

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LOS ASPECTOS HISTOQUÍMICOS Y MORFOMÉTRICOS DE LAS FIBRAS «b de WOHLFART» EN EL MÚSCULO DEL PERRO

On some histochemical and morphometric aspects of the «Wohlfart b fibres» in the dog muscle

Gil, F., Vázquez, J. M. y Moreno, F.

Departamento de Anatomía y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.

Recibido: 28 junio 86
Aceptado: 28 octubre 86

RESUMEN

Se estudian las características histoquímicas y morfométricas de las fibras «b de Wohlfart» halladas en los Mm. tibial craneal y flexor digital lateral del perro, apreciándose falta de diferenciación en las mismas en el momento de su aparición. Se ha observado la práctica desaparición de estas fibras hacia la 5.^a semana de vida, debido principalmente a fenómenos de «desdoblamiento». Finalmente las encuadramos en el tipo I (baja actividad ATPásica, metabolismo oxidativo), sugiriéndose sean denominadas fibras Ib.

Palabras claves: Músculo, fibras b Wohlfart, ATPasa.

ABSTRACT

The histochemical and morphometric characteristics of the «Wohlfart b fibres» in tibialis cranialis and flexor digitorum lateralis muscles of the dog were studied; it has been found that when appearing these do not show signs of differentiation. These fibres almost disappear about the fifth week after birth mainly due to «splitting» processes. A final conclusion is that these fibres must be denominated «type fibres Ib» as they show characteristics of type I as are low ATPase activity and oxidative metabolism.

Keywords: Muscle, Wohlfart b fibres, ATPase.

INTRODUCCIÓN

Los estudios llevados a cabo por WOHLFART (1937) pusieron de manifiesto, en el músculo de fetos y neonatos humanos, la existencia de dos comunidades fibrilares claramente diferenciadas entre sí por sus características morfométricas. Se trataba de unas fibras de gran tamaño (generalmente una por fascículo y ocupando el centro de estos), a las que dicho investigador denominó fibras de tipo «b», rodeadas por el resto de fibras que integraban el fascículo, de

diámetro claramente menor, y que llamó fibras tipo «a».

Es, en 1963, cuando las técnicas histoquímicas empleadas por FENICHEL demuestran baja actividad ATPásica para las fibras «b» y alta actividad para las «a», por lo que ya pudieron ser consideradas como fibras tipo I y II, respectivamente. DUBOWITZ (1968), aplicando técnicas oxidativas (NADH-diaforasas), así lo corrobora al notar cómo las fibras tipo «b» reaccionan de forma más fuerte que las restantes fibras «a». Se ha comprobado que a lo largo del

CUADRO I
 NUMERO DE ANIMALES EMPLEADOS
 PARA CADA UNA DE LAS EDADES QUE SE
 RELACIONAN

Edad (Días)	Número de perros
Recién nacidos	4
Dos	2
Cinco	3
Siete	2
Diez	3
Doce	2
Quince	3
Diecisiete	2
Veinte	3
Veintidós	2
Veinticinco	3
Veintisiete	2
Treinta	3
Treinta y cinco	2
Cuarenta	2
Cuarenta y cinco	3
Cincuenta	2
Cincuenta y cinco	2
Sesenta	3

desarrollo postnatal, estas últimas son las precursoras de los tipos de fibras musculares (I, IIa, IIb y IIc) que completan la población fibrilar del adulto (BROOKE et al., 1971; BRAUND/LINCOLN, 1981).

Estudios posteriores han seguido confirmando y especificando las características histoquímicas y morfométricas de las fibras «b» de Wohlfart, ya no sólo en músculos de la especie humana (FARKAS-BARGETON et al., 1977; SCHLOON/SCHLOTTMAN, 1979), sino también en el de otras, como cerdo (DAVIES, 1972), conejo (LOBLEY et al., 1977) y perro (BRAUND/LINCOLN, 1981). Analizando dos músculos de funciones antagónicas (extensor y flexor) de esta última especie, realizamos una descripción sobre este tipo de fibras desde el momento mismo de su aparición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de los Mm. tibial craneal y flexor digital lateral se tomaron de 4 fetos de 50 días, de 4 fetos de 55 días y de 48 perros con edades comprendidas entre el nacimiento y los 60 días de vida (cuadro 1). Tras ser congeladas en 2-metilbutano, previamente enfriado a -160°C mediante contacto con nitrógeno líquido (DUBOWITZ/BROOKE, 1973) dichas muestras fueron cortadas en criostato a -20°C , oscilando el grosor de los cortes entre las 8 y 12 micras. Las secciones obtenidas fueron sometidas a tinciones histológicas (Hematoxilina-Eosina y Tricrómico de Gomori modificado) y a una serie de reacciones histoquímicas, no enzimáticas (PAS), y enzimáticas (DPNH, AT-Pasa con una preincubación alcalina, pH 9'4, y dos ácidas, pH 4'6 y 4'3), siguiendo la metodología propuesta por DUBOWITZ/BROOKE (1973).

