

ESTUDIO CITOQUÍMICO-PONDERAL DE LAS DISTROFIAS CONSECUENTES A LA RESECCIÓN DE LOS MÚSCULOS SEMITENDINOSO Y SEMIMEMBRANOSO DEL PERRO

Cytochemical and weight related study of the dystrophies by resection of semitendinosus and semimembranosus muscles of the dog

Moreno, F., Gil, F. y Vázquez, J. M.

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

Recibido: 25 abril

RESUMEN

Para determinar en el miembro pelviano del perro las modificaciones que resultan de la resección experimental de los músculos semitendinoso y semimembranoso, utilizamos un doble método: uno citoquímico y otro ponderal, con los que analizamos las respuestas distróficas compensadoras resultantes de las miectomías practicadas.

Se discuten e interpretan los gradientes de distrofias en los músculos sartorio y obturador externo, en relación con la naturaleza e influencias normales de los mismos, así como en relación a los principios biomecánicos del miembro en la locomoción.

Los resultados obtenidos confirman el paralelismo que se establece entre ambas adaptaciones (citoquímica y ponderal), apareciéndose manifestaciones específicas de respuestas muy significativas entre las fibras del tipo I (sartorio), las cuales son mucho más moderadas en el músculo atrófico (obturador externo). En todos los casos la adaptación citoquímica se nos presenta más lenta que la ponderal, llegando a igualarse ambas con el transcurrir del tiempo.

Palabras clave: Músculo, Tipos fibras, Citoquímica, ATPasa.

SUMMARY

For determining the modifications on the right pelvic limb of the dog that result after the experimental resection of the semitendinosus and semimembranosus muscles, a double approach is used: cytochemical and quantitative, making possible to analyze compensating dystrophic responses to resections.

Gradients of dystrophy on the sartorius and obturatorius externus are discussed with regard to their nature and influences, and to the biomechanical locomotory principles of the limb.

The results confirm the parallelism existing between both adaptations (cytochemical and quantitative). It appears specific manifestations of very significative responses on type I fibers of the hypertrophic muscle (sartorius), which are much more moderate on the atrophic muscle (obturatorius externus). In every case the cytochemical response is lower than the quantitative one at the first time, but these become thereafter equal.

Keywords: Muscle, Fiber type, Cytochemical, ATPase.

INTRODUCCIÓN

La recuperación funcional consecuyente a resecciones musculares en el perro fueron descritas por MORENO (1979) en sus manifestaciones ponderales, en cambio, JAMES (1979) las analiza bajo sus aspectos citoquímicos. En la idea de correlacionar ambos procedimientos planteamos nuestra experiencia, practicando miectomías en el miembro pelviano del perro y, después de un período de recuperación funcional, analizamos las distrofias compensadoras que se producen, sometiendo las comunidades musculares a un estudio conjunto citoquímico y ponderal.

Pretendemos estudiar mediante selección de técnicas de ATPasa (ácidas y alcalinas) los cambios que se operan en los distintos tipos de fibras del músculo distrófico. Además, con una correcta aplicación de metodología estadística, la variabilidad en la distribución topográfica de las fibras en la sección transversal del músculo, nos permite sin duda, controlar la dispersión de resultados consecuentes a la propia naturaleza del músculo a analizar.

De lo expuesto se deduce la doble finalidad que persigue esta experiencia: por un lado, la posibilidad de servir al mejor conocimiento de la anatomía funcional del miembro pelviano del perro en base a principios biomecánicos y ponderales; por otro, analizar las incidencias aplicativas consecuentes al comportamiento citoquímico de los músculos implicados.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizan en la experiencia 12 perros de tamaño y peso medios, comprobándose para su elección la normalidad de sus constantes vitales, y muy especialmente la de sus funciones locomotoras. Los animales fueron sometidos a la resección total de los músculos semitendinoso y semimembranoso del miembro pelviano derecho, a excepción del grupo control o no operado. En ambos grupos control y operado, los perros se sometieron a un procedimiento ponderal y citoquímico.

