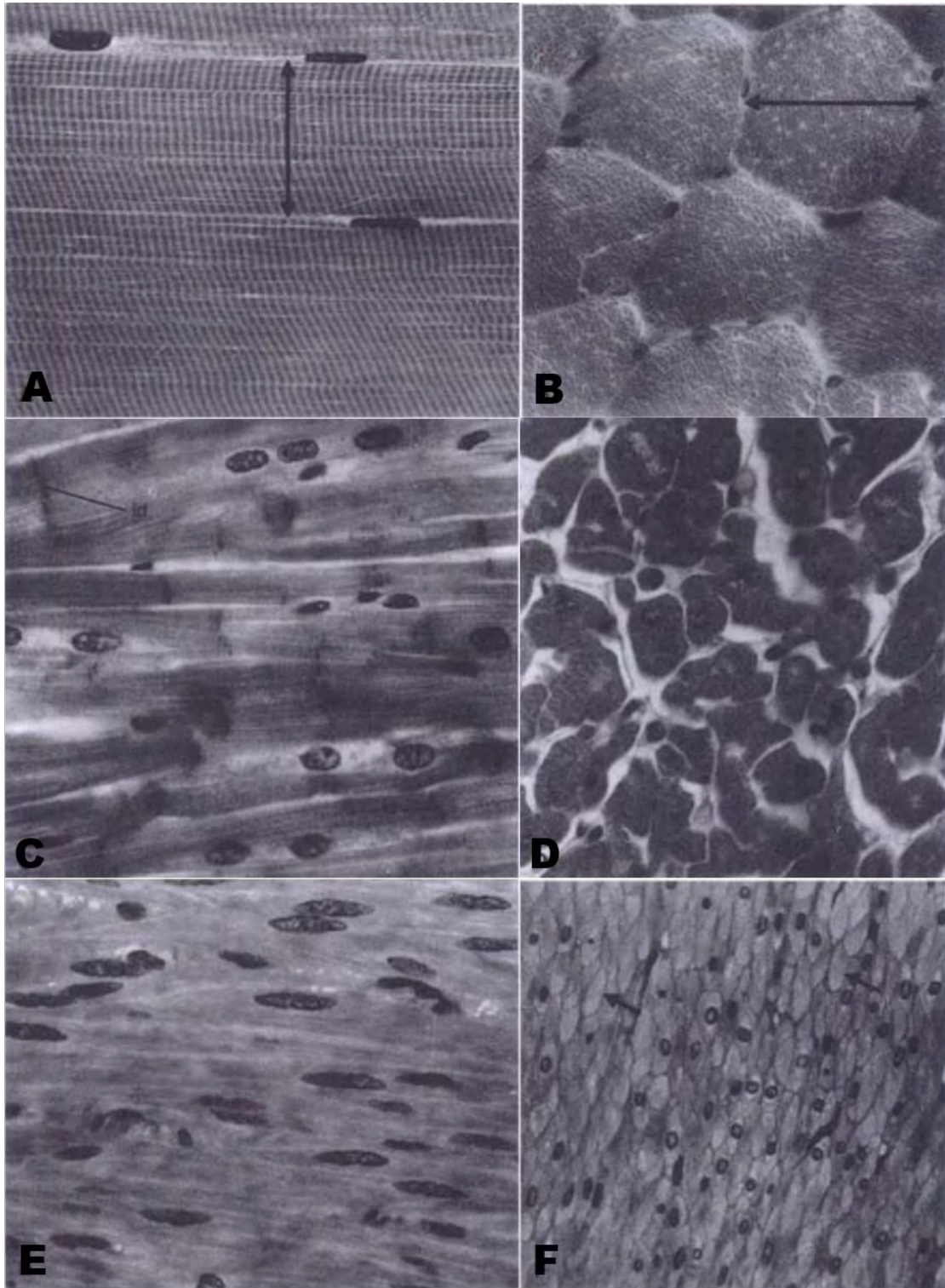
El músculo representa aproximadamente el 75% de la masa corporal y tiene una gran importancia debido a su gran repercusión en las actividades de la vida diaria (Lieber, 2004). Los músculos se clasifican desde un punto de vista funcional y morfológico en dos tipos principales, músculo liso y músculo estriado; el músculo estriado a su vez se subdivide en músculo esquelético y músculo cardíaco; sin embargo, el mecanismo por el

cual se contraen todos los músculos es casi idéntico y las mayores diferencias entre los distintos tipos se hallan en su organización celular (Randall *et al.*, 1989). Las células del músculo cardíaco son cortas y angostas con un único núcleo central y miden de 10-15  $\mu\text{m}$  de diámetro y 80-100  $\mu\text{m}$  de longitud; las células del músculo liso son alargadas y fusiformes de 0.2-2  $\mu\text{m}$  de diámetro y 10-200  $\mu\text{m}$  de longitud; por su parte, las células del músculo esquelético son grandes y alargadas con abundantes núcleos periféricos, miden de 10-100  $\mu\text{m}$  de diámetro y hasta 100 cm de longitud (Ross y Wojciech 2007).

### **3.2. Músculo esquelético**

El músculo esquelético representa alrededor del 40 al 45% del peso corporal, y es responsable del mantenimiento de la posición del cuerpo y del movimiento del esqueleto (Iglesias *et al.*, 2007). Aunque también contribuye en otros procesos, como en la regulación de la temperatura (MacIntosh *et al.*, 2006).

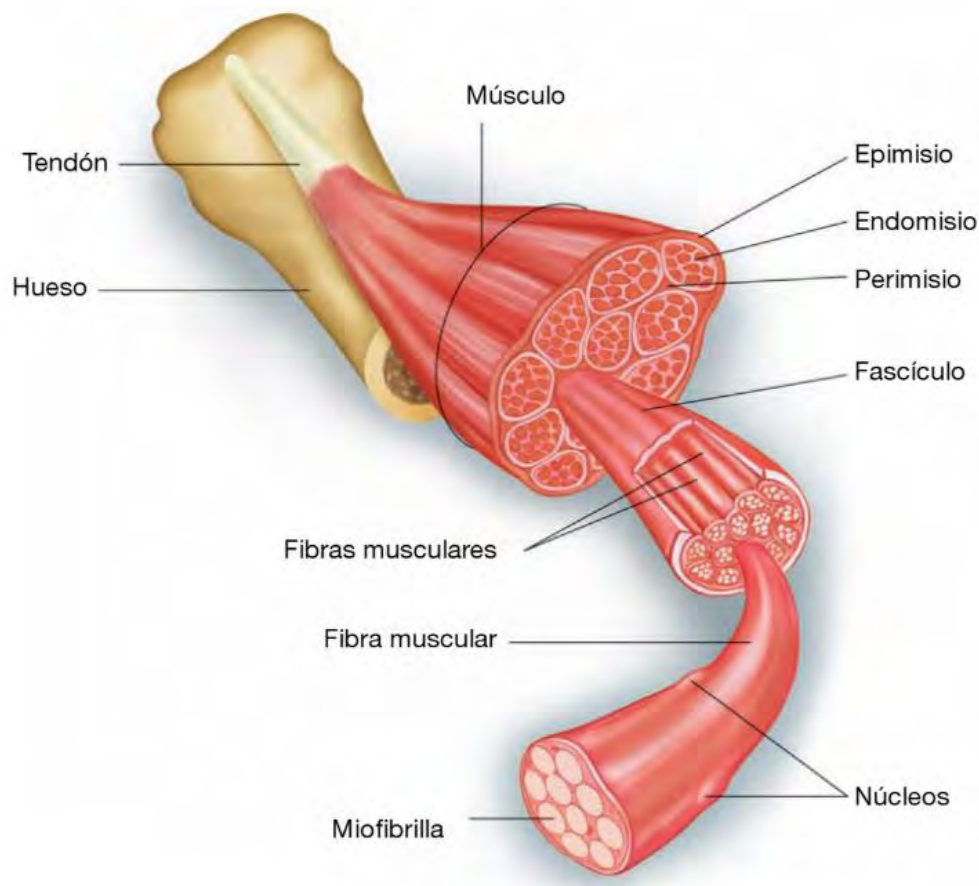
Los músculos esqueléticos son derivados de las somitas del embrión (células mesodérmicas), durante la miogénesis (formación del tejido muscular). Las somitas determinan la formación de mioblastos mediante dos proteínas que encienden el programa de desarrollo, estas proteínas son denominadas myoD y myf5, a medida que los mioblastos proliferan y migran se fusionan para formar miotubos (células multinucleadas), que posteriormente darán lugar a las fibras musculares que constituye el tejido muscular (Lodish *et al.*, 2005; MacIntosh *et al.*, 2006).



**Figura 1.** Microfotografías de la organización celular de los tres tipos de músculos. Sección longitudinal (A) y transversal (B) de músculo esquelético compuesto por células multinucleadas alargadas y cilíndricas. La flecha de dos cabezas indica el diámetro; sección longitudinal (A) y transversal (B) de una fibra muscular estriada: C y D fibras de músculo cardíaco compuesto por células unidas de extremo a extremo por discos intercalados; sección longitudinal (E) y transversal (F) de músculo liso compuesto de haces de células fusiformes alargadas (Modificado de Henrikson, R.C *et al.*, 1997).

Las fibras musculares estriadas se encuentran agrupadas en haces llamados fascículos, y están unidas unas a otras mediante una red de tejido conjuntivo llamado endomisio, el cual está compuesto de fibras de colágeno con diámetro de 20 a 60  $\mu\text{m}$  que transmite parte de la fuerza contráctil al tendón y a las fibras musculares adyacentes mediante las conexiones laterales entre las mismas. Los fascículos a su vez son separados por una membrana más dura y relativamente gruesa de tejido conjuntivo denominada perimisio, que provee el conducto para vasos sanguíneos y nervios que pasan por el vientre de músculo. Algunos de los haces grandes de colágeno se encuentran alrededor de los fascículos formando un patrón entrelazado. Por último, el epimisio es la capa de tejido conjuntivo particularmente dura que cubre la superficie entera del músculo y lo separa de otros músculos, esta capa contiene haces de fibras de colágeno con diámetro de 600 a 1800  $\mu\text{m}$ , el cual tiene una apariencia ondulada y está conectado al perimisio (Figura 1) (MacIntosh *et al.*, 2006; Wilmore y Costill, 2007).

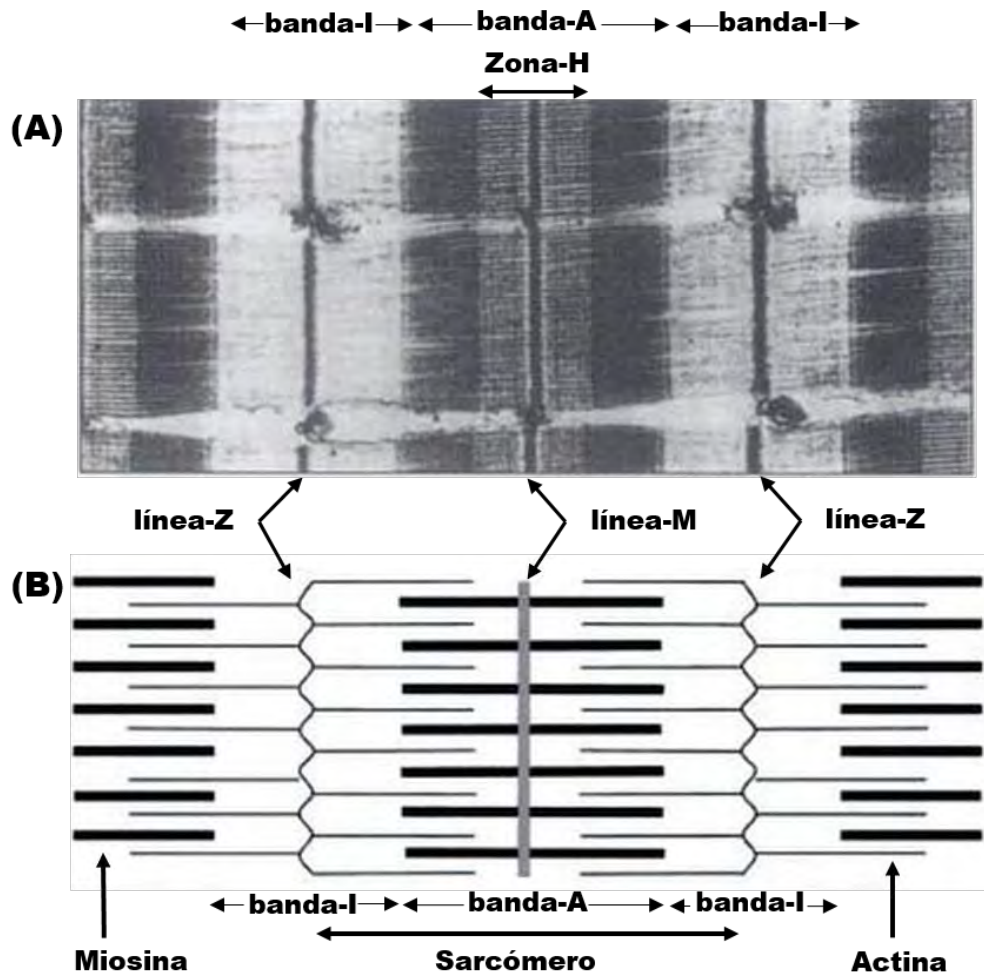
El tejido conjuntivo del músculo esquelético cumple tres principales funciones: 1) funciona como sostén sobre el cual las fibras musculares pueden agruparse: cuando se completa el desarrollo del músculo, el tejido conectivo sostiene las fibras musculares juntas y en gran parte determina la estructura del vientre del músculo; 2) el frágil tejido conjuntivo del perimisio provee un conducto para los vasos sanguíneos y nervios que abastecen a las fibras musculares y; 3) el tejido conjuntivo resiste el excesivo estiramiento pasivo del músculo y distribuye las fuerzas para minimizar el daño a las fibras musculares. Además, la elasticidad de las fibras de elastina y los haces ondulados de colágeno permiten que el vientre del músculo recupere su forma (Uitto, 1986), así mismo el tejido conjuntivo forma algunas estructuras del músculo, tales como los ligamentos y los tendones, estos últimos son cordones resistentes cuya función es transmitir la fuerza a los huesos, y al igual que los ligamentos mantienen al músculo unido a ellos (Alter, 2004).