La estimación del tamaño fibrilar se verificó con analizador de imágenes IBAS-1, seleccionando los parámetros área y diámetro menor de una estructura elíptica equivalente, analizando por preparación un número de fibras superior a 150 (excepto cuando éstas no superan dicho número en toda la sección), y no haciendo distinción entre animales machos y hembras, ni entre miembros derechos e izquierdos (BLOMS-TRAND/EKBLON, 1982; SHOREY/CLEAND, 1983). Para estimar los porcentajes, se computan entre 500 y 1.000 fibras de un campo elegido al azar, previamente proyectado sobre una pantalla gracias a la incorporación de un sistema de lentes adaptado al ocular del microscopio. El análisis estadístico lo referimos principalmente al diámetro menor, siguiendo los criterios de BROOKE/ENGEL (1969), para salvar los errores debidos a una posible oblicuidad en el corte. Este análisis se realiza mediante el programa «STUDD» (Palazón, 1986; comunicación personal) que efectúa la prueba de igualdad de varianzas con la correspondiente prueba de igualdad de medias basadas en el test F-Snedecor y la prueba t-Student, implementado en ordenador BULL-64 del Centro de Proceso de Datos de la Universidad de Murcia.

El fotografiado de las preparaciones se realiza a 100 y 400 aumentos, mediante microscopio «Leitz Dialux 20» con equipo fotográfico incorporado, empleándose para ello películas de color y blanco y negro.

RESULTADOS

En los músculos tibial craneal y flexor digital lateral de fetos de 50 días no observamos aún fibras «b» de Wohlfart, aunque en el M.

tibial se advierte cierto diformismo celular (figura 1A), al estar los fascículos mejor conformados que en el M. flexor (figura 1B). En los fetos de 55 días ya es posible evidenciar fibras de Wohlfart, pero sólo en el M. tibial craneal, donde reaccionan intensa y uniformemente ante las técnicas de ATPasa en sus diferentes preincubaciones (figura 1C), al igual que lo hacen el resto de las fibras que completan el fascículo. Sin embargo, ante la técnica oxidativa DPNH se tiñen de manera más intensa, pudiendo ser diferenciadas de las otras que les rodean (figura 1D). La reacción PAS también contribuye a esta distinción, al ser PAS negativas. En el M. flexor, las fibras también se encuentran agrupadas en fascículos, pero no se acusa el diformismo celular hallado en el M. tibial, y la respuesta tintorial ante las diferentes técnicas aplicadas, no permite hacer distinción entre tipos fibrilares (figuras 2A y 2B).

En los animales recién nacidos, las fibras de Wohlfart se evidencian en ambos músculos (figuras 2C y 2D), si bien de forma más patente en el M. tibial craneal. En este músculo, la ATPasa miosínica de dichas fibras se muestra ahora alcalino-lábil, ácido-estable a pH 4'6 y ácido-lábil a pH 4'3. En el M. flexor es ligeramente alcalino-lábil, a diferencia de la del músculo anterior.

A medida que analizamos muestras de animales de más edad, las características histoquímicas de estas fibras se van confirmando, mostrándose claramente PAS negativas (figura

3A) y alcalino lábiles a pH 9'4 (figura 3B). Su ATPasa miosínica se muestra ya ácido estable a pH 4'3 (figura 3C), cuando los perros sobrepasan las tres semanas (en el M. tibial) o las cuatro semanas de edad (M. flexor), por lo que a partir de dichas edades es cuando las fibras de Wohlfart se encuentran ya totalmente diferenciadas desde el punto de vista histoquímico.

Los resultados morfométricos referidos a los valores medios de los diámetros (cuadros 2, 3, 4, 5, 6 y 7) confirman cómo el dimorfismo fibrilar es bastante más acentuado en el M. tibial craneal que en el M. flexor digital lateral de animales recién nacidos. En esta última entidad muscular, dicho dimorfismo será más patente a partir de la tercera semana de vida, igualándose los diámetros de las fibras de Wohlfart a las del M. tibial hacia el mes de edad ($p < 0'05$). Los valores máximos de estas fibras los encontramos a los 17-20 días en el M. tibial (cuadro 4), y a los 27-35 días en el M. flexor (cuadro 7). En los animales recién nacidos, las fibras de Wohlfart representan un 2'36% (M. tibial) y un 5'27% (M. flexor). Estos valores se mantienen constantes hasta las dos (M. flexor) o cuatro semanas de vida (M. tibial), para entonces comenzar a descender. Este descenso se hace muy patente a partir de los 35 días, de tal forma que en los músculos de animales con edades comprendidas entre los 40 y 60 días (figura 3D) apenas si observamos fibras de este tipo. Fenómenos de «splitting» hemos constatado con cierta frecuencia en dichas fibras durante las