En el procedimiento ponderal, el grupo control fue destinado para comprobar las diferencias de desarrollo muscular entre ambos miembros pelvianos del mismo animal (MORENO, 1979) sobre todo la de los músculos sartorio y obturador externo, objetivo primordial de nuestro estudio. Al grupo de animales operados, se les practicó la resección total de los músculos semitendinoso y semimembranoso del miembro pelviano derecho; tras un período de post-operatorio de 10-12 días, los animales fue-

ron sometidos sistemáticamente a ejercicios progresivos, a fin de conseguir una adaptabilidad y recuperación funcional del miembro implicado. Finalmente, una vez recuperados, los animales fueron sacrificados previa anestesia con barbitúricos, y seguidamente, se estableció el estudio ponderal de las comunidades musculares implicadas en el proceso de recuperación, atendiendo preferentemente a los músculos sartorio y obturador externo.

En el procedimiento citoquímico, aplicamos la misma sistemática, pero ya incidiendo solamente sobre los músculos Ob. externo y sartorio. El grupo control nos sirvió para establecer los patrones citoquímicos normales aplicándoles las técnicas de ATPasa a distintos pH (9'4, 4'6, 4'3) según la metodología de DUBOWITZ (1973), dividiendo la sección transversal del músculo en cinco campos: craneal, caudal, lateral, medial y central (RODRÍGUEZ BARBUDO et al., 1984) y, mediante métodos estadísticos precisos, se obtiene la morfometría media de las áreas y diámetros mínimos de los tipos de fibras que integran los músculos que analizamos.

En el grupo de perros operados, una vez recuperados funcionalmente y realizado su estudio ponderal, se practicó un análisis histoquímico con iguales técnicas que en el grupo control, a fin de establecer diferencias comparativas entre ambas.

RESULTADOS

Al objeto de poder compendiar del mejor modo los posibles datos resultantes en las distintas facetas que comprende la experiencia, aludiremos a los siguientes extremos:

A) Rasgos de evolución clínica y modificaciones funcionales que se expresan durante el post-operatorio y período de recuperación.

B) Alteraciones morfológicas (distrófias) resultantes, valoradas en base a estimaciones ponderales de las musculaturas relacionadas funcionalmente con las afectadas en las intervenciones quirúrgicas.

C) Comprobación de los grados de atrofia o hipertrofia muscular más significativos, mediante análisis citoquímico de las muestras recogidas al efecto.

A.— Entre las connotaciones clínicas y funcionales durante el período de recuperación, merecen destacar serias dificultades para la protracción del miembro operado, que se ve arrastrado en semiextensión durante los primeros días. A partir del 21.º día se inicia la recuperación funcional del miembro, empezando con una propulsión «en salto» y consiguiente rotación lateral del muslo, para ya a partir de

los 68-70 días quedar sólo la secuela de un apoyo incompleto del pie, efectuado éste con los dedos 2.º y 3.º

B.— Las distrofias compensadoras más significativas de los músculos funcionalmente relacionados con la resección del semitendinoso y semimembranoso quedan claramente reflejadas en el Cuadro n.º 1.

Las principales respuestas hipertroóficas corresponden a aquellas formaciones musculares en las que su acción dinámica cae de hecho bajo la influencia de los momentos de fuerza de la articulación de la cadera y de la rodilla, puesto que la acción extensora de los músculos semitendinoso y semimembranoso debe quedar suplida, con la resultante de las fuerzas ejercidas por estas musculaturas. Ello explica también el estado de laxitud y paralelo grado de atrofia que acompaña las musculaturas antagónicas a las extirpadas.

C.— El comportamiento histoquímico de la musculatura a analizar, tanto de animales normales como operados, la realizamos enfrentándolos a técnicas de ATPasa a pH 4'3 y 9'4 principalmente; la morfometría se efectuó sobre cinco campos (craneal, caudal, lateral, medial y central) de la sección transversal del músculo.

El grupo testigo, y más concretamente los músculos sartorio y obturador externo de los animales normales se comportó como se indica en el Cuadro n.º 2.

