

## POTENCIACION TARDIA POR ESTIRAMIENTO EN EL MUSCULO ESQUELETICO DE LA RATA

Juan García Ramos\*

Goldspink, en 1977, reportó que el estiramiento de un músculo esquelético provocó el crecimiento rápido del músculo alargado y que esto se acompañó de aumento en la síntesis proteínica. Este resultado confirmó otras observaciones anteriores (Sola y Martin, 1953; Buresova *et al.*, 1969; Stewart *et al.*, 1952; Goldspink *et al.*, 1974) algunas de ellas realizadas en músculos denervados, lo que parece eliminar la posibilidad de que los cambios pudieran haber sido debidos a la tensión activa inducida por un reflejo miotático.

Aunque parece implícito en la hipertrofia muscular que se reporta, que también se produjera aumento en la capacidad del músculo para realizar trabajo, no hay datos precisos sobre este aspecto particular del problema. En la mayor parte de los casos los músculos han sido inmovilizados en situación de alargamiento por periodos largos de tiempo, de suerte que un factor de complicación pudiera ser la atrofia por desuso. Así que lo único que puede decirse es que cuando el músculo se mantiene estirado su atrofia es mucho menor (Spector *et al.*, 1982).

La pregunta de cuán importante puede ser el aumento en la capacidad para desarrollar trabajo y qué tan pronto aparece este cambio, no ha recibido mucha atención. Ashmore (1982) señala la posible importancia de la hipertrofia inducida por el alargamiento en la condi-

ción patológica denominada distrofia muscular hereditaria. El presente estudio se refiere a algunos aspectos de este problema, e incluye una comparación entre los efectos de periodos breves de alargamiento en músculos inervados y denervados.

### METODO

Las observaciones se hicieron en 30 ratas albinas del tipo Wistar anestesiadas con pentobarbital, 35 mg por kg por vía intraperitoneal como dosis inicial, y la mitad de esta cantidad cada 45 a 60 min. Las dos terceras partes de estos animales tenían 200 g de peso. Los restantes fueron o animales muy jóvenes (menos de 100 g) o ratas adultas de 300 o más gramos de peso. Los músculos gastrocnemios de ambos lados fueron desinsertados del calcáneo, y sus tendones de Aquiles conectados con miógrafos isométricos (transductores de tensión *Grass, FT 10*) para el registro de los cambios de tensión en un polígrafo (*Grass, modelo 7D*). El fémur fue atravesado por una aguja de acero en su epífisis inferior y sujetado así a un soporte rígido. La temperatura del animal se registró por medio de un termómetro insertado en el recto y se mantuvo dentro de los límites normales por la aplicación de una lámpara colocada encima a cierta distancia.

Los músculos fueron estimulados por choques supramáximos aplicados al ciático *in situ*, o al cabo periférico de este nervio machacado a su salida de la pelvis. La frecuencia de estimulación nunca fue mayor de un pulso

\*Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 14-740. México 14, D. F. 07000.

cada 10 segundos. El estiramiento del músculo fue realizado por tracción manual del transductor de tensión, o de la cadena o hilo de nylon que unía el músculo al miógrafo. Las tensiones aplicadas variaron entre 600 y 1 000 g y fueron sostenidas por periodos entre 15 segundos y 20 minutos. Después de un estiramiento, la tensión inicial para el registro de las sacudidas musculares por estimulación fue cuidadosamente ajustada al valor previo, ya que el músculo queda alargado después de ser estirado. Este alargamiento de todo el músculo bien pudiera llevarlo a un sitio diferente en la curva tensión/alargamiento. Por ello en algunos casos fue necesario tomar un nuevo valor basal para la amplitud de las sacudidas obtenidas con los estímulos de prueba. Esto se hizo cuando se alcanzó un nuevo valor estable de dicha amplitud después del estiramiento, que se obtuvo generalmente como a los 10 minutos. La tensión inicial basal fue usualmente entre 60 y 200 gramos. Los cambios tardíos en la amplitud de las respuestas a los choques de prueba se tomaron como variaciones porcentuales del nuevo valor estable después de cada periodo de estiramiento. Los estiramientos fueron repetidos a intervalos de aproximadamente 60 minutos.