CUADRO 2
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS RELATIVOS A PORCENTAJES Y TAMAÑO FIBRILAR DEL M. TIBIAL CRANEAL DE PERROS CON EDADES COMPRENDIDAS ENTRE EL NACIMIENTO Y LOS 5 DÍAS. LOS VALORES OBTENIDOS PARA ÁREAS Y DIÁMETRO MENOR VIENEN EXPRESADOS EN μm^2 Y μ , RESPECTIVAMENTE

M. TIBIAL CRANEAL		ÁREAS		DIÁMETRO MENOR				
FIBRAS	%	\bar{X}	Sd	\bar{X}	Sd	C.V.%	LÍMITES CONFIANZA DE LA MEDIA	
							81	95%
							1	L
TIPO Ib	2.36	321.21	61.07	17.43	2.40	13.76	16.91	17.94
TIPOS RESTANTES	97.64	127.81	71.24	10.26	3.27	31.87	9.75	10.76

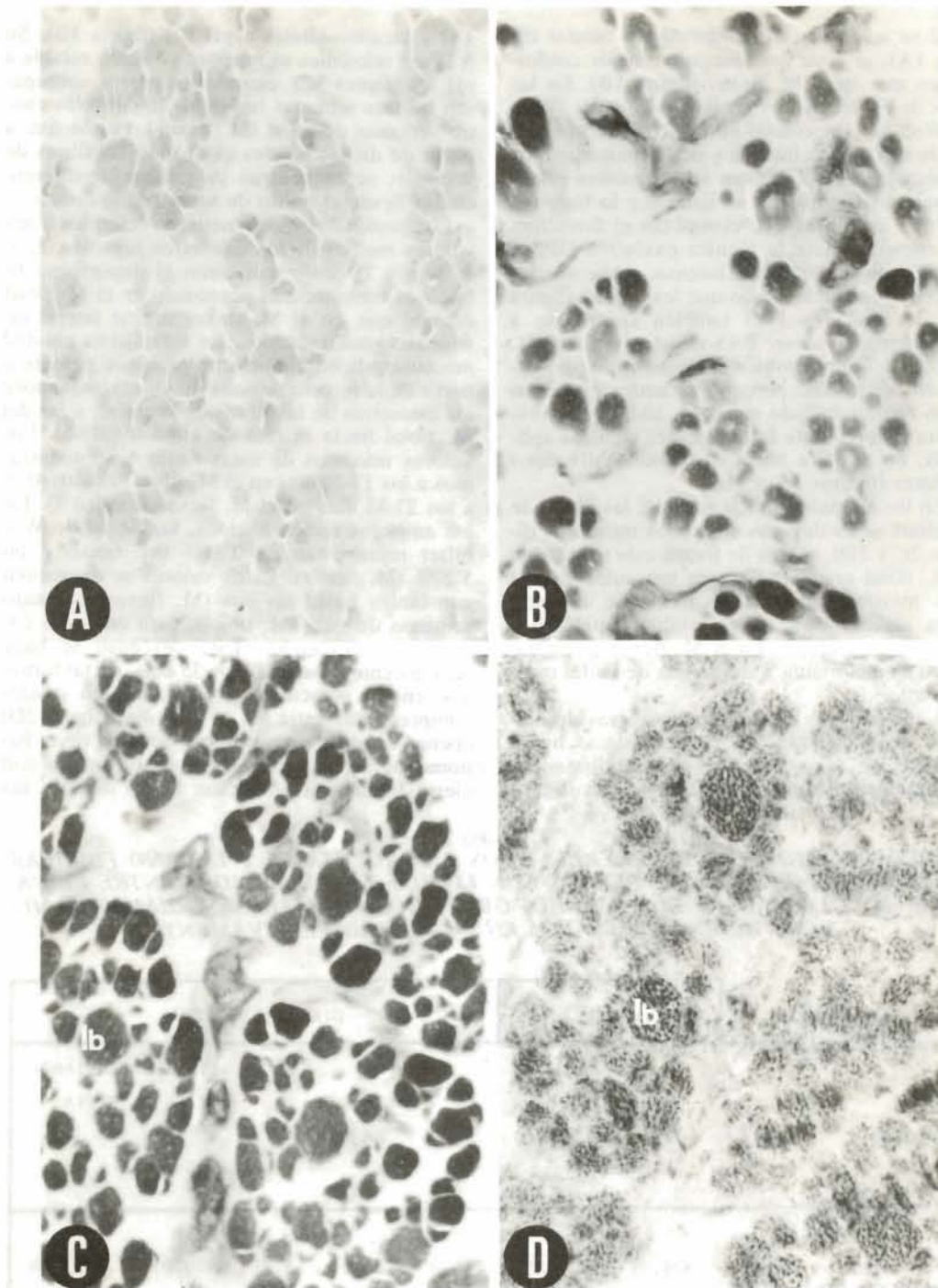


FIGURA 1. A: Sección transversal del M. tibial craneal de un feto de 50 días. Tinción tricrómico de Gomori modificado. 400X. B: Sección transversal del M. flexor digital lateral de un feto de 50 días. Reacción ATPasa tras preincubación ácida (pH 4'3). 400X. C: Sección transversal del M. tibial craneal de un feto de 55 días. Reacción ATPasa tras preincubación alcalina (pH 9'4). 400X. D: Sección transversal del M. tibial craneal de un feto de 55 días. Reacción DPNH. 400X.