Las modificaciones citoquímicas que se expresan en los grados de distrofia muscular simple, nos aparecen al igual que antes lo habían hecho ponderalmente en el músculo sartorio para las hipertrofias: aumento de 255'23 μm^2 en las áreas medias de las fibras tipo I, con respecto a las mismas áreas del perro patrón, y un aumento de 1'98 μm en los diámetros mínimos medios de dichas fibras tipo I. Las fibras tipo II

CUADRO 1
VALORES MEDIOS PORCENTUALES DE DESARROLLO DIFERENCIAL ENTRE MÚSCULOS HOMÓLOGOS (DE ANIMALES NORMALES) Y DE DISTROFIA MUSCULAR SIMPLE (EN ANIMALES OPERADOS) BASADAS EN ESTIMACIONES PONDERALES DE LOS MÚSCULOS QUE SE EXPRESAN, TRAS RESECCIÓN DE LOS CONGÉNERES SEMITENDINOSO Y SEMIMEMBRANOSO

Músculos	ANIMALES CONTROL		ANIMALES OPERADOS			
	% Desarrollo diferencial entre mm. homólogos		% Distrofias en términos relativos		% Distrofias en términos absolutos	
	M. dcho.	M. izq.	Hipert.	Atrof.	Hipert.	Atrof.
Cuadrado lumbar	1'64		1'38			0'26
Psóas menor	2'82			0'62		3'44
Iliopsóas	2'15			1'83		3'98
Glúteo superficial	1'44		11'26		9'82	
Piriforme	0'52		2'36		1'84	
Glúteo medio	0'81		4'78		3'97	
Glúteo profundo		0'66	12'35		13'01	
Obturador interno	4'66		5'08		0'42	
Obturador externo		3'78		10'03		7'25
Articular cadera		1'12		3'33		2'21
Gemelos	0'01		2'29		2'28	
Pectíneo		1'64		3'72		2'08
Cuadrado femoral		1'04	12'59		13'63	
Gracilis	0'20		1'35		1'15	
Aductor	0'36		3'11		2'75	
Sartorio	0'34		14'57		14'23	
Tensor fascia lata	0'61			0'93		1'54
Cuádriceps femoral	1'29			3'69		4'98
Bíceps femoral	3'59			0'68		4'27
Gastronemio	3'56			1'18		4'74

CUADRO 2
DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS TIPOS DE FIBRAS, ASÍ COMO LAS MEDIAS DE LAS ÁREAS Y DIÁMETROS MÍNIMOS EN LOS MÚSCULOS SARTORIO Y OBTURADOR EXTERNO DE ANIMALES NORMALES Y OPERADOS

SARTORIO PATRON				SARTORIO OPERADO			
Tipo I	31'4%	\bar{x} de las áreas	1.517'2 μm^2	Tipo I	35'2%	\bar{x} de las áreas	1.772'3 μm^2
		\bar{x} de los diámetros mínimos	36'49 μm			\bar{x} de los diámetros mínimos	38'47 μm
Tipo II	68'6%	\bar{x} de las áreas	2.328'6 μm^2	Tipo II	64'8%	\bar{x} de las áreas	2.435'9 μm^2
		\bar{x} de los diámetros mínimos	46'93 μm			\bar{x} de los diámetros mínimos	47'52 μm
OBTURADOR EXTERNO PATRON				OBTURADOR EXTERNO OPERADO			
Tipo I	53'2%	\bar{x} de las áreas	2.353'8 μm^2	Tipo I	43'3%	\bar{x} de las áreas	1.958'5 μm^2
		\bar{x} de los diámetros mínimos	46'58 μm			\bar{x} de los diámetros mínimos	42'23 μm
Tipo II	46'8%	\bar{x} de las áreas	3.088'1 μm^2	Tipo II	56'7%	\bar{x} de las áreas	2.287'6 μm^2
		\bar{x} de los diámetros mínimos	54'77 μm			\bar{x} de los diámetros mínimos	46'26 μm

del músculo sartorio aumentaron 107'31 μm^2 en sus áreas y 0'59 μm en sus diámetros mínimos respecto a los mismos parámetros del perro patrón. En cambio, el músculo obturador externo se comporta con una atrofia ponderal de 110'03%; citoquímicamente los resultados están muy a tenor con esta atrofia, dada la disminución del tamaño medio de sus áreas en 395'25 μm^2 y 800'47 μm^2 para las fibras tipo I y II respectivamente; y de 4'35 μm y 8'51 μm para los diámetros mínimos medios de las mismas fibras, como queda claramente demostrado en el Cuadro n.º 2.