En algunos de los experimentos se midió la impedancia eléctrica del músculo entre dos agujas finas insertadas paralelamente en el vientre del músculo a ambos lados del tendón de Aquiles. Las medidas fueron hechas para corriente alterna de 1 kHz con ayuda de un puente de Wheatstone balanceado con resistencia y capacidad en paralelo. El aparato empleado fue el metro de impedancia *General Radio* y los cambios seguidos en la pantalla de un osciloscopio *Tektronix 502 A*. Como inhibidores de la síntesis protéica se emplearon la cicloheximida o el cloranfenicol a dosis de 20 mg por kg, disueltas en solución salina caliente e inyectadas por vía intraperitoneal.

## RESULTADOS

*Efectos del estiramiento.* El estiramiento breve del músculo fue seguido, al cabo de 20-30 min, por una potenciación gradual de la amplitud de las respuestas a los estímulos supramáximos de prueba. Esta potenciación se prolongó por más de 1 hora (Fig. 1). El efecto máximo se alcanzó en 30-60 min y fue de 105 a 120 por ciento de los valores basales. Un segundo estiramiento del músculo dio general-

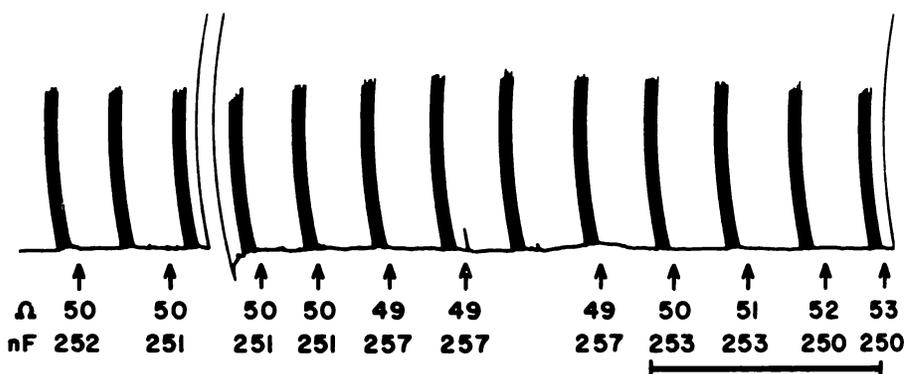


Fig. 1. Curso temporal de la potenciación mecánica de respuestas musculares producidas por estímulos eléctricos supramáximos después de un breve periodo de estiramiento con tensión de 1 kg. El estiramiento, aplicado entre el 3º y 4º trenes de estímulos con frecuencia de 0.1 por segundo, fue el primero de este experimento particular. La tensión inicial del músculo fue de 150 g. Las cifras abajo de los registros son los valores de la impedancia eléctrica en ohms (fila superior) y nanofaradios (fila inferior). Las medidas fueron hechas en los momentos indicados por las flechas. Al final del trazo puede verse el inicio de un segundo estiramiento del músculo. Calibración de tiempo: 20 min.

mente una potenciación mayor que el primero, especialmente cuando fue aplicado durante el cambio máximo provocado por este primero. Los estiramientos sucesivos produjeron, cada uno de ellos, mayor potenciación que el previo inmediato. Así, hasta el fin del experimento que usualmente fue seguido por 8 a 10 horas. Habitualmente, la máxima potenciación obtenida fue de 130-150 por ciento del valor basal inicial.

La potenciación observada dependió directamente del estiramiento del músculo particular, ya que ocurrió en tiempos diferentes cuando las observaciones de los dos músculos del mismo animal se hicieron con programas diferentes. Las potenciaciones ocurrieron siempre en relación con el estiramiento de cada uno de los músculos aunque estos estiramientos hubieran sido hechos en momentos diferentes.

La duración del periodo de estiramiento no parece haber sido muy importante, aunque los estiramientos por menos de 30 seg mostraron menor potenciación. No se ofrecen resultados cuantitativos precisos en virtud de que las variaciones individuales, aun para los dos músculos del mismo animal, fueron evidentes. En general las mayores potenciaciones observadas se obtuvieron en los animales más grandes, tal vez porque estos son más resistentes para los factores de deterioro: anestesia, deshidratación, obstrucción traqueal por moco, etc.