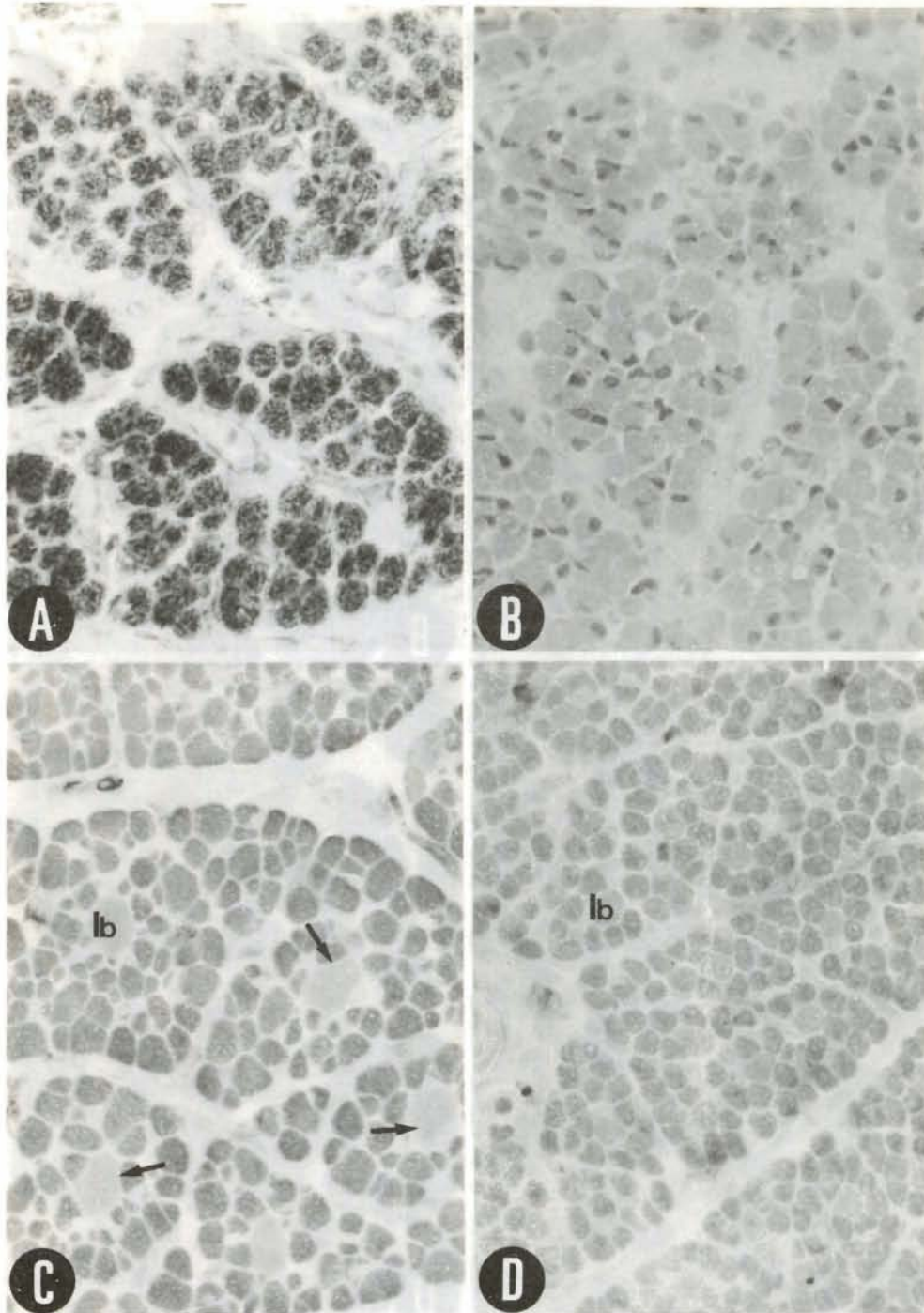


FIGURA 2. A: Sección transversal del M. flexor digital lateral de un feto de 55 días. Reacción DPNH. 400X. B: Sección transversal del M. flexor digital lateral de un feto de 55 días. Tinción tricrómico de Gomori modificado. 400X. C: Perro recién nacido. Sección transversal del M. tibial craneal. Reacción ATPasa tras preincubación ácida (pH 4'3). Las flechas indican fenómenos de «desdoblamiento». 400X. D: Perro recién nacido. Sección transversal del M. flexor digital lateral. Reacción ATPasa tras preincubación ácida (pH 4'3). 400X.