Importancia debemos de dar, no sólo al aumento y disminución de los parámetros morfo-métricos sino también, a los cambios detectados en el porcentaje de fibras lentas (tipo I) y rápidas (tipo II), pues mientras que en el músculo hipertrófico apenas sí cambia, sólo se de-

tecta un ligero aumento de las rápidas, en cambio sí es significativo un aumento en el músculo atrófico a favor de las fibras lentas, pasando de 46'8% en el perro normal a 56% en el animal operado. Otro tanto ocurre con las fibras IIc que adquieren un porcentaje de 30% en el sartorio operado y casi no aparecen en el músculo obturador externo.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos nos permiten adentrarnos en el conocimiento del comportamiento funcional del músculo del perro, concretamente demostrar la correlación entre los cambios ponderales del músculo distrófico y más aún, su comportamiento citoquímico.

Los dos músculos analizados, fueron afecta-

caso en 193 sobre el músculo sartorio normal, al ser tratado con ATPasa a pH 4.3, se observó un tipo de fibra que se denominó "fibra tipo I" y otra que se denominó "fibra tipo II". Estas fibras se diferenciaron por su contenido en ATPasa, siendo la fibra tipo I de tipo I y la fibra tipo II de tipo II.

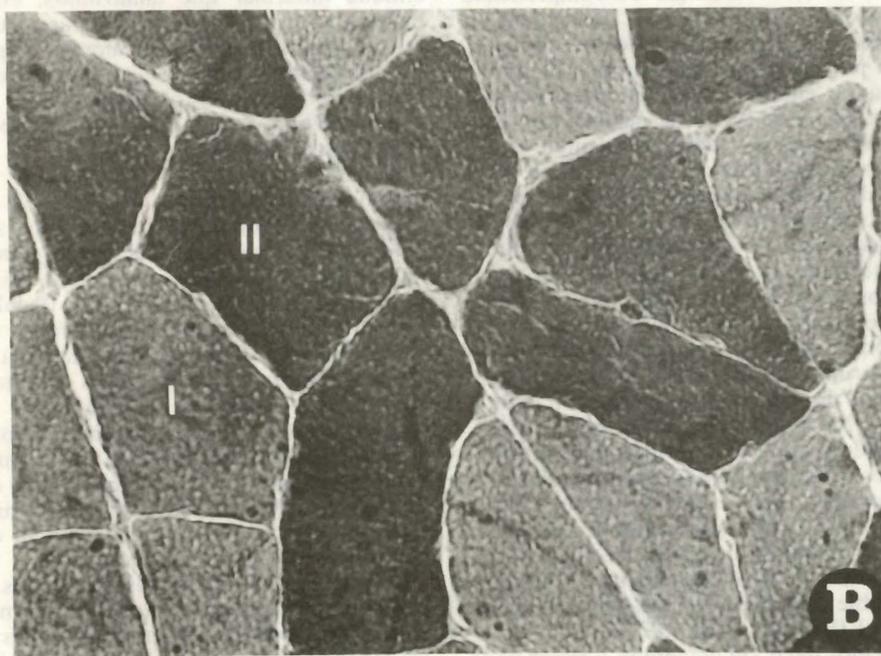
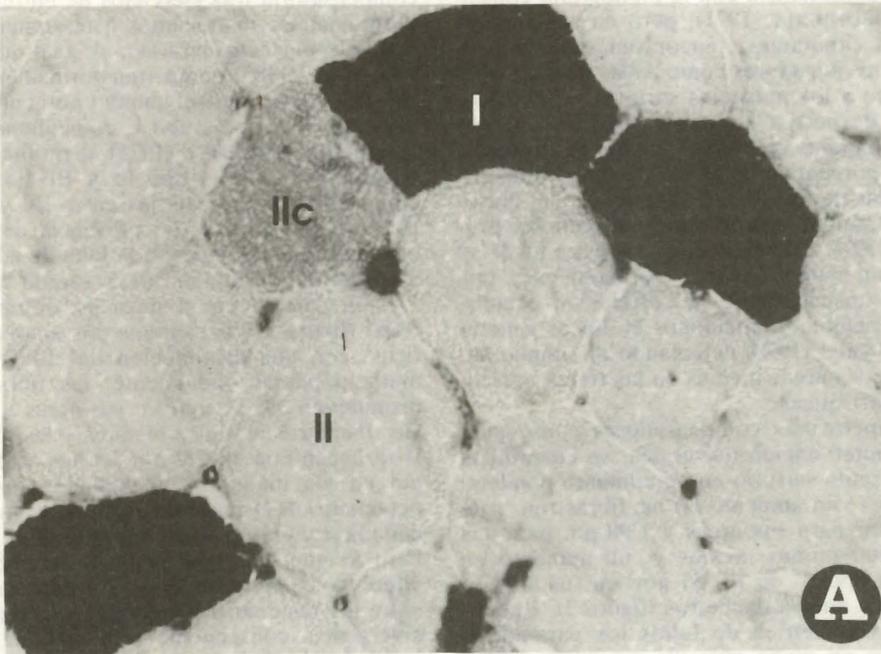