**Figura 1.** Representación esquemática de la composición del músculo esquelético. (Tomado de Wilmore y Costill, 2007).

Cuando las fibras musculares son observadas en cortes transversales bajo el microscopio (Figura 2), cada fibra tiene una serie de estriaciones alternantes claras y oscuras. Las estriaciones claras son llamadas bandas I y las oscuras se denominan bandas A. A nivel miofibrilar se pueden observar más divisiones dentro de estas bandas, a la mitad de la banda I está la línea Z o disco Z y en el medio de la banda A está un área menos oscura, a la cual se le conoce como la zona H, esta zona está bisectada por la región M. La parte de la fibra entre los sucesivos discos Z es denominada sarcómero. Este patrón de alineamiento de bandas de cada miofibrilla a través de la fibra y entre fibras, le da al músculo esquelético su característica apariencia estriada. Proteínas específicas (actina y miosina) son responsables de la existencia de las bandas y las zonas entre cada sarcómero en las fibras musculares (MacIntosh *et al.*, 2006); las proteínas actina y miosina son las responsables de que las miofibrillas tengan bandas claras y oscuras alternas, lo que proporciona el aspecto estriado a las células (Guyton y Hall, 2011). Las miofibrillas se componen principalmente de cuatro tipos de proteínas: miosina, actina,

tropomiosina y el complejo de troponinas (Patton y Thibodeau, 2015). Las bandas I contienen filamentos delgados de actina ( $\alpha$ ), tropomiosina ( $\alpha$  y  $\beta$ ), troponina (C, T e I), mientras que las bandas A contienen filamentos gruesos de miosina (cadena pesada y cadena ligera y de unión de proteína C) y titina (larga y corta) (Sikorski, 2001). Los extremos de los filamentos de actina están unidos al denominado disco Z, desde este disco estos filamentos se extienden en ambas direcciones para interdigitarse con los filamentos de miosina (Figura 2). Cuando la fibra muscular está contraída la longitud del sarcómero es aproximadamente  $2 \mu\text{m}$ , cuando el sarcómero tiene esta longitud los filamentos de actina se superponen completamente con los filamentos de miosina y las puntas de los filamentos de actina están comenzado ya a superponerse entre sí, a esta longitud el músculo es capaz de generar su máxima fuerza de contracción (Guyton y Hall, 2011). Ha sido reportado en los humanos que las fibras musculares más largas miden alrededor de 35 cm, debido a que tienen la misma longitud del músculo al que pertenecen (Wilmore y Costill, 2001). El diámetro de la fibra es importante principalmente por dos razones: 1) el diámetro de la fibra muscular determina su fuerza, y; 2), cuando se observan diámetros de fibra alterados en el músculo maduro, esto sugiere que el nivel de uso del músculo ha cambiado, la longitud de la fibra tiene una profunda influencia en la velocidad de contracción y la distancia sobre la cual la fibra se puede contraer (MacIntosh *et al.*, 2006).



**Figura 2.** (A) Microfotografía electrónica longitudinal de varias miofibrillas, mostrando sus estrias. (B) Representación esquemática de los filamentos gruesos de miosina y de los filamentos delgados de actina, responsables de la apariencia estriada (modificado de MacIntosh *et al.*, 2006).

### 3.3. Clasificación de las fibras musculares

Inicialmente los músculos fueron clasificados como rápidos o lentos basados en la velocidad de contracción, esta división también correspondía a una diferencia morfológica. A los músculos con una coloración blanca se les consideraba como músculos de contracción rápida; y a los músculos con una coloración roja, debido a las altas cantidades de mioglobina, se les conocía como músculos lentos (Ranvier, 1873; Scott *et al.*, 2001). Excepciones a esta relación general entre "enrojecimiento" de un músculo y la velocidad de la contracción fueron más tarde reportados por Denny (1929). Investigaciones más recientes donde se han utilizado una variedad de técnicas histoquímicas han demostrado que la mayoría de los músculos esqueléticos están compuestos de diferentes tipos de fibras y que los músculos no pueden clasificarse simplemente como "rojo" o "blanco" (Edgerton y Simpson, 1969; Guth y Samaha, 1969).



Con el paso del tiempo se desarrollaron diferentes técnicas histoquímicas enzimáticas para la clasificación de las fibras musculares, uno de los primeros métodos se basó en la capacidad oxidativa incubando cortes histológicos transversales congelados del tejido muscular para la actividad de la deshidrogenasa succínica (SDH) (Dubowitz y Pearse, 1960), pero posteriormente se descubrió la relación proporcional entre la miosina ATPasa y la velocidad de acortamiento, a partir de este descubrimiento surgieron las clasificaciones basadas en la miosina (Bárány, 1967). Todas las miosinas tienen en común un dominio que interactúa con la actina, la miosina hidroliza el ATP y produce movimiento a través del mecanismo de puentes cruzados (Figura 2), este ciclo contráctil fue deducido a partir de los estudios cinéticos que han demostrado que Mg<sup>2+</sup>-ATP disocia velozmente el complejo actomiosina mediante la unión al sitio activo (ATPasa) de la miosina. La miosina libre hidroliza ATP y forma un complejo de productos de miosina, la actina se recombina con este complejo y disocia los productos formando de este modo el complejo actina-miosina originales y posteriormente se genera el último paso que es la fuerza (Eisenberg y Hill, 1985; Rayment *et al.*, 1993; Lodish *et al.*, 2005).

Las tres isoformas de miosina que fueron originalmente identificadas fueron MHC1, MHC IIa y MHC IIb. Actualmente se conocen siete tipos de fibras musculares humanas, identificadas con base en la miosina mediante la tinción histoquímica de ATPasa que son (de más lento a más rápido): los tipos I, CI, CII, IIAC, IIA, IIAB y II B (Wayne *et al.*, 2001). El sistema de clasificación más utilizado se basa en la actividad de la ATPasa de las cadenas pesadas de miosina, en la cual se ha encontrado una relación entre la intensidad de la tinción con las isoformas de las MHC (Pette y Staron, 1997), se realiza con pH ácido o pH alcalino y dependiendo de la intensidad de la tinción se clasifican en lentas (tipo I), intermedias (tipo IIa) y rápidas (tipo IIb) (Guth y Samaha, 1970). Otra clasificación se realiza con la caracterización del metabolismo utilizando enzimas de la cadena respiratoria como NADH tetrazolio reductasa (Nachlas *et al.*, 1958), citocromo C oxidasa (COX) (Seligman *et al.*, 1968) y succinato deshidrogenasa (SDH) (Nachlas *et al.*, 1957).

Los tipos de fibras puras se caracterizan por la expresión de una sola isoforma de MHC, mientras que el tipo de fibra híbrida expresan dos o más isoformas de MHC. La población de fibras de los músculos esqueléticos, por lo tanto, abarcan un continuo de tipos de fibras puras e híbridos. Bajo ciertas condiciones, los cambios pueden ser inducidos en la

expresión de MHC isoforma en la dirección de cualquiera de rápido a lento o lento a rápido (MHCII $\beta$   $\longleftrightarrow$  MHCIIa  $\longleftrightarrow$  MHCIIc  $\longleftrightarrow$  MHCIIb) (Pette y Staron, 2000).

### 3.4. Plasticidad muscular

El músculo esquelético de mamíferos es un tejido extremadamente heterogéneo, compuesto por una gran variedad de tipos de fibras. Estas fibras, sin embargo, no son fijas, sino que representan unidades altamente versátiles capaces de responder a las demandas funcionales y a una variedad de señales modificando su tamaño, composición, propiedades metabólicas y sus perfiles fenotípicos, a esta capacidad de las fibras para responder a variables ambientales y fisiológicas se le conoce como plasticidad muscular (Pette y Staron, 2001; Mounier *et al.*, 2015).

La plasticidad muscular es la base de las transiciones de tipo de fibra. La población de fibras de un músculo determinado se encuentra en un estado dinámico, en constante adaptación a las condiciones que se presentan. La gama completa de la capacidad de adaptación se extiende de rápido a lento. Sin embargo, ahora está claro que las transiciones de tipo de fibra no proceden en saltos inmediatos de un extremo a otro, es decir, se producen de una manera secuencial gradual y ordenada. A nivel molecular, los mejores ejemplos de estas transiciones graduales son intercambios de isoformas de proteínas miofibrilares. Para la cadena pesada de la miosina, esto implica una secuencia que va desde el más rápido (MhcIIb) hacia el más lento (MHCI) y viceversa (Pette y Staron, 2001). El ejercicio, por ejemplo, estimula profundas modulaciones de mecanismos celulares (Sánchez *et al.*, 2014). Por ejemplo, realizar repetidas sesiones de alta duración y baja intensidad contráctil (es decir, el ejercicio aeróbico) resulta en una mejora de la fatiga y resistencia, esto se debe en parte a un cambio en la densidad mitocondrial y capacidad oxidativa; en contraste, los episodios repetidos de exposición a fatiga intensa y alta intensidad contráctil (es decir, ejercicio anaeróbico de baja resistencia), induce a incrementar el área de la sección transversal de la fibra (Amy *et al.*, 2015).

La adaptación de las fibras musculares a las demandas funcionales modificadas, puede interpretarse como un proceso de ajuste del suministro de energía al gasto de energía, y viceversa. Consiste en cambios cuantitativos y cualitativos tanto a nivel molecular como celular y afecta los elementos del metabolismo energético y el aparato miofibrilar. Dependiendo de la calidad, intensidad y duración de la demanda funcional, el proceso

adaptativo puede restringirse a cambios en el metabolismo energético o puede extenderse a los principales sistemas de gasto de energía, el aparato miofibrilar y las bombas iónicas. Las alteraciones cuantitativas en los niveles de proteína miofibrilar conducen a cambios en el tamaño de la fibra, mientras que los cambios cualitativos en los patrones de isoforma de las proteínas contráctiles y reguladoras están relacionados con las transiciones de tipo de fibra (Burke *et al.*, 1971).

La plasticidad muscular puede ser diferenciada en dos: 1) cambios en la proporción de las fibras musculares (rápidas y lentas); y 2) cambio en el tamaño de las fibras (hipertrofia y atrofia) (Blaauw *et al.*, 2013). Algunas de las influencias exógenas y endógenas que pueden desencadenar el cambio en las propiedades fenotípicas de las fibras son: patrones de descarga de las neuronas motoras como la sobrecarga y descarga; actividad e inactividad y regulación hormonal (Pette y Staron 2001); sin embargo, se ha demostrado mediante la inervación cruzada que los fenotipos de las fibras musculares se encuentran bajo control neuronal (Buller *et al.*, 1960) los cambios que se producen en las fibras después de la reinervación cruzada se deben principalmente a patrones de impulso específicos administrados al músculo (Vrbova, 1963).