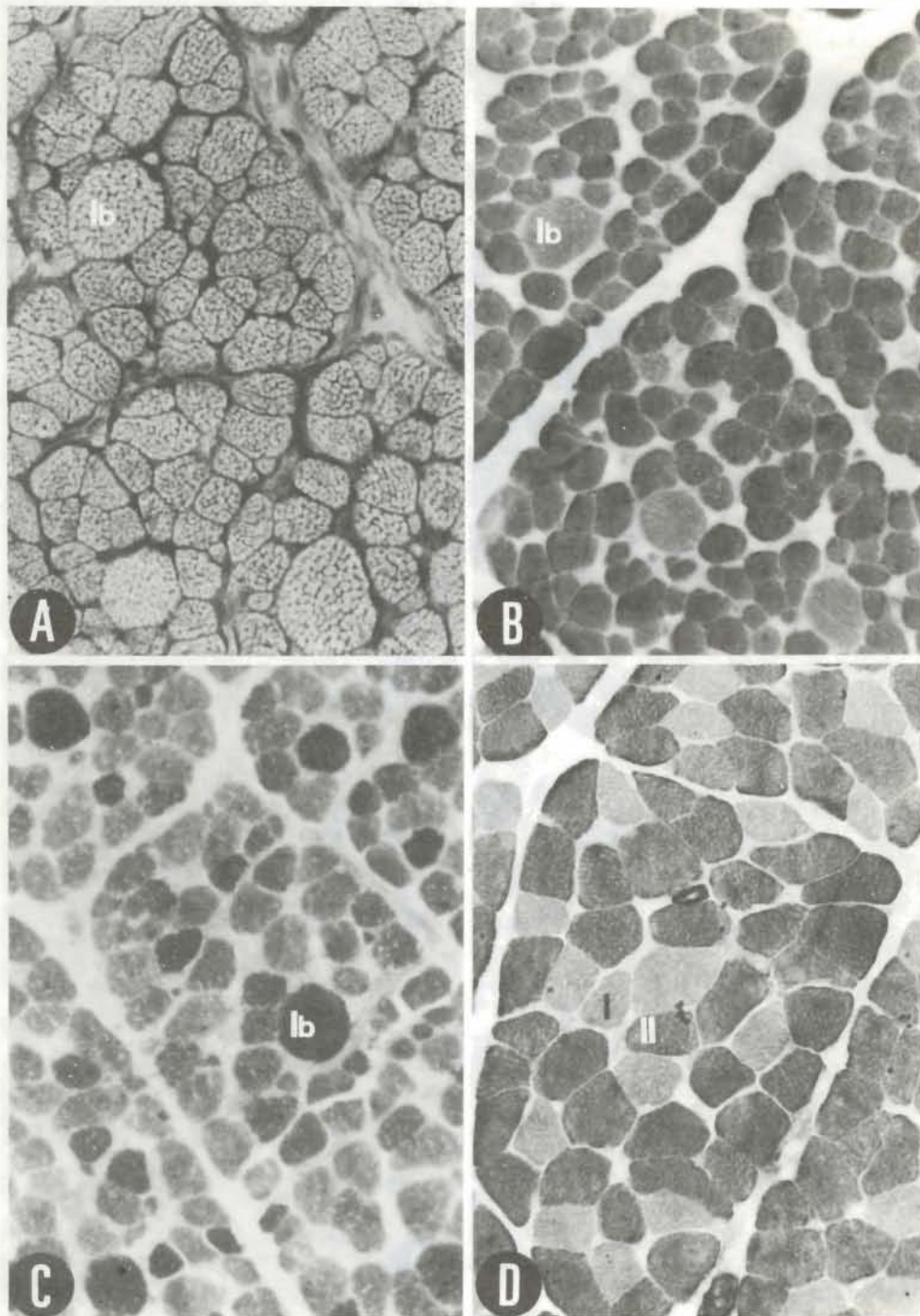


FIGURA 3. A: Perro de 15 días. Sección transversal del M. tibial craneal. Reacción PAS. 400X. B: Perro de 20 días. Sección transversal del M. tibial craneal. Reacción ATPasa tras preincubación alcalina (pH 9'4). 400X. C: Perro de 25 días. Sección transversal del M. tibial craneal. Reacción ATPasa tras preincubación ácida (pH 4'3). 400X. D: Perro de 50 días. Sección transversal del M. flexor digital lateral. Reacción ATPasa tras preincubación alcalina (pH 9'4). 400X.