FIGURA 1. Representación en A del músculo sartorio de perro normal con técnica ATPasa a pH 4'3 y en B el músculo obturador externo normal con ATPasa a pH 9'4.

dos con una hipertrofia ponderal del 14'57% en el músculo sartorio y una atrofia en el obturador externo del 7'50%, resultados ponderales muy en consonancia con la bibliografía consultada (ZOBUNDZIJA, 1971); pero en su comportamiento citotímico, encontramos discrepancia con investigadores como ARMSTRONG (1982) en cuanto a los músculos sartorio y obturador externo de perros normales (figura 1), en los que reseña unos resultados, donde la diferencia entre el porcentaje de fibras de tipo I con respecto a las de tipo II, no superan el 5%. Nosotros en cambio, encontramos diferencias próximas al 30%. Creemos tener a nuestro favor, el uso de un número mayor de animales y una correcta aplicación de la correlación estadística. En cambio, coincidimos en líneas generales con JAMES (1978) detectando un amplio aumento de las áreas medias en las fibras musculares hipertroficas.

Las hipertrofias compensadoras consecuentes a la intervención quirúrgica, se cuantifican en el músculo sartorio en un aumento ponderal del 14'25%; un aumento en las fibras tipo I de 255'23 μm^2 para sus áreas y 1'98 μm para sus diámetros mínimos medios y, un aumento en las fibras tipo II, de 107'31 μm^2 en sus áreas y de 0'55 μm en sus diámetros (figura 2). La ampliación volumétrica de todos los parámetros analizados en dicho músculo es comprensible dada la acción antagónica que desempeña el sartorio respecto a las musculaturas extirpadas, y no sólo por esto, sino también por su propia naturaleza de entidad muscular integrada por fibras paralelas y de brazo de palanca muy amplio. De ahí, que los cambios asienten en él, con mayor preponderancia que en otras musculaturas de acción sinérgica e igual efecto locomotor compensatorio. Estos resultados se matizan aún más, si analizamos las modificaciones detectadas en el cambio de proporcionalidad de los tipos de fibras integrantes del músculo. Observamos un ligero aumento de 3'80% de las fibras tipo I del músculo operado respecto al normal. Se demuestra así un desplazamiento hacia un músculo de contracción lenta y sostenida (ANTHONY and COLEMAN, 1967), desplazamiento que nos certificaron las pruebas funcionales a las que fueron sometidos los animales operados. Este hecho es comprensible dado lo comprometido que queda el acto locomotor en el miembro operado, haciéndose necesario un mayor aprovechamiento de la energía disponible, fenómeno contrastado ya en las fibras tipo I (SALTIN, et al. 1977).

No debemos dejar sin comentar, a pesar de lo comprometido que pueda ser el aumento tan manifiesto de las fibras tipo IIc (BROOKE and KAISER, 1973) llegando hasta proporciones de

casi un 30% sobre el músculo sartorio normal, aunque (NEWSHOLME and LEECH, 1983) no hagan alusión a ello, al analizar la hipertrofia compensatoria tras ejercicios de entrenamiento programados. Justificamos este aumento de fibras IIc, por considerarlas, al igual que CARDINET et al. (1983) como transformables en Ia y IIa. Así, deducimos el cambio porcentual de fibras tipo II a fibras tipo I, coincidiendo plenamente con CARDINET (1975) al ratificar la presencia de las fibras tipo Ib y IIb en el perro como fibras intermediarias entre IIc y las Ia y IIa respectivamente. La presencia de IIc, por otra parte, nos demuestra la falta de adaptación total del músculo a su nuevo estado funcional.