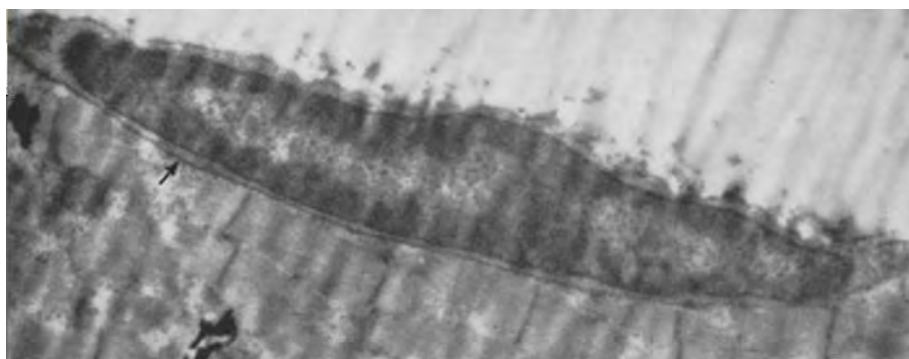
Los músculos esqueléticos poseen una capacidad considerable para cambiar su contenido mitocondrial en respuesta a niveles de actividad modificados. Los estudios pioneros de Holloszy (1967), Gollnick y King (1969) han demostrado que los perfiles de actividad de las enzimas involucradas en las rutas aerobias-oxidativas del metabolismo energético dependen del estado de entrenamiento del músculo. Debido a los aumentos en el contenido mitocondrial, el entrenamiento de resistencia a la oxidación mejora la resistencia a la fatiga.

Cuando el músculo esquelético es sometido a periodos de intensa actividad, el número de filamentos de actina y miosina aumentan provocando hipertrofia muscular dando lugar a un aumento en el tamaño de las fibras musculares individuales. La velocidad de síntesis de las proteínas contráctiles del músculo es mucho mayor cuando se está produciendo la hipertrofia lo que da lugar también a cantidades cada vez mayores de filamentos tanto de actina como de miosina en las miofibrillas aumentando hasta un 50%. Otro tipo de hipertrofia se produce cuando los músculos son distendidos hasta una longitud mayor a la normal. Esto hace que se añadan nuevos sarcómeros en los extremos de las fibras musculares donde se unen a los tendones, por el contrario, cuando un músculo

permanece acortado a una longitud menor que su longitud normal de manera continua los sarcómeros de los extremos de las fibras musculares pueden llegar a desaparecer (Hernández, 1999).

Cuando un músculo no se utiliza durante muchas semanas, la velocidad de disminución de las proteínas contráctiles es mucho más rápida que la velocidad de sustitución, por tanto, se produce atrofia muscular. En la fase final de la atrofia por denervación la mayor parte de las fibras musculares son destruidas y sustituidas por tejido fibroso y adiposo (Guyton y Hall, 2006.). Sin embargo, las fibras musculares pueden regenerarse después de una lesión en respuesta a diversos estímulos incluyendo las hormonas y el ejercicio (Stefano y Partridge, 2008.).

Para que el músculo pueda llevar a cabo la recuperación y regeneración de las lesiones es necesaria la intervención de las células satélite. Estas son células progenitoras del músculo esquelético, responsables del crecimiento y reparación posnatal (Montarras *et al.*, 2005). El descubrimiento en 1961 de las células satélite por Mauro A. (Figura 3) representó un paso importante en el estudio de la respuesta adaptativa humana al ejercicio, durante muchos años después de su descubrimiento, la microscopía electrónica era el único método de identificación. Recientemente se han encontrado varios marcadores moleculares tales como N-CAM/CD56/Leu-19, M-Cadherina y Pax-7 para detectar células satélites, haciéndolas más accesibles para su estudio con el microscopio óptico (Olguin *et al.*, 2004; Irintchev *et al.*, 1994; Covault J *et al.*, 1986).



**Figura 3.** Vista longitudinal típica de una célula satélite tal como aparece en la periferia de la fibra de músculo esquelético de la anticus tibialis de la rana X 10.000 (Modificado de Mauro 1961).

Muchos estudios documentan el comportamiento de las células satélite “in vitro”, así como los procesos de regeneración y sobrecarga en musculatura animal, además de su uso en

terapia celular. Mauro denominó a estas células precursoras “células satélite” por su localización en la periferia de las fibras esqueléticas maduras entre la lámina basal y el sarcolema (Montarras *et al.*, 2005).

Hay dos tipos de célula satélite:

- a) Células satélite inactivas: son mononucleares, se caracterizan por tener un espacio nuclear-citoplasmático grande con pocos orgánulos (Grau *et al.*, 2007).
- b) Células satélite activas: Tras la activación, las células satélite son más fácilmente identificables porque morfológicamente se observan como un abultamiento en la miofibra con procesos citoplasmáticos que se extienden a uno o a los dos polos de la célula (Grau *et al.*, 2007).

Las células satélite quiescentes en el músculo adulto normal pueden ser activadas por algún daño muscular, una vez activadas, las células satélite se dividen para producir mioblastos que proliferan para posteriormente formar miotubos que maduran en miofibras (Figura 4) (Zammit *et al.*, 2006).



**Figura 4.** Esquema de la miogénesis de células satélite (Modificado de Zammit *et al.*, 2006).

Así como el ejercicio puede modificar el tamaño de las fibras musculares (atrofia e hipertrofia) existen otros factores capaces de modificar la plasticidad del músculo esquelético, tales como los factores hormonales. Los patrones hormonales alterados se dan principalmente a causa de las hormonas tiroideas que son fundamentales en la homeostasis de varios tejidos incluyendo el músculo esquelético. La acción genómica de estas hormonas mayormente depende de la biodisponibilidad de triyodotironina (T3) y de la distribución de las isoformas del receptor tiroideo que actúan como factores de transcripción, los cuales son modulados por T3 (Pérez-Machado, 2006).

Se ha demostrado que las hormonas tiroideas son una de las principales causas que pueden provocar el cambio en la expresión de isoforma de miosina (MHC) (Pette y Staron, 2001). Así mismo ha sido demostrado que el hipotiroidismo causa una transición de fibras rápidas a lentas, mientras que el hipertiroidismo provoca que las fibras pasen de lentas a rápidas.

Se ha comprobado en el músculo masetero y temporal de cobaya que la testosterona también tiene un efecto significativo sobre la composición de los tipos de fibras.

Las diferencias hormonales, especialmente la testosterona, también pueden contribuir a las diferencias de género en tamaños específicos de tipo de fibra que finalmente afectan las concentraciones relativas de isoformas de MHC, por ejemplo, el músculo elevador del ano de la rata desaparece durante el desarrollo de la hembra, pero puede mantenerse mediante la administración de testosterona (Pette y Staron, 2000).

La desnutrición es otro factor que puede alterar la expresión de mecanismos intrínsecos que están implicados en la transformación de la fibra (Brozanski *et al.*, 1991; Fiaccadori *et al.*, 1995; White *et al.*, 2000). Se ha asumido que la desnutrición prenatal o postnatal temprana induce un aumento en la proporción relativa de fibras de tipo I y disminuye el número de fibras de tipo II que conlleva un retraso en la maduración muscular, sin embargo, algunas modificaciones en la plasticidad muscular durante la desnutrición pueden estar dadas por factores hormonales, debido a que la desnutrición también puede alterar el correcto funcionamiento de la glándula tiroides (Izumo *et al.*, 1986; Mahdavi *et al.*, 1987; Ayala *et al.*, 2013; Johnsen *et al.*, 2013 ). La experiencia reproductiva es otro factor que puede modificar la plasticidad del músculo esquelético, puesto que se ha encontrado que el daño estructural y neurológico durante el trabajo de parto contribuye a la disfunción de los músculos del piso pélvico en la vida posterior (Snooks *et al.*, 1984; Allen *et al.*, 1990). Esto ha sido relacionado en varios estudios con el desarrollo de patologías como la incontinencia urinaria de esfuerzo (Ashton, 2007; Huang *et al.*, 2013).

### **3.5. Efecto de la desnutrición sobre el músculo esquelético**

La desnutrición es un trastorno del equilibrio entre la ingesta de alimentos y las necesidades individuales provocado por una absorción alterada de nutrientes, una disminución de la ingesta, una pérdida elevada de nitrógeno y otros nutrientes o una

situación clínica de hiper-metabolismo. Si este desequilibrio se prolonga, se produce un trastorno de la composición corporal caracterizado por un exceso de agua extracelular, déficit de potasio, masa muscular y tejido adiposo (García, 2006). Cuando ocurre una disminución del aporte alimentario, el cuerpo humano se adapta a través de una reducción de la actividad física, de los órganos, de los tejidos o de las células. Paralelamente las reservas energéticas (músculo y grasa) se metabolizan para responder a las necesidades vitales, resultando en una pérdida de peso debido a la desaparición de masa muscular y tejido adiposo, mientras que los órganos vitales son preservados. A mayor pérdida de masa muscular y de tejido adiposo, menor es la probabilidad de sobrevivir, debido a que la musculatura al ser uno de los tejidos metabólicamente más activos e indispensable para el control motriz, es seriamente afectado por la desnutrición (Zhu *et al.*, 2006; Prudhon, 2002). Aunado a esto último, la desnutrición afecta principalmente a los tejidos sensibles a la insulina dentro de los que encontramos el músculo esquelético. Sin embargo, los efectos de la desnutrición son más severos en etapas perinatales, debido a que durante esta etapa se llevan a cabo los procesos de crecimiento y maduración de los tejidos y células, por lo cual los órganos y/o sistemas en el organismo son vulnerables a sufrir alteraciones bajo ciertas condiciones (Ihemelandu, 1985; Zhu *et al.*, 2006).

Así, la nutrición de una madre puede afectar el crecimiento y desarrollo fetal directamente a través de la disponibilidad de nutrientes para la transferencia al feto e implicando parámetros metabólicos tales como glucosa e insulina. Se ha comprobado que el deterioro del desarrollo del músculo esquelético fetal, como resultado de la desnutrición materna, predispone al músculo esquelético de la descendencia a la resistencia a la insulina (Toscano *et al.*, 2008). Debido a esto, se han realizado diversas investigaciones sobre los efectos de la desnutrición sobre el músculo esquelético, específicamente sobre las fibras musculares; se ha asumido que una restricción dietética puede alterar la expresión de mecanismos intrínsecos que están implicados en la transformación de la fibra y la producción de energía de los músculos mayormente constituidos por fibras rápidas comparadas con las compuestas por fibras lentas. Algunos estudios han indicado que la desnutrición pre- y postnatal temprana inducen un aumento en la proporción relativa de fibras de tipo I, pero disminuye el número de fibras de tipo II, causando un retraso en la maduración muscular (Brozanski *et al.*, 1991; White *et al.*, 2000; Vázquez *et al.*, 2017).

Otros estudios han demostrado un aumento de la actividad glucolítica y de las enzimas glucolíticas acompañadas por una disminución de la capacidad oxidativa y de las enzimas oxidativas en el músculo gastrocnemio de ratas adultas como resultado de la desnutrición postnatal (Raju, 1975).

Además del cambio en el fenotipo de las fibras a causa de la desnutrición, estudios previos han sugerido que la pérdida de proteínas tisulares está asociada con la reducción del peso muscular de los animales y con la disminución en el área y volumen de las fibras (hipotrofia) o una reducción del número total de fibras (hipoplasia) (Rowe, 1968).

### **3.6. Efecto de la paridad sobre los músculos esqueléticos del piso pélvico**

El piso pélvico es conocido como levator ani (LA) y está conformado por los músculos pubococcígeo (Pcm), puborectalis (PRm) e iliococcígeo (Icm) (Dietz y Shek, 2008), estos músculos tienen la función de dar soporte a las vísceras pélvicas como la vejiga y la uretra (Li *et al.*, 2010). Se ha demostrado que los trastornos del piso pélvico resultan en incontinencia urinaria (IU) e incontinencia fecal, estos desordenes afectan la calidad de vida de un gran número de mujeres de todas edades en todo el mundo (MacLennan *et al.*, 2000) asociados al parto y el envejecimiento. En un experimento utilizando a la coneja doméstica como modelo para evaluar los efectos de la experiencia reproductiva sobre la estructura de los músculos pélvicos y perineales importantes para procesos fisiológicos como la micción, López-García *et al.* (2016) demostraron que la multiparidad (cuatro partos consecutivos) daña los músculos pélvicos como el Pc y perineales como el bulboesponjoso (Be), lo cual coincide con la disminución de su fuerza contráctil (Fajardo *et al.*, 2008) y la modificación en sus patrones de activación durante las etapas de micción (Martínez-Gómez, 2011). Esto último, está relacionado con cambios en los fenotipos y metabolismo que componen los músculos Pc y Be en la coneja múltipara (López-García *et al.*, 2016).

Aunque la IU no es un proceso de riesgo vital, sí limita la autonomía y reduce la autoestima, provocando una mayor afectación de la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) que aquella provocada por enfermedades crónicas como la diabetes o la hipertensión arterial (Robles, 2006).