CUADRO 3
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS RELATIVOS A PORCENTAJES Y TAMAÑO FIBRILAR DEL M. FLEXOR DIGITAL LATERAL DE PERROS CON EDADES COMPRENDIDAS ENTRE EL NACIMIENTO Y LOS 5 DÍAS. LOS VALORES OBTENIDOS PARA ÁREAS Y DIÁMETRO MENOR VIENEN EXPRESADOS EN μm^2 Y μm , RESPECTIVAMENTE

M. FL. DIGITAL LATERAL		AREAS		DIAMETRO MENOR				
FIBRAS	%	\bar{X}	Sd	\bar{X}	Sd	C.V.%	LIMITES CONFIANZA DE LA MEDIA al 95%	
							1	L
TIPO Ib	5.27	128.32	24.79	11.07	1.27	11.47	10.73	11.40
TIPOS RESTANTES	94.73	68.02	23.04	7.85	1.64	20.89	7.58	8.11

cinco primeras semanas de desarrollo postnatal (figura 2C).

DISCUSIÓN

Por tratarse de fibras ATPasa alcalino-lábil y ácido-estable, coincidimos con FENICHEL (1963), DUBOWITZ (1968) y CARDINET et al. (1969) en encuadrar a las fibras «b» de Wohlfart en el tipo I (BROOKE/KAISER, 1970), por lo que sugerimos catalogarlas como Ib. La labilidad mostrada por su ATPasa miosínica a pH 4.3 parece indicar que no se encuentran totalmente diferenciadas desde el momento de su aparición. Este hecho, que no ha sido advertido por otros autores (SCHLOON/SCHLOTTMAN, 1979; BRAUND/LINCOLN, 1981), viene a coincidir con las observaciones emitidas por GUTH/SAMAH (1972), RILEY (1973), CURLESS/NELSON (1976) y GAUTHIER et al. (1978), que confirman la diferenciación del sistema enzimático miosín-ATPasa en la fibra muscular a lo largo del desarrollo postnatal.

El haber denunciado este tipo de fibras en las dos entidades musculares analizadas, no presupone necesariamente que existan en otras, como así lo apuntan BRAUND/LINCOLN (1981) y CARDINET et al. (1983), que no las evidencian en los músculos gastronemios (cabeza lateral), flexor digital superficial del miembro pelviano y

pectíneo, de perros recién nacidos. Nuestros estudios revelan que las fibras de Wohlfart se evidencian como tales, bien en fetos de última semana de gestación (M. tibial), bien a partir del nacimiento (M. flexor). En cambio, parece ser que esto ocurre en estadios más tempranos en el caso de músculos de fetos humanos, ya que WOHLFART (1937) y DUBOWITZ (1968) las observan sobre la 18-28 semana de gestación. Más tardíamente son descritas por SCHLOTTMAN (1979), hacia la 25-33 semana de gestación (especie humana), y hacia los 2-3 días del nacimiento por LOBLEY et al. (1977) en músculos de conejo. No encontramos explicación al por qué unos músculos presentan este tipo de fibras y otros no, si bien FENICHEL (1963) considera que las fibras «gigantes» descritas por Wohlfart son simplemente un tamaño extremo de las fibras consideradas tipo I, definidas como de contracción lenta y de metabolismo oxidativo (PETER et al., 1972). La gran diferencia de tamaño que existe entre estas fibras y las tipo II durante la vida fetal y del neonato podría atribuirse a influencias de tipo neural.