*Efectos de otros factores.* La denervación de los músculos al principio o durante el desarrollo de la observación, no parece afectar los resultados de la potenciación mecánica producida por el estiramiento. En algunos experimentos las observaciones fueron hechas en animales en los que solamente uno de los ciáticos fue seccionado o machacado. No se observaron diferencias significativas, aun cuando esto no puede asegurarse en virtud de las diferencias individuales antes señaladas.

Las medidas de la impedancia eléctrica, que se hicieron con la idea de registrar posibles cambios de la irrigación del músculo durante la potenciación,<sup>4</sup> no revelaron ningún cambio relacionado con ésta. En la mayor parte de los casos, después de la importante caída de la resistencia eléctrica durante el estiramiento del músculo,<sup>4</sup> durante el desarrollo de la potencia-

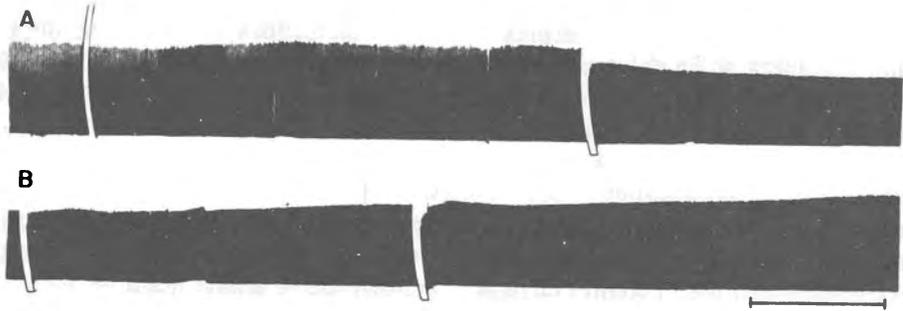
ción mecánica la resistencia eléctrica, o no mostró cambio, o fue ascendiendo lenta y gradualmente hasta alcanzar un valor mayor que el de control. Sin embargo, el curso temporal de este aumento no mostró ninguna relación con el de la potenciación mecánica, y cuando ésta tendía a reducirse en magnitud, la resistencia eléctrica continuó subiendo.

Como otro control del papel que pudiera desempeñar un cambio en la irrigación sanguínea, en algunos experimentos se interrumpió transitoriamente la irrigación del músculo por oclusión de la arteria iliaca. A veces ocurrió cierta potenciación mecánica inmediata. Esta potenciación ocurre también durante la asfixia general del animal. Sin embargo, estas maniobras no dieron lugar a que se presentara la potenciación mecánica tardía.

*Efectos de los inhibidores de la síntesis proteínica.* Tanto la cicloheximida como el cloranfenicol produjeron efectos claros de depresión transitoria de la potenciación mecánica. La fig. 2 representa el efecto de ambos compuestos dada su similitud. Usualmente, al cabo de 2 a 3 minutos de la inyección intraperitoneal de la droga, las respuestas a los estímulos de prueba empezaron a decrecer gradualmente de amplitud. Esta caída alcanzó su máximo a un valor de 60 a 70 por ciento de los controles, aproximadamente unos 30 min después de la inyección. Después de este tiempo se observó la recuperación gradual. La duración total de la depresión mecánica fue de una a dos horas. Durante ese tiempo, un periodo de estiramiento semejante a los anteriores no fue seguido por la potenciación mecánica descrita arriba (Fig. 2).