Desde un punto de vista sintomático y de acuerdo con las directrices de la Sociedad Internacional de Incontinencia (ICS), la IU puede clasificarse en tres diferentes tipos:

- **Incontinencia urinaria de esfuerzo:** la IU de esfuerzo (IUE) representa la pérdida involuntaria de orina que ocurre cuando la presión intravesicular excede la presión uretral máxima en ausencia de una contracción del músculo detrusor. Es generalmente aceptado que la condición resulta del desplazamiento anatómico de la unión uretrovesicular y de la uretra proximal fuera de su locación intrapélvica normal sobre el diafragma urogenital (Bump *et al.* 1988)
- **Incontinencia urinaria de urgencia:** La IU de urgencia (IUU) es la pérdida involuntaria de orina acompañada o inmediatamente precedida de urgencia. Esta sensación de urgencia es consecuencia de una contracción involuntaria del detrusor vesical. Cuando estas contracciones involuntarias se ponen de manifiesto en un estudio urodinámico se denomina detrusor hiperactivo, cuya causa puede ser una enfermedad neurológica (hiperactividad del detrusor neurogénica) o sin causa detectable (hiperactividad del detrusor idiopática).
- **La incontinencia urinaria mixta:** (IUM) es la percepción de pérdida involuntaria de orina asociada tanto a urgencia como al esfuerzo. Se estiman en 30-40% las mujeres con IU que tienen síntomas de IUM (Robles, 2006).

Para solucionar el problema de la incontinencia urinaria se utiliza generalmente la farmacoterapia, que es en general satisfactoria, pero con duración de corto plazo. El tratamiento quirúrgico parece ser la mejor opción para lograr la continencia a largo plazo. Sin embargo, la cirugía para la IUE como el cabestrillo uretral es un procedimiento que a veces causa micción postoperatoria con dificultad y una tasa de curación limitada.

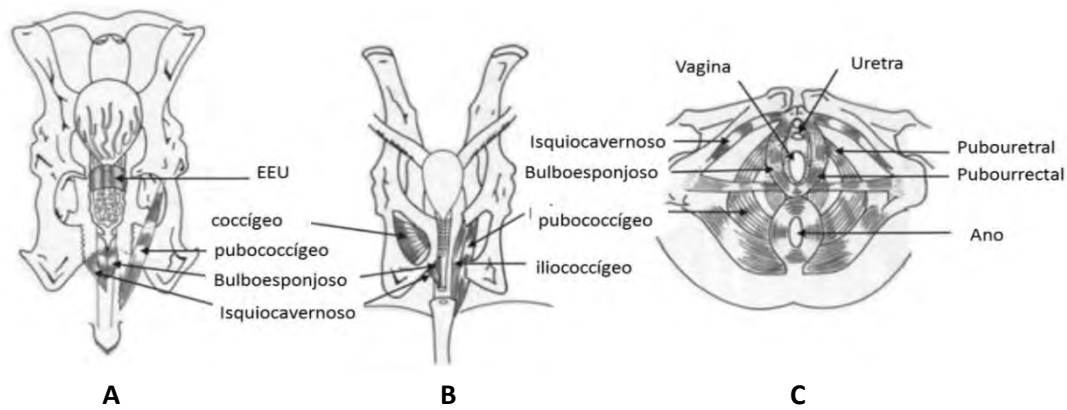
La ingeniería de tejidos utilizando células madre es un área de investigación activa que pueden presentar emocionantes opciones de tratamiento para la IUE. Por lo tanto, las células madre derivadas del tejido adiposo (ADSC) se consideran beneficiosas para la aplicación clínica debido a su gran número en el tejido adiposo y la relativamente baja incidencia de interferencia quirúrgica en su extracción en comparación con otras células madre derivadas (Lin *et al.*, 1998).

El parto vaginal es un factor de riesgo para todos los músculos del piso pélvico debido al papel que desempeñan de soporte estructural en la pelvis, sin embargo, el mPc es el músculo más afectado, puesto que al ser el componente más corto y medial del piso pélvico se modifica por el exceso de estiramiento, lo cual comúnmente resulta en la pérdida permanente de la función muscular (Brooks *et al.*, 1995; Lien *et al.*, 2004). Esto fue demostrado por Lien *et al.* (2004) quienes mediante imágenes seriales de resonancia magnética de una mujer nulípara sana de 34 años, construyeron un modelo estructural de los músculos elevadores del ano y cuantificaron el estiramiento de los músculos del piso pélvico durante la segunda etapa del trabajo de parto, en la cual la cabeza del feto pasa por los músculos elevadores del ano, y observaron que el músculo pubococcígeo medial experimenta el mayor estiramiento y por lo tanto está en mayor riesgo de lesiones relacionadas con el estiramiento que los demás músculos del piso pélvico (Lien *et al.*, 2004).

### **3.7. Músculo pubococcígeo**

El mPc es uno de los músculos más importantes del suelo pélvico, tiene una conexión nerviosa que alcanza el nervio pélvico (del sistema parasimpático que conlleva la contracción del detrusor) una ramificación que conecta el útero y la vejiga (García *et al.*, 2005). Además de estar involucrado en el soporte de las vísceras pélvicas, también participa en el proceso de micción. En ratas se ha demostrado que el mPc es activado durante la fase de vaciado, en la cual la orina es expulsada de la vejiga, en conejas este músculo es activado, contrariamente, durante la fase de almacenamiento de la orina (Figura 5) (Martínez-Gómez *et al.*, 2012), al igual que en la mujer.

Debido a las afecciones de los músculos del suelo pélvico provocadas por la paridad, se han realizado estudios a nivel de fibras musculares para determinar los cambios que ocasionan. Tal es el caso de López-García (2016), quien demostró que la multiparidad (cuatro partos consecutivos) modifica la composición de las fibras musculares de los músculos pélvicos (mPc) y perineales (mBe) en la coneja, asimismo han reportado una disminución de la fuerza (Fajardo *et al.*, 2008) y una modificación en sus patrones de activación durante las etapas de micción (Martínez-Gómez *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Ubicación anatómica del músculo pubococcígeo en la coneja (A), la rata hembra (B) y la mujer (C) (Tomado de Martínez-Gómez *et al.*, 2012).

En algunos casos las mujeres que se embarazan a temprana edad, se provocan a sí mismas problemas nutricionales al dejar de alimentarse adecuadamente para que el embarazo no sea notorio, lo que conlleva a una madre desnutrida. La desnutrición es un problema grave a nivel mundial, sobre todo en países poco desarrollados, en estos países las mujeres se embarazan pese a su condición de desnutrición, lo que implica consecuencias tanto a la mujer como al feto, sobre todo a este último, debido a que los problemas nutricionales en las etapas embrión/feto/niño, conllevan a diversas alteraciones en los órganos y sistemas, en particular la tiroides (Ayala-Moreno *et al.*, 2013),

Por lo anterior, en el presente estudio se ha investigado el efecto conjunto de la desnutrición y la paridad en las fibras del músculo pubococcígeo de la rata, el cual es el músculo más afectado durante la segunda etapa del parto de acuerdo a Lien *et al.* (2004).

#### 4. HIPÓTESIS

La desnutrición afectará el porcentaje de fibras lentas, intermedias y rápidas provocando un aumento en el porcentaje de fibras lentas y una consecuente disminución de fibras rápidas, así como un aumento del metabolismo glucolítico.

La primiparidad modificará los porcentajes de los diferentes tipos de fibras (lentas, intermedias y rápidas) generando un aumento en el porcentaje de fibras intermedias y del metabolismo glucolítico en el mPc.

La desnutrición y la primiparidad, en conjunto modificarán los porcentajes de las fibras lentas, intermedias y rápidas, aumentando significativamente el porcentaje de fibras lentas y el metabolismo oxidativo.

## 5. JUSTIFICACIÓN

La incontinencia urinaria es un problema a nivel mundial que afecta la calidad de vida de un gran número de mujeres (17% al 45% de las mujeres adultas), esta afección se debe a trastornos del suelo pélvico asociados al parto y el envejecimiento (Robles, 2006). El parto vaginal es un factor de riesgo para todos los componentes del piso pélvico, sin embargo, el músculo pubococcígeo (mPc) es el más afectado, puesto que al ser el componente más corto y medial del piso pélvico se modifica por el exceso de estiramiento, lo cual comúnmente resulta en la pérdida permanente de la función muscular (Brooks *et al* 1995; Lien *et al.*, 2004). Por una parte, se ha demostrado que con partos múltiples los porcentajes de los tipos de fibras se ven afectados en el músculo bulboesponjoso (mBe) de la coneja, el cual tiene la misma función que el mPc en rata (López-García *et al.*, 2016); sin embargo, no se han hecho estudios acerca del efecto de un solo parto sobre el porcentaje de los tipos fibras del músculo pubococcígeo en rata. Por otra, la desnutrición también es un factor que altera la musculatura estriada modificando los porcentajes de los tipos de fibras (Vázquez *et al.*, 2017). Teniendo en cuenta los efectos de ambos factores y su combinación en países poco desarrollados, en los cuales las mujeres se embarazan pese a su condición de desnutrición, lo que implica consecuencias tanto a la mujer como al feto, sobre todo a este último, debido a que los problemas nutricionales en las etapas embrión/feto/niño, que conllevan a diversas alteraciones en los órganos y sistemas (Ayala-Moreno *et al.*, 2013), en este trabajo se pretende evaluar el efecto de estos factores sobre los porcentajes de los tipos de fibras del músculo pubococcígeo en la rata hembra.

## 6. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la desnutrición, la primiparidad y la combinación de ambos factores (desnutrición + primiparidad) sobre los porcentajes de las fibras del músculo pubococcígeo en la rata hembra mediante la aplicación de técnicas histoquímicas.

## **7. OBJETIVOS PARTICULARES**

En el músculo pubococcígeo de la rata hembra:

1. Determinar el efecto de la desnutrición y la primiparidad sobre el porcentaje de fibras lentas, intermedias y rápidas utilizando la técnica de la ATPasa. Así como el efecto de los factores desnutrición + primiparidad.
2. Determinar el efecto de la desnutrición y la primiparidad sobre el porcentaje de fibras glucolíticas y oxidativas utilizando la técnica de NADH-TR. Así como el efecto de los factores desnutrición + primiparidad.

## **8. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **8.1. Animales**

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con los lineamientos contenidos en la Guía para el cuidado y uso del laboratorio (National Research Council, 2010; National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA; Animal Welfare Assurance #A5036-01). Los protocolos con animales fueron aprobados por el Comité de Bioética Institucional para el Cuidado y Manejo de Animales de Laboratorio (Protocolo UPEAL 013-02, CINVESTAV).

Se utilizaron ratas Wistar divididas en cuatro grupos: control (C, n= 5), desnutrida (D, n= 6), primípara (P, n= 6) y primípara desnutrida (PD, n= 5). Los grupos no desnutridos (C y P) tuvieron acceso ad libitum a comida comercial (Formulab 5008, Lab diet, USA) durante todo el periodo experimental. Los grupos desnutridos (D y PD) recibieron el 50% de la comida suministrada a los grupos control; los grupos P y PD fueron apareadas a los 7 meses de edad y posterior al parto cada grupo tuvo 30 días de lactancia. Todos los grupos tuvieron acceso ilimitado al agua y fueron alojados bajo las mismas condiciones ambientales del ciclo luz/oscuridad y temperatura (22-24 °C).

Las hembras primíparas fueron anestesiadas para disección 10 días después del destete con uretano (i.p) para realizar la disección del músculo pubococcígeo. Posterior a la disección fueron sacrificadas con una sobredosis del mismo anestésico.

## **8.2. Análisis histoquímico**

Los músculos pubococcígeos disectados fueron pesados, removidos y sumergidos en 2-metilbutano, para ser congelados con nitrógeno líquido. Se obtuvieron series de cortes transversales de un grosor de 8  $\mu\text{m}$  en un criostato a  $-25^{\circ}\text{C}$ . Estos cortes histológicos fueron montados en un portaobjetos para su posterior tinción (ver a continuación).

### **8.2.1.1 Histoquímica para NADH-TR**

Para determinar el tipo de metabolismo se siguió el método modificado de Nachlas *et al.* (1958). Los cortes de músculo se incubaron 1 hora a  $37^{\circ}\text{C}$  en una solución 1:1 (v/v) de NBT-NADH (1.2 mM nitroazil de tetrazolio) diluido en 50 mM de buffer Tris, pH 7.6; y de NADH (2.25 mM de nicotinamida adenina dinucleótido) diluido también en 50 mM de buffer Tris. Posteriormente, los cortes histológicos se lavaron tres veces con agua destilada. El exceso de la solución NBT-NADH se removió lavando los cortes con concentraciones ascendentes de acetona (30, 60 y 90 %). Finalmente, las preparaciones fueron montadas con gelatina y un cubreobjetos para su posterior análisis.