Inversamente en el músculo obturador externo (figura 3) los cambios nos aparecen atróficos, con una disminución del 10'03% en su matiz ponderal. Igualmente, las fibras tipo I disminuyen 395'25 μm^2 en sus áreas y 4'35 μm sus diámetros mínimos medios, y las fibras tipo II lo hacen con 800'47 μm^2 en las áreas y 8'51 μm en los diámetros. Resultado contrario al detectado en el músculo sartorio y, justificado dada la acción funcional del obturador externo. Pero lo que más nos llama la atención, es la diferente correlación que se puede establecer entre los resultados ponderales y citotímicos; divergencia consecuente a la naturaleza de la entidad muscular que analizamos, en la que destaca un corto brazo de palanca y una diferencia manifiesta entre su amplio origen e inserción tendinosa. Por lo que no es de extrañar, que su comportamiento citotímico se vea más comprometido, hecho éste demostrado con los resultados obtenidos.

Como era presumible, los cambios de proporcionalidad en los tipos de fibras que integran el músculo obturador externo de los animales operados, se desplazan hacia una disminución de las fibras tipo I, o lo que es lo mismo, un cambio hacia el músculo rápido. Resultado lógico debido a la acción del obturador sobre el centro estático de la articulación de la cadera, articulación muy comprometida al faltar la acción de los músculos semitendinoso y semimembranoso y consecuentemente la presencia de una excesiva lateralización del miembro pelviano en el acto locomotor, por lo que el brazo de palanca del obturador externo disminuye y, para compensar esta circunstancia su contracción debe ser mucho más rápida.

Finalmente, de todos los resultados obtenidos podemos deducir un aumento desmesurado en la proporción de fibras tipo I en los músculos hipertroficos, incluso de mayor cuantía a las cifras que hemos manifestado con anterioridad en el capítulo de resultados, con la consecuente transformación muscular hacia una entidad de