## DISCUSION

Los resultados presentados indican: *a)* que los efectos del estiramiento de un músculo mejoran su capacidad para desarrollar tensión en respuesta a estímulos supramáximos; *b)* que la duración del estiramiento no tiene gran influencia en la magnitud de los efectos; *c)* que estos efectos aparecen tardiamente y son prolongados en el tiempo, y *d)* que dichos efectos son susceptibles de sumarse con los de un nuevo



**Fig. 2.** Efectos de la administración de cloranfenicol (20 mg por kg, 15 minutos antes del segundo periodo de estiramiento en A). El primer estiramiento, en A, fue aplicado tirando del miógrafo, como en la figura 1. Los estiramientos subsiguientes fueron hechos tirando directamente del tendón de Aquiles sin que la tensión del transductor fuera afectada. **B** es la continuación de A. Los estímulos de prueba (choques supramáximos al ciático) fueron aplicados continuamente con frecuencia de 0.1 por segundo. Calibración de tiempo: 20 min.

estiramiento cuando éste se aplica después de cierto intervalo. El curso temporal de los cambios sugiere que tales efectos se producen a través de un cambio bioquímico que incluye un aumento en la síntesis de proteínas. Esta interpretación se apoya en el hecho de que tal potenciación es bloqueada por los inhibidores de esta síntesis. Este mecanismo sería la base de la hipertrofia observada en músculos inmovilizados en posición alargada.<sup>8,10</sup>

En su discusión acerca de los posibles mecanismos que intervienen, Goldspink (1977) menciona que la irrigación sanguínea del músculo pudiera ser alterada por el estiramiento, aunque concluye que esta alteración no parece suficiente para explicar los eventos, ya que observó que el transporte de tirosina de la sangre al músculo no se modifica durante el estiramiento y que, en algunas de sus mediciones, las variaciones encontradas fueron precisamente en la dirección contraria de los cambios en la síntesis de proteínas. La interpretación de Goldspink parece confirmada por los presentes resultados y por las observaciones previas de que hay una reducción importante de la resistencia eléctrica durante el estiramiento, aunque existe la posibilidad de que tal reducción de la resistencia eléctrica sea debida a la deformación de las fibras musculares estiradas<sup>4</sup> y de que esto haya oscurecido el posible

aumento debido a la isquemia relativa inducida por el incremento en la tensión del músculo estirado.

Hay otras evidencias que hacen poco probable que la isquemia inducida por el estiramiento fuera el principal factor estimulante de las síntesis de proteínas, con la mejoría consecuente de las respuestas mecánicas. Por una parte está el hecho de que la interrupción de la circulación a los músculos por periodos similares de tiempo no dio lugar a una potenciación mecánica tardía. Por otro lado, la observación de que el estiramiento de un músculo por 30 segundos tiene el mismo efecto que el estiramiento por un periodo hasta de 20 min. Todo ello sugiere que el mecanismo de activación de los sistemas enzimáticos involucrados en la síntesis de proteínas pudieran ser los productos de las lesiones microscópicas de las mismas fibras musculares; lesiones que serían producidas por un estiramiento relativamente intenso.

De los resultados del presente estudio pueden derivarse algunas conclusiones importantes. La primera es que cualesquiera que sean los mecanismos del aumento en la síntesis de proteínas, tales mecanismos residen en los músculos mismos y no dependen de la intervención del sistema nervioso. La segunda es que la síntesis de proteínas en un músculo se encuentra en un estado dinámico. Las respues-

tas mecánicas mejoran sólo transitoriamente y luego su amplitud tiende a caer cuando el mecanismo implicado carece del estímulo apropiado. La tercera conclusión es que si el estiramiento muscular relativamente intenso induce aumento en la síntesis de proteínas, esto último podría ser la base de la estimulación del crecimiento muscular,<sup>1,7,9,10</sup> así como de la mejoría tardía de su actividad mecánica. Si estos efectos pueden ser inducidos por periodos relativamente breves de estiramiento, el procedimiento puede adquirir cierta importancia práctica: podría ser empleado como parte de los programas de entrenamiento muscular y, también, como posible agente terapéutico en algunas formas de atrofia muscular.

#### RESUMEN

Los músculos gastrocnemios de ratas anestesiadas con pentobarbital fueron estirados por periodos de 15 segundos a 20 minutos con tensiones hasta de 1 kg. Estos estiramientos produjeron una potenciación tardía en la amplitud de las respuestas hasta de un 150 por ciento de los controles. El efecto fue obtenido tanto en músculos inervados como en denervados. Los estímulos de prueba fueron supramáximos y aplicados con frecuencia de 0.1 por segundo, continuamente o como trenes cada 8 o 10 minutos. Los estiramientos repetidos cada hora mostraron que sus efectos se suman. Los inhibidores de la síntesis de proteínas: cicloheximida o cloranfenicol bloquearon tal potenciación.