### **8.2.1.2 Histoquímica para ATPasa pH 9.4**

En cortes seriales subsecuentes de tejido, la actividad miofibrilar de la ATPasa a pH 9.4 fue visualizada usando la técnica de la ATPasa alcalina (modificado de Guth y Samaha, 1970). Los cortes de músculo se sumergieron en una solución de pre-incubación de 0.01 M de Tris base y 0.018 M de  $\text{CaCl}_2$  (pH 9.4) por 20 minutos. Las muestras se lavaron tres veces por 5 minutos con agua desionizada y posteriormente se incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  por 1 hora en 1.5% p/v de adenosin-5'-trifosfato en una solución de pre-incubación a pH 9.4. Posteriormente las muestras fueron incubadas en 2% de  $\text{CaCl}_2$  por 5 minutos, se transfirieron a una solución 2% p/v de  $\text{CoCl}_2$  por otros 5 minutos, se lavaron con agua destilada y se transfirieron a una solución 10% v/v de  $(\text{NH}_4)_2\text{HSO}_4$  por 3 minutos para su revelado. Posteriormente los cortes histológicos se lavaron, deshidrataron con concentraciones ascendentes de etanol y se montaron con gelatina y un cubreobjetos.

### **8.3. Análisis de imágenes**

Se tomaron microfotografías de cada sección de músculo mediante una cámara digital montada en un microscopio de luz (NIKON) y se reconstruyeron las imágenes del corte completo utilizando photoshop (CS4, USA). Las fibras en los cortes de músculo teñidos por la técnica NADH-TR se clasificaron de acuerdo al siguiente criterio: las fibras oscuras se identificaron como oxidativas; mientras que las claras se consideraron como glucolíticas. Utilizando la técnica de la ATPasa alcalina (pH 9.4), las fibras claras, grises y oscuras se identificaron como lentas tipo I, rápidas tipo IIb e intermedias tipo IIa/IIb, respectivamente (Ruíz-Rosado *et al.*, 2013; López-García *et al.*, 2016). La proporción de cada tipo de fibra se expresó como un porcentaje del número total de fibras constituyentes de cada músculo.

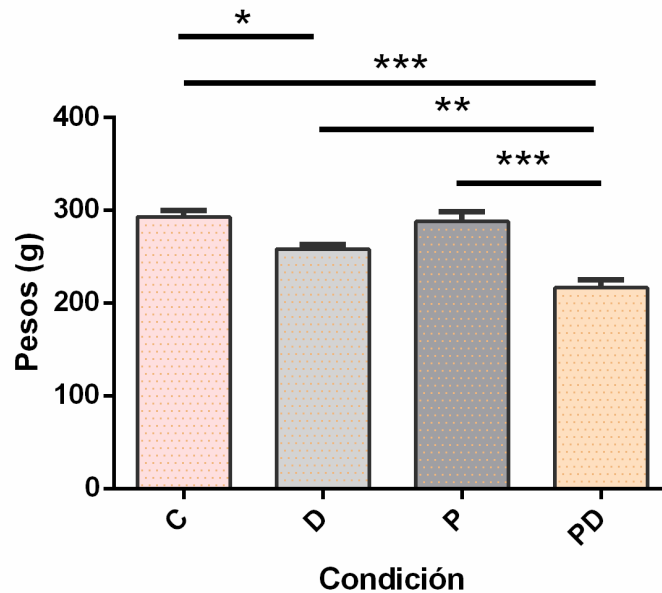
### **8.4. Análisis estadístico**

Se utilizó una prueba de ANOVA de una vía con una post-hoc de Tukey para analizar las diferencias entre los pesos de las ratas de los grupos control (C), desnutrido (D), primípara (P) y primípara desnutrido (PD). Los datos de los pesos de las ratas presentaron una distribución normal. Para analizar las diferencias de los porcentajes de las fibras oxidativas (O) y glucolíticas (G) de la tinción histoquímica NADH-TR de los grupos control, desnutrido, primípara y primípara desnutrido, se realizaron pruebas de t de Student en pares de grupos para cada tipo de fibra. Posteriormente se analizaron las diferencias de los porcentajes de las fibras lentas (L), intermedias (I) y rápidas (R) de la tinción histoquímica de ATPasa de los grupos control (C, n=5), desnutrido (D, n=6), primípara (P, n=6) y primípara desnutrido (PD, n=5) mediante un ANOVA de dos vías. Para ambos casos (NADH-TR y ATPasa) se corroboró la distribución normal de los datos. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa GraphPad Prism (versión 5.0; GraphPad Software, San Diego, CA). Se consideraron diferencias significativas cuando  $P \leq 0.05$ .

## 9. RESULTADOS

### 9.1. Parámetros Morfométricos

Se encontraron diferencias significativas en los pesos de las ratas entre las cuatro condiciones ( $F_{3,22}=22.05$   $p<0.001$ ; Figura 6). Los resultados mostraron que las ratas de los grupos desnutrido (D) primípara (P) y primípara desnutrido (PD) presentaron una disminución del peso corporal del 11.82%, 1.64% y 25% respectivamente en relación al grupo control (C); sin embargo, los cambios en el grupo primípara no fueron significativos, a diferencia de los grupos desnutrido y primípara desnutrido, siendo este último el más afectado. A su vez el grupo PD presentó una disminución del 16% y 24% respecto a los grupos D y P (Figura 6).



**Figura 6.** Pesos de los grupos de ratas hembras en el estudio. Control (C), desnutrido (D), Primípara (P), Primípara desnutrido (PD). Los datos representan la media  $\pm$  S. E. M. ANOVA de una vía, *post-hoc* de Tukey. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

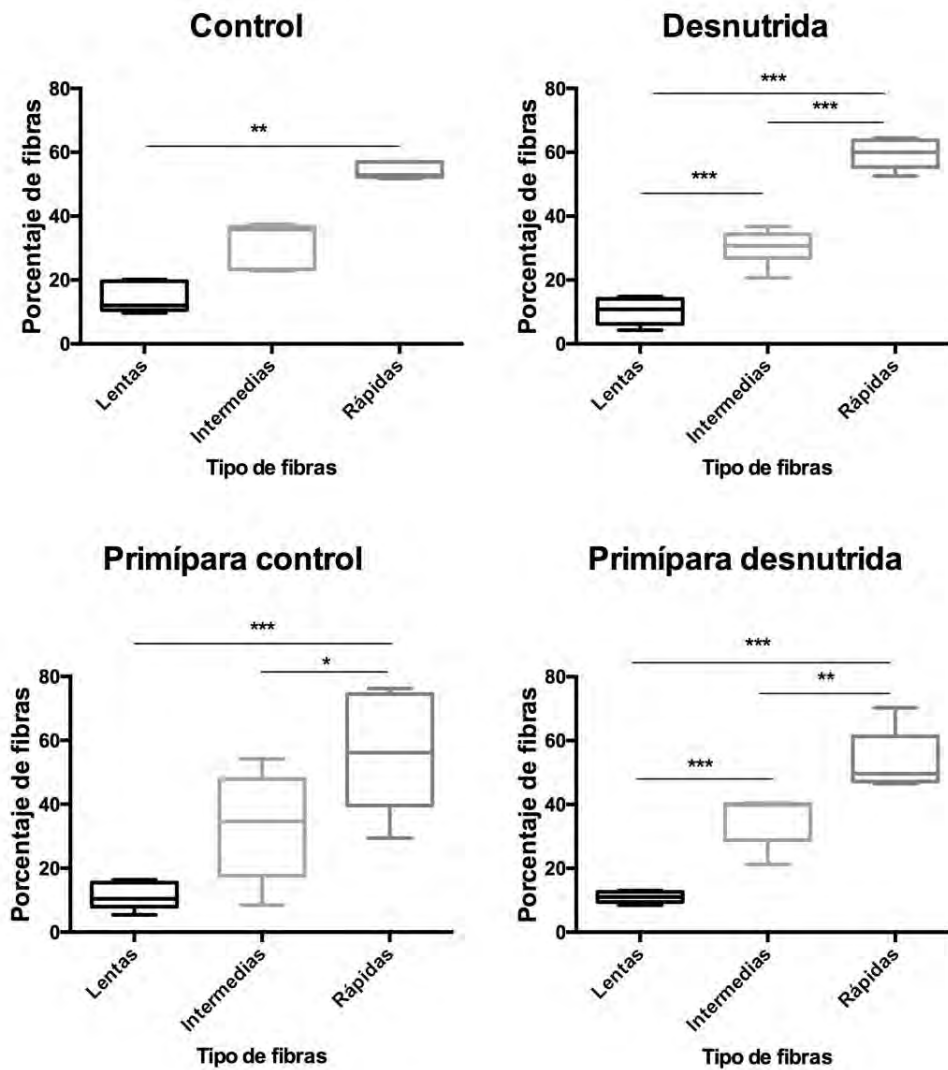


**Tabla I.** Pesos y Número de ratas (N) de los grupos Control (C), Desnutrido (D), Primípara (P), Primípara desnutrido (PD).

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Pesos de los animales en el estudio (gr)</b>
<b>Control (C)</b>	5	(1) 291.7 (2) 285.7 (3) 282.5 (4) 280.3 (5) 285.2
<b>Desnutrido (D)</b>	6	(1)255.1 (2) 257.1 (3) 249 (4) 254.5 (5) 255 (6) 259.4
<b>Primípara (P)</b>	6	(1) 262 (2) 290 (3) 323 (4) 269 (5) 295 (6) 260
<b>Primípara Desnutrido (PD)</b>	5	(1) 210.88 (2) 189 (3) 205 (4) 249 (5) 220

## 9.2. Histoquímica para ATPasa alcalina (pH 9.4)

Los resultados de la composición de los tipos de fibras del mPc clasificadas con la histoquímica para ATPasa alcalina mostraron que el porcentaje de fibras rápidas es mayor independientemente de la condición, observándose el mayor incremento en el grupo Desnutrido (Fig. 8). En el grupo Control (C) existe significativamente un mayor porcentaje de fibras rápidas respecto al porcentaje de las fibras lentas (R,  $54.30 \pm 1.11$  vs. L,  $14.51 \pm 2.14$ ;  $P < 0.01$ ). En el grupo Desnutrido (D), de igual manera el porcentaje de fibras rápidas fue significativamente mayor que el de las lentas e incluso que el de las intermedias (R,  $59.50 \pm 1.86$  vs. L,  $10.26 \pm 1.68$  e I,  $30.24 \pm 2.24$ ;  $P < 0.001$ ). Para el grupo de las Primíparas (P), los porcentajes de los fenotipos de las fibras del mPc se comportaron de igual manera que para el grupo D (R,  $55.84 \pm 7.67$  vs. L,  $11.11 \pm 1.67$  e I,  $36.06 \pm 7.11$ ;  $P < 0.001$ ,  $P < 0.05$ ). Y finalmente para el grupo de Primíparas Desnutridas (PD) el porcentaje de fibras rápidas fue significativamente mayor respecto al porcentaje de fibras lentas e intermedias (R,  $53.38 \pm 9.30$  vs. L,  $11.02 \pm 0.78$  e I,  $35.60 \pm 3.66$ ;  $P < 0.001$ ,  $P < 0.01$ ); así mismo, se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de fibras lentas e intermedias (L,  $11.02 \pm 0.78$  vs I,  $35.60 \pm 3.66$ ;  $P < 0.01$ ) (Fig. 8 y Tabla I).



**Figura 8.** Porcentaje de las fibras lentas, intermedias y rápidas en el músculo pubococcígeo (ATPasa pH 9.4.) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido. Los datos representan la media  $\pm$  SEM. ANOVA de dos vías. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

El análisis de los porcentajes de fibras lentas, intermedias y rápidas entre grupos, no mostró diferencias significativas entre los grupos (Tabla II).

**Tabla II.** Porcentaje de las fibras lentas, intermedias y rápidas en el músculo pubococcígeo (ATPasa pH 9.4.) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido. Los datos representan la media  $\pm$  E.E.