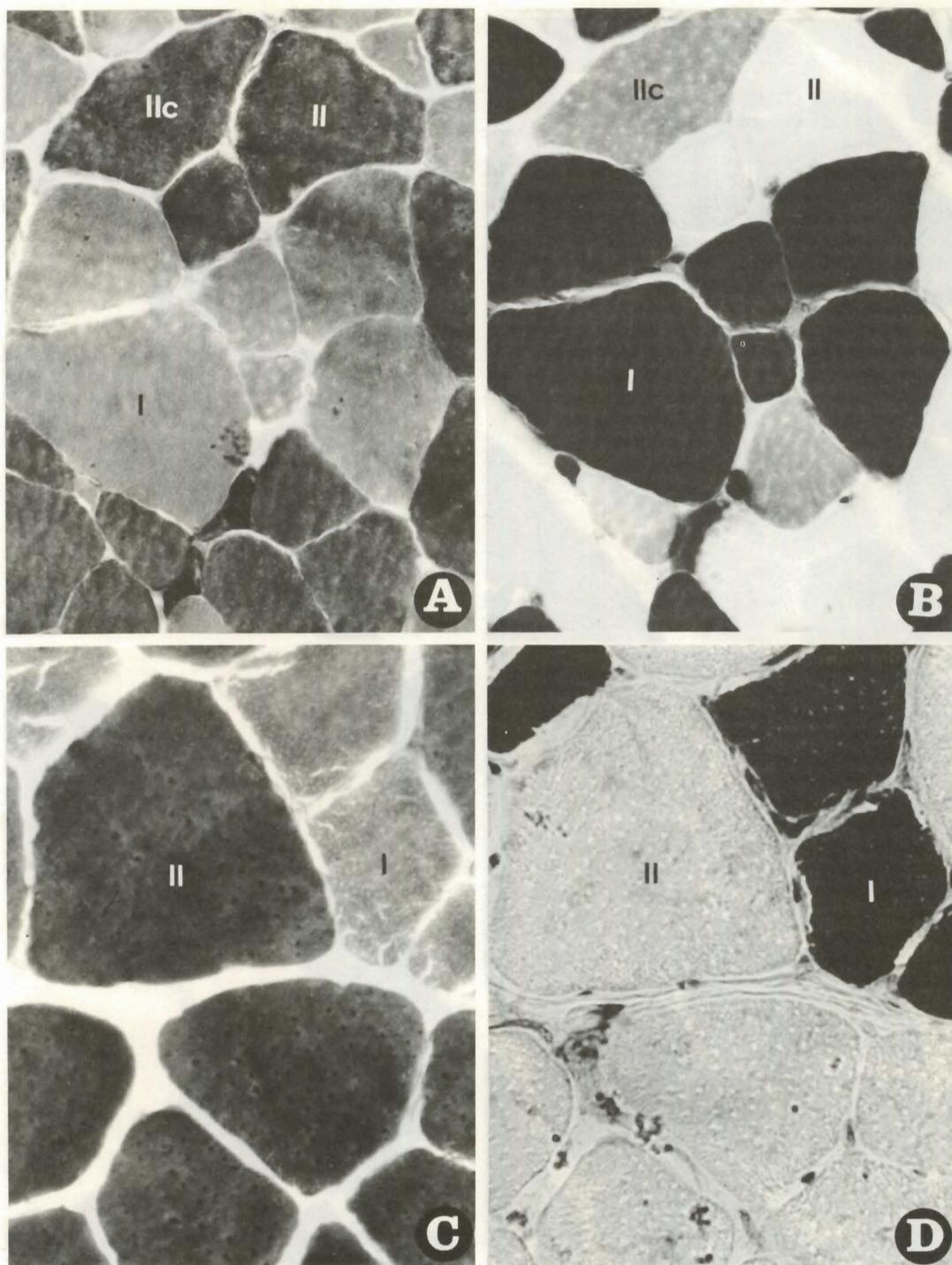


FIGURA 2. Comportamiento citoquímico del músculo sartorio: en A y B de perros normales y en C y D de animales operados, frente a técnicas de ATPasa de pH 9'4, A y C, y pH 4'3, B y D.