Es posible que el estiramiento produzca reducción de la irrigación sanguínea del músculo. La isquemia transitoria, al alterar el metabolismo muscular podría dar lugar a la activación de la síntesis de proteínas que se manifestaría más tarde en la forma de potenciación de las respuestas mecánicas. Sin embargo, la interrupción de la circulación del músculo no dio lugar a una potenciación semejante. Además, en vista de que los efectos del estiramiento muscular no parecen ser función importante del tiempo de estiramiento, se plantea la posibilidad de que los efectos sean el resultado de lesiones mínimas de las fibras musculares mismas.

La importancia de estos hallazgos pudiera estar en su utilización práctica en programas de entrenamiento muscular y aun considerar al estiramiento como posible agente terapéutico en algunas formas de enfermedad que afectan a los músculos.

#### SUMMARY

The gastrocnemious-soleus muscles of pentobarbital anesthetized rats were maximally stretched for periods of 15 sec to 20 min. Stretching induced potentiation of the mechanical responses up to 150 per cent of the control values, both in denervated or innervated muscles. Test supramaximal shocks were applied at a slow rate (0.1 per sec) either continuously or as brief trains every 8 to 10 min. Repeated stretchings every hour sum their effects. The protein-synthesis inhibitors cycloheximide or chloramphenicol blocked transiently that potentiation.

It is possible that stretching induce a metabolic reaction via the reduction in the blood supply to the muscle. The transient ischemia produced could stimulate the protein-synthesis, which would be later manifested as a mechanical potentiation. However, an interruption of the muscle circulation by occlusion of the iliac artery was not followed by a similar potentiation. Furthermore, as it was found that the late potentiation is not a function of the time of stretching, it is postulated that the effects are the result of the chemical products produced by the minimal injuries produced in the muscle cells by the stretching.

The importance of these findings may be in relation with the muscle training programs and in considering stretching as a possible therapeutic agent in some forms of muscular disease.

#### REFERENCIAS

1. Ashmore, C. R.: "Stretch-induced growth in chicken wing muscles: Effects on hereditary muscular dystrophy". *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 11: C178-C183, 1982.
2. Buresova, M., E. Gutmann y M. Klicpera: "Effect of tension upon rate of incorporation of amino acids

- into proteins of cross-striated muscle". *Experientia* 25: 144-145, 1969.
3. **García Ramos, J.:** "Potenciación post-actividad tardía en músculo esquelético de la rata". *Acta Médica*. Vol. 19: Núms. 75-76, pp. 43-49, 1983.
  4. ———. "On the extracellular fluid changes on the skeletal muscle of the rat". (En preparación).
  5. **Goldspink, D. P.:** "The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle". *J. Physiol. (Lond)* 264: 267-282, 1977.
  6. **Goldspink, G., C. Tabary, J. C. Tabary, C. Tardieu y G. Tardieu:** "Effect of denervation on the adaptation of sarcomere number and muscle extensibility to he functional length of the muscle". *J. Physiol.* 236: 733-742, 1974.
  7. **Sola, O. M. y A. W. Martin:** "Hypertrophy as a response to denervation in skeletal muscle". *Am. J. Physiol.*, 172: 324-332, 1953.
  8. **Spector, S. A., C. P. Simard, M. Fournier, E. Sternlicht y V. R. Edgerton:** "Architectural alterations of rat hind-limb skeletal muscles-immobilized at different lengths". *Exp. Neurol.* 76: 94-110, 1982.
  9. **Steward, D., O. M. Sola y A. W. Martin:** "Hypertrophy as a response to denervation in skeletal muscle". *Z. vergl. Physiol.*, 76: 146-167, 1972.
  10. **Tabary, J. C., C. Tabary, G. Tardieu y G. Goldspink:** "Physiological and structural changes in the cat's soleus muscle due to immobilization at different lengths by plaster casts". *J. Physiol. (Lond)*. 224: 231-244, 1972.