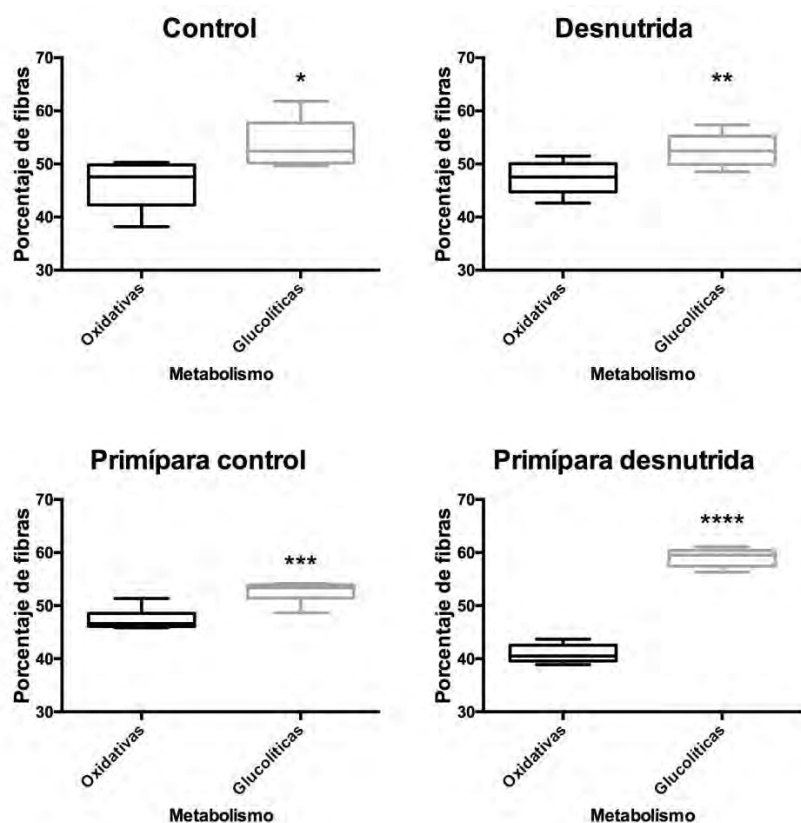
Grupo	Lentas	Intermedias	Rápidas
Control (C)	14.51 $\pm$ 2.14	31.19 $\pm$ 3.21	54.30 $\pm$ 1.11
Desnutrido (D)	10.26 $\pm$ 1.68	30.24 $\pm$ 2.24	59.50 $\pm$ 1.86
Primípara (P)	11.11 $\pm$ 1.67	33.06 $\pm$ 7.11	55.89 $\pm$ 7.67
Primípara desnutrida (PD)	11.02 $\pm$ 0.78	35.60 $\pm$ 3.66	53.38 $\pm$ 4.34

**Tabla III.** Tabla ANOVA de dos vías con interacciones para las fibras Lentas, Intermedias y Rápidas en el músculo pubococcígeo (ATPasa pH 9.4.) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido.

	<b>SS</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>	<b>F(DFn,Dfd)</b>	<b>P</b>
Interacción	267.6	6	44.60	F (6, 54) = 0.5134	<i>P</i> = 0.7956
Tipo de fibra	21171	2	10585	F (2, 54) = 121.8	<i>P</i> < 0.0001
Grupo	1.918e-005	3	6.394e-006	F (3, 54) = 7.360e-008	<i>P</i> > 0.9999
Residual	4692	54	86.88		

### 9.3. Histoquímica para NADH-TR

Respecto al metabolismo de las fibras del mPc caracterizando mediante la histoquímica de NADH, los resultados mostraron un mayor porcentaje de fibras glucolíticas independientemente de la condición (Fig. 9). En el grupo C el porcentaje de fibras glucolíticas fue significativamente mayor respecto al de las fibras oxidativas (G,  $53.64 \pm 2.15$  vs. O,  $46.36 \pm 2.15$ ;  $P < 0.05$ ). En el grupo D la diferencia entre los porcentajes de fibras fue similar a la anterior (G,  $52.63 \pm 1.32$  vs. O,  $47.37 \pm 1.32$ ;  $P < 0.01$ ); al igual que el grupo P (G,  $52.64 \pm 0.83$  vs. O,  $47.37 \pm 0.83$ ;  $P < 0.01$ ). Y finalmente, en el grupo PD, la diferencia entre el porcentaje de fibras glucolíticas y oxidativas fue mayor que para los grupos anteriores (G,  $56.31 \pm 0.79$  vs. O,  $40.97 \pm 0.79$ ;  $P < 0.0001$ ) (Fig 9 y Tabla III).



**Figura 9.** Porcentaje de las fibras oxidativas y glucolíticas en el músculo pubococcígeo (NADH-TR) de los grupos control, desnutrido, primípara y primípara desnutrido. Los datos representan la media  $\pm$  E.E. Pruebas de *t*-Student. Diferencias significativas entre grupos \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

El análisis de las comparaciones múltiples entre el porcentaje de fibras oxidativas y glucolíticas mostraron diferencias significativas entre el porcentaje de fibras glucolíticas entre el grupo PD vs. D y P ( $P < 0.03$ ) (Tabla IV).

**Tabla IV.** Porcentaje de las fibras oxidativas y glucolíticas en el músculo pubococcígeo (NADH-TR) de los grupos control, desnutrido, primípara y primípara desnutrido. Los datos representan la media  $\pm$  SEM. Anova de dos vías.

Grupo	Oxidativas	Glucolíticas
Control (C)	46.36 $\pm$ 2.15	53.64 $\pm$ 2.15
Desnutrido (D)	47.37 $\pm$ 1.32	52.63 $\pm$ 1.32
Primípara (P)	47.37 $\pm$ 0.83	52.64 $\pm$ 0.83
Primípara desnutrida (PD)	40.97 $\pm$ 0.79	59.03 $\pm$ 0.79

**Tabla V.** Tabla ANOVA de dos vías con interacciones para las fibras Oxidativas y Glucolíticas en el músculo pubococcígeo (NADH-TR) de los grupos control, desnutrido, primípara, primípara desnutrido.

	<b>SS</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>	<b>F(DFn,Dfd)</b>	<b>P</b>
Interacción	295.3	3	98.43	F (3, 36) = 9.891	P < 0.0001
Tipo de fibra	877.5	1	877.5	F (1, 36) = 88.18	P < 0.0001
Grupo	0.0	3	0.0	F (3, 36) = 0.0	P > 0.9999
Residual	358.3	36	9.952		

## 10. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio mostraron que el peso corporal de las ratas desnutridas se modificó al igual que el de las ratas primíparas desnutrida.

Los cambios en el peso corporal estuvieron relacionados con modificaciones de los porcentajes de las fibras lentas (tipo I), intermedias (tipo IIa/IIc) y rápidas (tipo IIb) clasificadas con la histoquímica de ATPasa, principalmente con el incremento del porcentaje de fibras rápidas en los grupos desnutridos; así como el incremento del porcentaje de las fibras glucolíticas clasificadas con la histoquímica de NADH.

### 10.1. Histoquímica para ATPasa alcalina en el mPc de la rata: paridad y desnutrición

De acuerdo a los resultados el mPc presenta un mayor porcentaje de fibras de tipo IIb (rápidas) en comparación con fibras tipo IIa (Intermedias) o tipo I (lentas), alcanzando una proporción aproximada de dos fibras rápidas por cada intermedia o bien cinco fibras rápidas por cada fibra lenta. Por lo anterior se corrobora que el mPc es predominantemente rápido. Esto está relacionado con su participación durante el proceso de micción, la cual se presenta durante la fase de expulsión de la orina, contrario a lo que se presenta en otros modelos animales como el caso de la coneja (Martínez-Gómez *et al.*, 2011).

La desnutrición severa es uno de los factores que pueden modificar la expresión de los mecanismos que están involucrados en la transformación de las fibras musculares (Raju, 1975), sin embargo, se ha demostrado que la desnutrición solo provoca alteraciones en el fenotipo de las fibras en los músculos esqueléticos de contracción rápida, mientras que los lentos no resultan afectados. Esto se debe al origen ontogenético de ambos tipos de fibras, ya que las fibras de tipo I se forman de la población primaria, mientras que las fibras de tipo II se forman de la población secundaria siendo ésta última sensible a factores intrínsecos y extrínsecos como la desnutrición (Wilson *et al.*, 1988). Por una parte, en el presente trabajo observamos que el mPc de los animales sometidos a las distintas condiciones (D, P y PD) experimentales no presentaron diferencias significativas en los porcentajes de fibras de tipo I, IIa/IIc y IIb cuando comparamos entre grupos; no siendo así en la comparación intra-grupo. Por otra, una tendencia a incrementarse el porcentaje de fibras de tipo IIb y a disminuirse el de las de tipo I fue observada claramente

en los grupos D y PD; lo cual coincide con los mecanismos de afectación de las fibras por diferentes factores descritos por Wilson *et al.* (1988), y lo reportado por Vázquez-Mendoza *et al.* (2017).

El incremento del porcentaje de fibras rápidas en un músculo que es considerado como rápido parecería no tener efectos adversos (considerando la constitución propia inicial), sin embargo, su participación durante la fase de expulsión de orina si podría verse alterada por la consecuente disminución en la resistencia a la fatiga –por la disminución de las fibras de tipo I-, lo que repercutiría en un mayor volumen residual vesical. Esto último podría estar directamente relacionado con lo reportado por Palacios *et al.* (2016) donde utilizando un modelo de distensión vaginal (VD, por sus siglas en inglés) en la rata y encontraron que la VD provocaba oclusión de la uretra pélvica induciendo retención urinaria, entre otros efectos.

Es posible, que la falta de cambios en el porcentaje de fibras de tipo I, IIa/IIc y IIb entre los grupos esté relacionado con el amortiguamiento del porcentaje de fibras intermedias. Debido a que estas presentan una combinación de las características de los tipos I y IIb; es decir, pueden poseer un metabolismo predominantemente oxidativo y/o glucolítico con una alta resistencia a la fatiga y mayor fuerza que las de tipo I. El mPc es un músculo pélvico, de contracción rápida, el cual está sujeto a diferentes factores con relación a los músculos esqueléticos que se encargan de mover las articulaciones de los animales, siendo algunos de ellos de tipo hormonal o bien porque desempeñan funciones diferentes, lo cual les permitiría ser menos sensibles a las condiciones experimentales de desnutrición. Es importante mencionar, que otra de las razones por las que no encontramos diferencias significativas en las fibras caracterizadas con ATPasa estaría probablemente relacionado con la edad en la que se encuentran las hembras. Se ha reportado que la desnutrición tiene mayores efectos durante las etapas perinatales y durante el desarrollo de los individuos afectando al crecimiento y maduración de los tejidos y células, provocando alteraciones en órganos y/o sistemas dentro del organismo (Ihemelandu, 1985; Zhu *et al.*, 2006). Diversas investigaciones realizadas en ratas en etapas perinatales han mostrado alteraciones en las proporciones de las fibras musculares, tal es el caso de Howells *et al.* (1978), donde se observó un aumento en la proporción de fibras tipo IIb en el músculo tibial anterior; así mismo Vázquez *et al.* (2017) reportaron un aumento de fibras rápidas en los fascículos 2 y 4, aunque también una disminución de las fibras IIb en los fascículos 3 y 5 del músculo *Extensor digitorum longus*

(EDL). Tanto el músculo tibial anterior como el músculo EDL son músculos rápidos y, por otra parte, ambos trabajos fueron realizados en ratas en etapa perinatal sometidas a protocolos de desnutrición.

Lo que en las hembras adultas se encontraría ya determinado. Debido a lo anterior, en las hembras adultas analizadas en este trabajo no veríamos netamente modificaciones en la diferenciación de las fibras y el desarrollo, sino la capacidad de plasticidad del mPc frente a factores naturales intrínsecos como la paridad y extrínsecos como la desnutrición. Aunque nuestros resultados son similares a los resultados mostrados por Howells *et al.* (1978) y Vázquez *et al.* (2017), la diferencia podría radicar en los efectos a largo plazo, ya que se ha comprobado que con una dieta baja en proteínas durante la lactancia o gestación en ratas puede inducir un déficit en la tasa de crecimiento de la descendencia, aumento del daño oxidativo y alteración del metabolismo de la glucosa lo que provoca resistencia a la insulina en etapa adulta (Ozanne *et al.* 1998; Ozanne *et al.* 2005; Feoli, *et al.* 2006).

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que un solo parto (primiparidad) no ejerce efectos evidentes en la composición del mPc de la rata, sin embargo, otros estudios demuestran que múltiples partos (multiparidad) sí modifica la composición del mPc en especies como la coneja (López-García *et al.*, 2017). En dicho trabajo demostraron que el mPc en la coneja múltipara sufre alteraciones incrementando los porcentajes de fibras lentas e intermedias, en comparación con el grupo control, esto último podría estar relacionado con la función antagónica que desempeña el mPc en la rata y en la coneja. López-García *et al.* (2017) también reportaron un incremento del porcentaje de fibras intermedias en el músculo bulboesponjoso (mBe) de las conejas múltiparas, un músculo perineal que desempeña la misma función que el mPc de ratas (activación durante la fase de expulsión de la orina), y con el que –de acuerdo a nuestros resultados– comparte características histoquímicas en los tipos de fibras que los componen. De acuerdo a esto, los cambios en el fenotipo de las fibras que se presentan en la multiparidad están probablemente relacionados con los mecanismos de plasticidad muscular asociados a los procesos de degeneración-regeneración asociados a la paridad. De acuerdo a los resultados del presente estudio, un único proceso de degeneración-regeneración que se produce con un solo parto parece que no modifica drásticamente el fenotipo de las fibras 40 días después del parto. Sin embargo, para evaluar la respuesta



del mPc en la rata asociados a los procesos de degeneración y regeneración, deberían hacerse análisis en una fecha próxima a la del día del parto.