Los valores de diámetro menor hallados por nosotros para estas fibras en el M. tibial craneal coinciden en parte con los de BRAUND/LINCOLN (1981) para este mismo músculo, al observar también cómo el tamaño de las fibras de Wohlfart se va incrementando de forma paulatina desde el nacimiento hasta los 35 días, aun-

CUADRO 4
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS RELATIVOS A PORCENTAJES Y TAMAÑO FIBRILAR DEL M. TIBIAL CRANEAL DE PERROS CON EDADES COMPRENDIDAS ENTRE LOS 17 y 20 DÍAS. LOS VALORES OBTENIDOS PARA ÁREAS Y DIÁMETRO MENOR VIENEN EXPRESADOS EN μm^2 Y μm , RESPECTIVAMENTE

M. TIBIAL CRANEAL		AREAS		DIAMETRO MENOR				
FIBRAS	%	\bar{X}	Sd	\bar{X}	Sd	C.V.%	LIMITES CONFIANZA DE LA MEDIA al 95%	
							1	L
TIPO Ib	2.60	681.81	140.73	26.49	3.31	12.49	25.72	27.25
TIPOS RESTANTES	97.40	190.29	82.77	12.96	3.32	25.77	12.28	13.62

CUADRO 5
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS RELATIVOS A PORCENTAJES Y TAMAÑO FIBRILAR DEL M. FLEXOR DIGITAL LATERAL DE PERROS CON EDADES COMPRENDIDAS ENTRE LOS 17 Y 20 DÍAS. LOS VALORES OBTENIDOS PARA ÁREAS Y DIÁMETRO MENOR VIENEN EXPRESADOS EN μm^2 Y μm , RESPECTIVAMENTE

M. FL. DIGITAL LATERAL		AREAS		DIAMETRO MENOR				
FIBRAS	%	\bar{X}	Sd	\bar{X}	Sd	C.V.%	LIMITES CONFIANZA DE LA MEDIA al 95%	
							1	L
TIPO Ib	4.45	171.80	49.10	12.25	2.16	17.63	11.63	12.86
TIPOS RESTANTES	95.55	105.22	24.65	9.71	1.41	14.49	9.48	9.92

que a esa edad, sus resultados ($34 \mu\text{m}$) se alejan de los nuestros ($24.88 \mu\text{m}$). Asimismo los porcentajes estimados en los animales recién nacidos vienen a coincidir con los referidos por otros autores cuando estudian músculo de

perro (BRAUND/LINCOLN, 1981) o de otras especies (WOHLFART, 1937; BEATTY et al., 1967; DUBOWITZ, 1968; DAVIES, 1972; LOBLEY et al., 1977). Pero quizás lo más reseñable, en cuanto a los aspectos morfométricos, sea la «desapari-

CUADRO 6
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS RELATIVOS A PORCENTAJES Y TAMAÑO FIBRILAR DEL M. TIBIAL CRANEAL DE PERROS CON EDADES COMPRENDIDAS ENTRE LOS 27 Y 35 DÍAS. LOS VALORES OBTENIDOS PARA ÁREAS Y DIÁMETRO MENOR VIENEN EXPRESADOS EN μm^2 Y μm , RESPECTIVAMENTE

M. TIBIAL CRANEAL		AREAS		DIAMETRO MENOR			LIMITES CONFIANZA DE LA MEDIA al 95%	
FIBRAS	%	\bar{X}	Sd	\bar{X}	Sd	C.V.%	1	L
TIPO Ib	1.42	673.57	137.13	24.88	3.25	13.06	24.23	25.52
TIPOS RESTANTES	98.58	311.14	107.16	16.08	3.58	23.35	15.47	16.67

CUADRO 7
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS RELATIVOS A PORCENTAJES Y TAMAÑO FIBRILAR DEL M. FLEXOR DIGITAL LATERAL DE PERROS CON EDADES COMPRENDIDAS ENTRE LOS 27 Y 35 DÍAS. LOS VALORES OBTENIDOS PARA ÁREAS Y DIÁMETRO MENOR VIENEN EXPRESADOS EN μm^2 Y μm , RESPECTIVAMENTE

M. FL. DIGITAL LATERAL		AREAS		DIAMETRO MENOR			LIMITES CONFIANZA DE LA MEDIA al 95%	
FIBRAS	%	\bar{X}	Sd	\bar{X}	Sd	C.V.%	1	L
TIPO Ib	2.50	701.05	183.52	23.91	3.51	14.68	23.36	24.45
TIPOS RESTANTES	97.50	202.65	38.27	13.48	1.74	12.95	13.12	13.84

X= Media; Sd= Desviación típica; C.V.%= Coeficiente de variación

ción» casi total de las fibras de Wohlfart transcurrida la quinta semana de vida. Este hecho ha sido también observado y a esta misma edad por BRAUND/LINCOLN (1981), que no dan una explicación de lo acontecido. En cambio, DUBOWITZ (1968) que también la observa al estudiar músculos de niños, la sitúa al nacimiento o a los 11 años de edad, dependiendo del músculo, y la atribuye al incremento de tamaño que va teniendo lugar en las restantes fibras, como así lo advirtiera antes WOHLFART (1937). Creemos que a esta causa deben unirse los fenómenos de «desdoblamiento» que han tenido lugar en estas fibras en el curso del desarrollo postnatal, hecho que hemos podido constatar en numerosas preparaciones.