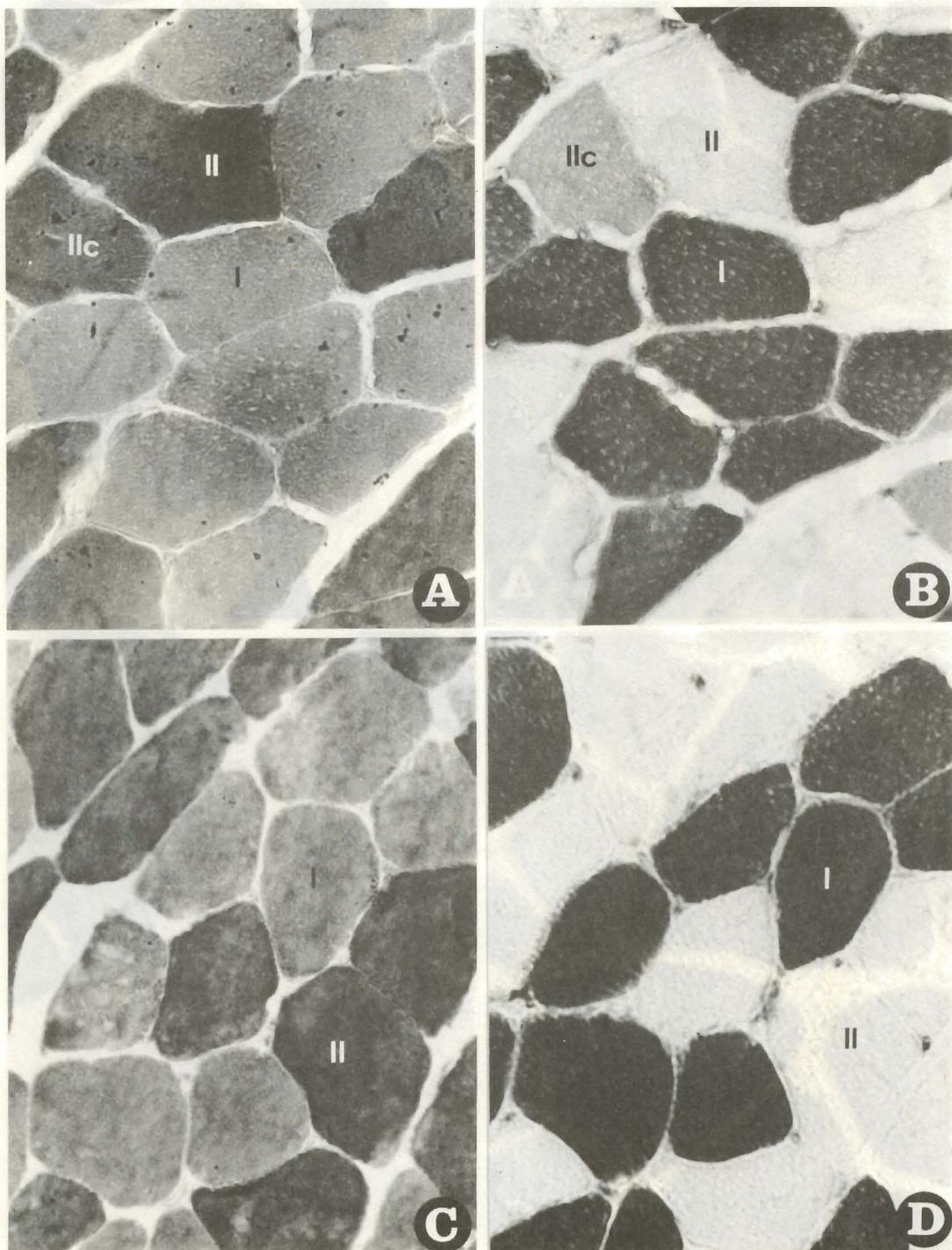


FIGURA 3. Músculo obturador externo de perro normal con ATPasa a 9'4 y 4'3 en A y B y animales operados con las mismas técnicas en C y D.

contracción más lenta y sostenida, «músculo mitocondrial». Por el contrario, en las musculaturas atroficas disminuyen las fibras tipo I pero en grado mucho más moderado, tendiendo el músculo hacia una función contráctil rápida y de escaso rendimiento, «músculo glicolítico», y siempre, los cambios distróficos se detectaron antes y en mayor cuantía por el procedimiento ponderal que por el citoquímico, cambios adaptativos que tienden a igualarse una vez superado el factor tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

- ANTHONY, R., and COLEMAN, L., 1967: New myopathy with mitochondrial enzyme hyperactivity, histochemical demonstration. *J.A.M.A.*, *193*: 624-630.
- ARMSTRONG, R. B., JANUZZO, C.D. and KUNZ, S., 1982: Distribution of fiber types locomotory muscles of dogs. *Amer. J. Anat.*, *163*: 87-98.
- BROOKE, M. H., and KAISER, K. K., 1973: Muscle fibre types: How many and what kind. *Arch. Neurol.*, *23*: 369-379.
- CARDINET, G. H., 1975: Myofiber type-grouping and type-predominance in canine pectineal muscles. *Zbl. Vet. Med.*, *4*: 368-375.
- CARDINET, G. H., WALLACE, L. J., FEDDE, M. R., GUFFY, M. M., and BARDENS, J. W., 1983: Developmental myopathy in the canine with type II muscle fiber hypotrophy. *Arch. Neurol.*, *21*: 620-630.
- DUBOWITZ, V., and BROOKE, M. H., 1973: *Muscle biopsy: A modern approach*. Saunders Eds., London.
- JAMES, N. T., 1978: The distribution of type I and type II fibres in muscles. *J. Anat.*, *108*: 612-613.
- 1979: Studies on the response of different types of muscle fibre during surgically induced compensatory hypertrophy. *J. Anat.*, *129*: 769-776.
- MORENO, F., 1979: Influencias biomecánicas tras resecciones de algunos músculos del miembro pelviano del perro. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.
- NEWSHOLME, E. A., and LEECH, A. R., 1983: *Biochemistry for the medical sciences*. Eds. John Wiley. N. Y.
- RODRÍGUEZ-BARBUDO, M. V., MORENO, F., CARPIO, M., FUENTES, S., and AGUERA, S., 1984: Estudio citoquímico y morfométrico del músculo tibial craneal en perros de diferentes aptitudes dinámicas. *Zbl. Vet. Med.* *3*: 2-17.
- SALTIN, B., HENRIKSSON, J., NYGAARD, E., et al., 1977: Fibre types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, *301*: 3-29.
- ZOBUNDZUA, M., 1971: The effect of the resection of the gluteal muscle on the hind limb in dogs. VII Congreso de la Asociación Europea de Anatomistas Veterinarios. Bologna.