La desnutrición aunada a la primiparidad tampoco tuvo cambios evidentes en el porcentaje de fibras de tipo I, IIa/IIc y IIb, lo cual puede ser consecuencia de un mecanismo de adaptación del músculo pubococcígeo para no perder su función: el cual, en mamíferos junto con el iliococcígeo y puborectalis, forma parte del piso pélvico y participan en el soporte de las vísceras pélvicas como la vejiga y la uretra (Li *et al.*, 2010; Martínez-Gómez *et al.*, 2012).

## **10.2. Histoquímica para NADH-TR en el mPc de la rata: paridad y desnutrición**

Nuestros resultados en cuanto al metabolismo de las fibras del mPc muestran que el porcentaje de fibras glucolíticas se incrementa en el grupo PD. Esto coincide con lo reportado en otros estudios donde se presenta un aumento de la actividad glucolítica y una disminución de la capacidad oxidativa en individuos con desnutrición prenatal o postnatal temprana (Brozanski *et al.*, 1991; Raju, 1975). Aunque en dichos trabajos lo relacionan a que la desnutrición produce daños mayores en etapa perinatal afectando el crecimiento y maduración de los tejidos y células puede provocar alteraciones en órganos y/o sistemas del organismo (Ihemelandu, 1985; Zhu *et al.*, 2006), no es posible descartar que en las hembras adultas la desnutrición y la paridad, juntos, provoquen un efecto similar en las fibras que componen el mPc dada su composición. López-García *et al.* (2017) mostraron que la multiparidad incrementa el porcentaje de fibras glucolíticas en el mBe de la coneja (músculo análogo al Pc de la rata), mismo que ocurre en el mPc de la rata de manera más sutil. Es probable que la exposición repetida a los factores (paridad + desnutrición) exacerbe los efectos sutiles observados. Sin embargo, futuros estudios deben ser realizados para corroborarlo.

Los resultados del presente estudio muestran un incremento del metabolismo glucolítico, con la consecuente disminución del metabolismo oxidativo en las ratas con desnutrición aunada a la primiparidad. Basándonos en el estudio de Gómez-Zorita y Urdampilleta (2012), uno de los factores posiblemente implicados en esta modificación es la translocación de GLUT4 que se genera durante la desnutrición, y el aumento de los receptores de glucosa GLUT-1, GLUT-3 Y GLUT-5. Ambos procesos provocan un

incremento en la velocidad de absorción de glucosa (Pessin *et al.*, 1999), asimismo, la desnutrición genera un aumento de estas moléculas en sangre (Estrela *et al.*, 2014). Este aumento en la translocación de GLUT4 y en los niveles de glucosa podría generar un beneficio para el metabolismo glucolítico, debido a que los procesos anaeróbicos utilizan principalmente glucógeno almacenado y glucosa en la sangre como sustrato, ya que ni los aminoácidos ni los ácidos grasos pueden procesarse sin oxígeno, y además el metabolismo glucolítico tiene una producción de ATP, aunque en menor cantidad, más rápida, comparándolo con el metabolismo oxidativo (McArdle *et al.*, 2004). Es probable entonces, que dichas modificaciones encontradas en los grupos estén asociadas también a alteraciones en los transportadores de glucosa, mismo que haya obligado a las fibras a cambiar de fenotipo. La cuantificación de dichos transportadores y de glucosa circulante podría corroborar esta hipótesis.

Otros estudios han reportado que la paridad, al igual que la desnutrición, incrementan la eficacia del metabolismo glucolítico, puesto que ha sido demostrado que esta condición al igual que la desnutrición provoca un aumento de glucosa en sangre, lo que en algunos casos produce diabetes gestacional debido a los cambios en el metabolismo que ocurren durante el embarazo, y asegurar así un suministro continuo de nutrientes al feto durante su crecimiento (Butte, 2000). También se ha reportado que la resistencia a la insulina presente se asocia al aumento de estradiol (E2) que se produce durante el embarazo, ya que E2 se encarga de regular las concentraciones de GLUT4 y a concentraciones altas de E2 las concentraciones de GLUT-4 descienden (Barros *et al.*, 2008) provocando un estado de resistencia a la insulina (Gómez-Zorita y Urdampilleta, 2012). Con base a los efectos del E2 sobre las hembras durante la experiencia reproductiva, el aumento de los receptores de glucosa GLUT1, GLUT2 GLUT3 Y GLUT 5 y de la translocación de GLUT-4 podría estar generando un efecto compensatorio a la disminución de GLUT-4 que se produce durante el embarazo por el aumento de E2, esto indicaría que la desnutrición durante el embarazo disminuye las posibilidades de padecer resistencia a la insulina, aunque para llegar a esta conclusión se necesita realizar estudios de glucosa en ratas con las condiciones de desnutrición y primiparidad; sin embargo no se puede descartar el daño a los músculos pélvicos que se producen durante el embarazo y las afecciones que conllevan a largo plazo como la IUE además de los efectos negativos que produce la desnutrición al feto a largo plazo.

## 11. CONCLUSIÓN

Los factores desnutrición y la primiparidad, individualmente, incrementaron el metabolismo glucolítico de las fibras del músculo pubococcígeo; así, como el porcentaje de fibras rápidas. La suma de los factores (desnutrición + primiparidad) parecen amortiguar dichos efectos, lo cual podría estar relacionado con las capacidades adaptativas y de plasticidad del músculo esquelético. Así mismo, la desnutrición disminuyó el peso corporal de las hembras; siendo mayor dicha disminución cuando se combinó con la paridad, denotando el gasto energético que implica la reproducción.

## 12. REFERENCIAS

- Alter MJ. Los estiramientos. Paidotribo. 2004 oct. ISBN: 9788486475345 252 p.
- Amy J, McGlory C, Phillips M. The influence of mechanical loading on skeletal muscle protein turnover. *Cell Mol Exerc Physiol*. 2015 Jun; 4(1): e8. doi: 10.7457/cmep.v4i1.e8
- Ashton-Miller JA, DeLancey JO. Functional anatomy of the female pelvic floor. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Apr; 1101:266-96. Epub 2007 Apr 7. Review.
- Ayala-Moreno R, Racotta R, Anguiano B, Aceves C, Quevedo L. Perinatal undernutrition programmes thyroid function in the adult rat offspring. *Br J Nutr*. 2013 Dec; 110(12):2207-15. doi: 10.1017/S0007114513001736. Epub 2013 Jun 26. Erratum in: *Br J Nutr*. 2014 Feb; 111(4):757.
- Bárány M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J Gen Physiol*. 1967 Jul; 50(6):Suppl:197-218.
- Barros RP, Morani A, Moriscot A, Machado UF. Insulin resistance of pregnancy involves estrogen-induced repression of muscle GLUT4. *Mol Cell Endocrinol*. 2008 Nov 25; 295(1-2):24-31. doi: 10.1016/j.mce.2008.07.008.
- Blaauw B, Schiaffino S, Reggiani C. Mechanisms modulating skeletal muscle phenotype. *Compr Physiol*. 2013 Oct; 3(4):1645-87. doi: 10.1002/cphy.c130009. Review.
- Brooks SV, Zerba E, Faulkner JA. Injury to muscle fibres after single stretches of passive and maximally stimulated muscles in mice. *J Physiol*. 1995 Oct 15; 488 ( Pt 2):459-69.
- Brozanski BS, Daood MJ, LaFramboise WA, Watchko JF, Foley TP Jr, Butler-Brownen GS, Whalen RG, Guthrie RD, Ontell M. Effects of perinatal undernutrition on elimination of immature myosin isoforms in the rat diaphragm. *Am J Physiol*. 1991 Aug; 261(2 Pt 1): L49-54. P
- Bump RC, Fantl JA, Hurt WG. The mechanism of urinary continence in women with severe uterovaginal prolapse: results of barrier studies. *Obstet Gynecol*. 1988 Sep; 72(3 Pt 1):291-5.

- Burke RE, Levine DN, Zajac FE 3rd. Mammalian motor units: physiological-histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius. *Science*. 1971 Nov 12;174(4010):709-12.
- Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. 2000 May; 71(5 Suppl): 1256S-61S. Review.
- Covault J, Sanes JR. Distribution of N-CAM in synaptic and extrasynaptic portions of developing and adult skeletal muscle. *J Cell Biol*. 1986 Mar;102(3):716-30.
- Denny BD. The histological features of striped muscle in relation to its functional activity. *Royal Society*. 1929 Mar 4 March .doi: 10.1098/rspb.1929.0014.
- Dietz HP, Shek C. Levator avulsion and grading of pelvic floor muscle strength. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2008 May;19(5):633-6. Epub 2007 Nov 13.
- Dubowitz V, Pearse AG. A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle. *Z Zellforsch Microsk Anat Histochem*. 1960;2:105-17.
- Edgerton VR, Simpson DR. The intermediate muscle fiber of rats and guinea pigs. *J Histochem Cytochem*. 1969 Dec;17(12):828-38.
- Eisenberg E, Hill TL. Muscle contraction and free energy transduction in biological systems. *Science*. 1985 Mar 1;227(4690):999-1006.
- Estrela DC, Lemes CG, Guimarães AT, Malafaia G. Effects of short-term malnutrition in rats. .2014 Jun; 10. 071101.
- Fajardo V, Pacheco P, Hudson R, Jiménez I, Martínez-Gómez M. Differences in morphology and contractility of the bulbospongiosus and pubococcygeus muscles in nulliparous and multiparous rabbits. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2008 Jun;19(6):843-9. doi: 10.1007/s00192-007-0541-3.
- Feoli AM, Siqueira IR, Almeida L, Tramontina AC, Vanzella C, Sbaraini S, Schweigert ID, Netto CA, Perry ML, Gonçalves CA. Effects of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. *Nutrition*. 2006 Feb;22(2):160-5.
- Feola A, Endo M, Deprest J. Biomechanics of the rat vagina during pregnancy and postpartum: a 3-dimensional ultrasound approach. *Int Urogynecol J*. 2014 Jul;25(7):915-20. doi: 10.1007/s00192-013-2313-6. Epub 2014 Jan 23.
- Fiaccadori E, Zambrelli P, Tortorella G. [Physiopathology of respiratory muscles in malnutrition]. *Minerva Anesthesiol*. 1995 Mar;61(3):93-9. Review. Italian.
- García M. Manual del médico de guardia. Diaz de Santos. 2006. 776 p.
- García M, Cañas O, Moreno C, Varela M, Lluvia G, De los Ríos M. Reeducción del suelo pélvico. *Asociación Española de Enfermería en Urología*. 2005. Núm. 94.

Gómez-Zorita, Urdampilleta. El GLUT4: efectos de la actividad física y aspectos nutricionales en los mecanismos de captación de glucosa y sus aplicaciones en la diabetes tipo 2. *Avances en Diabetología* 2012 Feb; 28(1):19-26. doi: 10.1016/j.avdiab.2012.02.003

Gollnick PD, King DW. Effect of exercise and training on mitochondria of rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1969 Jun;216(6):1502-9.

Grau G, Guerra H, Calbet L. 2007. Papel de la células satélite en la hipertrofia y regeneración muscular en respuesta al ejercicio. *Archivos de medicina del deporte: revista de la Federación Española de Medicina del Deporte y de la Confederación Iberoamericana de Medicina del Deporte.* ISSN 0212-8799, N°. 119, p. 187-196.

Guth L, Samaha FJ. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp Neurol.* 1970 Aug;28(2):365-7.

Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology.* Elsevier España. 2006. SBN 0-7216-0240-1. 1116 p.

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiología Médica.* Elsevier Health Sciences. 2011. ISBN 978-1-4160-4574-8.1112 p.

Henrikson RC, Kaye GI, Mazurkiewicz. *Histology. The National Medical Series for Independent Study.* ISBN: 0683230247. 512 p.

Hernández L. *Enfermedades reumáticas en la niñez.* Universidad Central de Venezuela. 1999. 343 p.

Hill JA, Olson EN. *An introduction to muscle.* 2012. 3-11 p.

Holloszy JO. Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1967 May 10;242(9):2278-82.

Howells KF, Mathews DR, Jordan TC. Effects of pre and perinatal malnutrition on muscle fibres from fast and slow rat muscles. *Res Exp Med (Berl).* 1978 Jul 24; 173(1):35-40.

Huang J, Cheng M, Ding Y, Chen L, Hua K. Modified vaginal dilation rat model for postpartum stress urinary incontinence. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Jan; 39(1):256-63. doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.01959.x. Epub 2012 Jul 29.

Iglesias GL, Gallardo ML, Velasco AM, Montalvo JP. *Bases de la fisiología.* 2001. ISBN 978-84-7360-266-2 Tebar. 626 p.

Ihemelandu EC. Fibre number and sizes of mouse soleus muscle in early postnatal protein malnutrition. *Acta Anat (Basel).* 1985;121(2):89-93.