El hecho de que las fibras «b» de Wohlfart sean de las primeras en conseguir una diferenciación histoquímica total, nos debe llevar a tratar de completar sus características desde la óptica ultraestructural, bioquímica e inmunohistoquímica, si realmente queremos expresar su verdadero significado y función.

BIBLIOGRAFÍA

- BEATTY, C. H.; G. M. BASINGER and BOCEK, R. M. (1967): Differentiation of red and white fibers in muscles from fetal, neonatal and infant rhesus monkeys. *J. Histochem. Cytochem.*, **15**, 93-103.
- BLOMSTRAND, E. and EKBLUM, B. (1982): The needle biopsy techniques for fibre type determination in human skeletal muscle. A methodological study. *Acta Physiol. Scand.*, **116**, 437-442.
- BRAUND, K. G. and LINCOLN, C. E. (1981): Histochemical differentiation of fiber types in neonatal canine skeletal muscle. *Am. J. Vet. Res.*, **42**, 407-415.
- BROOKE, M. H. and ENGEL, W. K. (1969): The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. Adult male and female. *Neurology*, **19**, 221-223.
- BROOKE, M. H. and KAISER, K. K. (1970): Muscle fibre types: How many and what kind? *Arch. Neurol.*, **23**, 369-379.
- BROOKE, M. H.; WILLIAMSON, E. and KAISER, K. K. (1971): The behavior of four fiber types in developing and reinnervated muscle. *Arch. Neurol.*, **25**, 360-366.
- CARDINET, G. H.; WALLACE, L. J. and FEDDE, M. R. (1969): Developmental myopathy in the canine. *Arch. Neurol.*, **21**, 620-630.
- CARDINET, G. H.; LEONG, C. L. and MEANS, P. S. (1983): Differentiation of myofiber types in canine pectineal muscle. Reports of the W.A.V.A.
- CURLLESS, R. G. and NELSON, M. B. (1976): Developmental patterns of rat muscle histochemistry. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **36**, 355-363.
- DAVIES, A. S. (1972): Postnatal changes in the histochemical fibre types of porcine skeletal muscle. *J. Anat.*, **113**, 213-240.
- DUBOWITZ, V. (1968): Developing and Diseased Muscle. A Histochemical Study. Willians Heinenman, London.
- DUBOWITZ, V. and BROOKE, M. H. (1973): Muscle Biopsy: A Modern Approach. W. B. Saunders, London.
- FARKAS-BAGERTON, E.; DIEBLER, M. F.; ARSENIO-NUNES, M. L.; VEHRLE, R. et ROSENBERG, B. (1977): Etude de la maturation histochemique, quantitative et ultrastructurale du muscle foetal humain. *J. Neurol Sci.*, **31**, 245-259.
- FENICHEL, G. M. (1963): The B fiber of human fetal skeletal muscle. A study of fiber diameter size. *Neurology*, **13**, 219-226.
- GAUTHIER, G. F.; LOWEY, S. and HOBBS, A. W. (1978): Fast and slow myosin in developing muscle fibres. *Nature*, **274**, 25-29.
- GUTH, L. and SAMAHA, F. J. (1972): Erroneous interpretations which may arise from application of the «myofibrillar ATPase» histochemical procedure to developing muscle. *Exp. Neurol.*, **34**, 465-475.
- LOBLEY, G. E.; WILSON, A. B. and BRUCE, A. S. (1977): An estimation of the fibre type composition of eleven skeletal muscles from New Zealand white rabbits between weaning and early maturity. *J. Anat.*, **123**, 501-503.
- PALAZON, J. A. (1986): Comunicación personal. Facultad de Veterinaria, Murcia.
- PETER, J. B.; BARNARD, V. R.; EDGERTON, V. R., GILLESPEI, C. A. and STEMPEL, K. E. (1972): Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscles in guinea pig and rabbits. *Biochemistry*, **11**, 2.627-2.633.
- RILEY, D. A. (1973): Histochemical changes in ATPase activity during regeneration of adult skeletal muscle fibers. *Exp. Neurol.*, **41**, 690-704.
- SCHLOON, H. and SCHLOTTMAN, J. (1979): The development of skeletal muscle in premature infants: Fiber size and histochemical differentiation. *Eur. J. Pediatr.*, **131**, 49-60.
- SHOREY, C. D. and CLELAND, K. W. (1983): Problems associated with the morphometric measurement of transverse skeletal muscle fibers. I. Analysis of frozen sections. *Anat. Rec.*, **207**, 523-531.
- WOHLFART, G. (1937): Über das Vorkommen verschiedener Arten von skelfasern in der Skelettmusculatur des Menschen und einiger Säugetiere. *Act. Psychiatr. Neurol. Scand.*, **12**, 1-119.