Insua, M. *Plasticidad muscular.* Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca . *Revista Digital.* Buenos Aires. May 2003. Año 9, N° 60. 1 p

Irintchev A, Zeschnigk M, Starzinski-Powitz A, Wernig A. Expression pattern of M-cadherin in normal, denervated, and regenerating mouse muscles. *Dev Dyn*. 1994 Apr;199(4):326-37.

Izumo S, Nadal-Ginard B, Mahdavi V. All members of the MHC multigene family respond to thyroid hormone in a highly tissue-specific manner. *Science*. 1986 Feb 7;231(4738):597-600.

Johnsen L, Kongsted AH, Nielsen MO. Prenatal undernutrition and postnatal overnutrition alter thyroid hormone axis function in sheep. *J Endocrinol*. 2013 Feb 25;216(3):389-402. doi: 10.1530/JOE-12-0389. Print 2013 Mar.

Sikorski ZE. *Chemical and Functional Properties of Food Components*. 2006 Oct. SBN 9780849396755 . 504 p.

Li X, Kruger JA, Nash MP, Nielsen PM. Modeling childbirth: elucidating the mechanisms of labor. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2010 Jul-Aug;2(4):460-70. doi: 10.1002/wsbm.65. Review.

Lieber R. *Bases fisiológicas de la fisioterapia. Estructura del músculo esquelético y plasticidad, segunda edición*. Interamericana de España. 2004. ISBN: 8448606361. 363p.

Lien KC, Mooney B, DeLancey JO, Ashton-Miller JA. Levator ani muscle stretch induced by simulated vaginal birth. *Obstet Gynecol*. 2004 Jan;103(1):31-40.

Lin AS, Carrier S, Morgan DM, Lue TF. Effect of simulated birth trauma on the urinary continence mechanism in the rat. *Urology*. 1998 Jul;52(1):143-51.

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, Amon A, Scott MP. *Biología celular y molecular*. Médica Panamericana. 2005. EAN: 9789500606264 .973 p.

López-García K. Efecto de la multiparidad sobre el daño y regeneración de los músculos pubococcígeo y bulboesponjoso de la coneja (tesis de doctorado). Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. 2013 Ago.

López-García K, Cuevas E, Sánchez-García O, Pacheco P, Martínez-Gómez M, Castelán F. Differential damage and repair responses of pubococcygeus and bulbospongiosus muscles in multiparous rabbits. *Neurourol Urodyn*. 2016 Feb;35(2):180-5. doi: 10.1002/nau.22702. Epub 2014 Nov 28.

López-García, K., S. Mariscal-Tovar. M.A. Serrano-Meneses., F. Castelan., M. Martínez-Gómez y I. Jiménez-Estrada. 2016. Fibery type composition of pubococcygeous and bulbospongiosus striated muscles is modified by multiparity in the rat. *Neurourol Urodynam*; 9999: 1–8.

López-García K, Mariscal-Tovar S, Serrano-Meneses MA, Castelán F, Martínez-Gómez M, Jiménez-Estrada I. Fiber type composition of pubococcygeus and bulbospongiosus striated muscles is modified by multiparity in the rabbit. *Neurourol Urodyn*. 2017 Aug;36(6):1456-1463. doi: 10.1002/nau.23143. Epub 2016 Sep 27.

MacLennan AH, Taylor AW, Wilson DH, Wilson D. The prevalence of pelvic floor disorders and their relationship to gender, age, parity and mode of delivery. *BJOG*. 2000 Dec;107(12):1460-70.

MacIntosh BP, Gardiner PF, McComas AI. *Skeletal Muscle: Form and Function*, 2nd Edition. 2006. ISBN-13: 978-0736045179. 432 p.

Mahdavi V, Izumo S, Nadal-Ginard B. Developmental and hormonal regulation of sarcomeric myosin heavy chain gene family. *Circ Res*. 1987 Jun;60(6):804-14.

Martínez-Gómez M, Mendoza-Martínez G, Corona-Quintanilla DL, Fajardo V, Rodríguez-Antolín J, Castelán F. Multiparity causes uncoordinated activity of pelvic- and perineal-striated muscles and urodynamic changes in rabbits. *Reprod Sci*. 2011 Dec;18(12):1246-52. doi: 10.1177/1933719111411728. Epub 2011 Jun 23.

Martínez-Gómez, Corona-Quintanilla, Cruz-Gómez, Zempoalteca R, Rodríguez-Antolín, Castelán F. The role of pelvic and perineal muscles in reproductive and excretory functions. *Applications of EMG in clinical and Sports Medicine*. 2012. doi: 10.5772/27393

Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol*. 1961 Feb;9:493-5.

McArdle, W. D., F. I. Katch y V. L. Katch. *Fundamentos de fisiología del ejercicio*, segunda edición. McGRAW-HILL. Interamericana. 2004. ISBN 8448605985. 708 p.

Montarras D, Morgan J, Collins C, Relaix F, Zaffran S, Cumano A, Partridge T, Buckingham M. Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle regeneration. *Science*. 2005 Sep 23;309(5743):2064-7.

Mounier R, Théret M, Lantier L, Foretz M, Viollet B. Expanding roles for AMPK in skeletal muscle plasticity. *Trends Endocrinol Metab*. 2015 Jun;26(6):275-86. doi: 10.1016/j.tem.2015.02.009. Epub 2015 Mar 26. Review.

Nachlas MM, Walker DG, Seligman AM. A histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase. *J Biophys Biochem Cytol*. 1958 Jan 25; 4(1):29-38.

Nachlas MM, Tsou KC, De Souza E, Cheng CS, Seligman AM. Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J Histochem Cytochem*. 1957 Jul;5(4):420-36.

Olguin HC, Olwin BB. Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: a potential mechanism for self-renewal. *Dev Biol*. 2004 Nov 15;275(2):375-88.

Ozanne SE, Nicholas Hales C. Poor fetal growth followed by rapid postnatal catch-up growth leads to premature death. *Mech Ageing Dev*. 2005 Aug;126(8):852-4.

Ozanne SE, Martensz ND, Petry CJ, Loizou CL, Hales CN. Maternal low protein diet in rats programmes fatty acid desaturase activities in the offspring. *Diabetologia*. 1998 Nov;41(11):1337-42.

Palacios JL, Juárez M, Morán C, Xelhuantzi N, Damaser MS, Cruz Y. Neuroanatomic and behavioral correlates of urinary dysfunction induced by vaginal distension in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2016 May 1;310(10):F1065-73. doi:10.1152/ajprenal.00417.2015.

Parker A, Kolthoff J. *Anatomía y Fisiología*. Interamericana. 1997. 600 p.

Patton KT, Thibodeau GA. *Anatomy and physiology*. Elsevier. 2015. ISBN: 978-0-323-34139-4. 1264 p.

Pérez-Machado. Polimorfismos genéticos y cáncer de tiroides (tesis de doctorado). Facultat de Ciències Departament de Genètica i de Microbiologia Grup de Mutagènesi. 2006 Jul.

Pessin JE, Thurmond DC, Elmendorf JS, Coker KJ, Okada S. Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking. Location! Location! Location! *J Biol Chem*. 1999 Jan 29;274(5):2593-6. Review.

Pette D, Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol*. 1997;170:143-223. Review.

Pette D, Staron RS. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech*. 2000 Sep 15;50(6):500-9. Review.

Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol*. 2001 May;115(5):359-72. Review.

Prudhon C. Evaluación y tratamiento de la desnutrición en situaciones de emergencia: manual de tratamiento terapéutico de la desnutrición y planificación de un programa nutricional. Icaria. 2002. 362 p.

Raju NV. Effects of early malnutrition on muscle function and metabolism in rats. 1975. *Life Sci*. 15:949-960.

Randall D, Burggren W, French K. Eckert, *Fisiología Animal: Mecanismos y adaptaciones* cuarta edición, Capítulo 10. Músculos y movimiento animal. McGRAW-HILL Interamericana de España. 1989. ISBN: 8448602005. 795 p.

Ranvier L. Propriétés et structures différentes des muscles rouges et des muscles blancs, chez les lapins et chez les raies. 1873. *C. R. Acad. Sci* 77, 1030-1034

Rayment I, Holden HM, Whittaker M, Yohn CB, Lorenz M, Holmes KC, Milligan RA. Structure of the actin-myosin complex and its implications for muscle contraction. *Science*. 1993 Jul 2;261(5117):58-65.

Robles E. 2006. La incontinencia urinaria. *Anales del sistema sanitario de Navarra*. ISSN 1137-6627.



Ross M, Wojciech P. *Histología: Texto y Atlas color con Biología Celular*, 5° Edición. Médica Panamericana. 2007. ISBN: 978-950-06-0435-1. 974 p.

Rowe RWD. Effect of low nutrition on size of striated muscle fibers in the mouse. *J. Exp. Zool.* 1968.167:353–358. doi:10.1002/jez.1401670307.

Ruíz-Rosado A, Fernández-Valverde F, Mariscal-Tovar S, Hinojosa-Rodríguez CX, Hernández-Valencia JA, Anzueto-Rios Á, Guadarrama-Olmos JC, Segura-Alegría B, Jiménez-Estrada I. Histoenzymatic and morphometric analysis of muscle fiber type transformation during the postnatal development of the chronically food-deprived rat. *J Histochem Cytochem.* 2013 May;61(5):372-81. doi: 10.1369/0022155413480149..

Spencer SP, Wilhelm C, Yang Q, Hall JA, Bouladoux N, Boyd A, Nutman TB, Urban JF Jr, Wang J, Ramalingam TR, Bhandoola A, Wynn TA, Belkaid Y. Adaptation of innate lymphoid cells to a micronutrient deficiency promotes type 2 barrier immunity. *Science* 2014 Jan 24;343(6169):432-7. doi: 10.1126/science.1247606.

Sánchez AM, Bernardi H, Py G, Candau RB. Autophagy is essential to support skeletal muscle plasticity in response to endurance exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2014 Oct 15;307(8):R956-69. doi: 10.1152/ajpregu.00187.2014. Epub 2014 Aug 13. Review.

Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA. Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys Ther.* 2001 Nov;81(11):1810-6. Review.

Seligman AM, Karnovsky MJ, Wasserkrug HL, Hanker JS. Nondroplet ultrastructural demonstration of cytochrome oxidase activity with a polymerizing osmiophilic reagent, diaminobenzidine (DAB). *J Cell Biol.* 1968 Jul;38(1):1-14.

Snooks SJ, Setchell M, Swash M, Henry MM. Injury to innervation of pelvic floor sphincter musculature in childbirth. *Lancet.* 1984 Sep 8;2(8402):546-50.

Stefano S, Partridge T. *Skeletal Muscle Repair and Regeneration*. Springer Science y Business Media. 2008 Ene. 379 p.

Toscano AE, Manhães-de-Castro R, Canon F. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. *Nutrition.* 2008 Mar;24(3):270-8. doi: 10.1016/j.nut.2007.12.004.

Uitto, J. *Connective Tissue Disease: Molecular Pathology of the Extracellular Matrix*. CRC Press. 1989 Oct. ISBN 9780824775339. 586 p.

Vázquez-Mendoza E, Rodríguez-Torres EE, López-García K, Hinojosa-Rodríguez CX, Jiménez-Estrada I. Differential effect of chronic undernutrition on the fiber type composition of fascicles in the extensor digitorum longus muscles of the rat. *Acta Histochem.* 2017 May;119(4):364-371. doi: 10.1016/j.acthis.2017.03.005. Epub 2017 Apr 2. PubMed PMID: 28372808.

Vrbova G. Changes in the motor reflexes produced by tenotomy. *J Physiol.* 1963 Apr;166:241-50.

White P, Cattaneo D, Dauncey MJ. Postnatal regulation of myosin heavy chain isoform expression and metabolic enzyme activity by nutrition. *Br J Nutr.* 2000 Aug; 84(2): 185-94.

Wilmore, JH y Costill DL. 2001. *Fisiología del esfuerzo y del deporte.* Paidotribo. 709 p

Wilmore, JH y Costill DL. *Fisiología del esfuerzo y del deporte.* Paidotribo. 2007 Jun. ISBN: 978-84-8019-916-2. 744 p.

Wilson SJ, Ross JJ, Harris AJ. A critical period for formation of secondary myotubes defined by prenatal undernourishment in rats. *Development.* 1988 Apr; 102(4): 815-21.

Zammit PS, Partridge TA, Yablonka-Reuveni Z. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. *J Histochem Cytochem.* 2006 Nov; 54(11): 1177-91. Epub 2006 Aug 9.

Zhu MJ, Ford SP, Means WJ, Hess BW, Nathanielsz PW, Du M. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *J Physiol.* 2006 Aug 15; 575 (Pt 1): 241-50. Epub 2006 Jun 8.