EFECTOS DEL ULTRASONIDO TERAPÉUTICO SOBRE LA CAPACIDAD FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO Y LA ATROFIA INDUCIDA POR INMOVILIZACIÓN

INGRID JOHANNA DÍAZ MARÍN

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
MAESTRIA EN FISIOTERAPIA
BUCARAMANGA
2015

EFECTOS DEL ULTRASONIDO TERAPÉUTICO SOBRE LA CAPACIDAD FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO Y LA ATROFIA INDUCIDA POR INMOVILIZACIÓN

INGRID JOHANNA DÍAZ MARÍN

Trabajo de investigación para optar al título de Magister en Fisioterapia.

Directora
DIANA CAROLINA DELGADO DÍAZ
Ft. MsC. PhD. En Ciencias del Ejercicio

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
MAESTRIA EN FISIOTERAPIA
BUCARAMANGA
2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios por escuchar mis oraciones y darme la sabiduría y la fortaleza espiritual para superarme cada día.

A las dos personas más importantes de mi vida, quienes me han acompañado y apoyado en todo lo que hago y todo lo que quiero, que me han exigido y me han enseñado que todo lo que se logra en la vida es a base de amor y esfuerzo: Abuelito Luis y abuelita Luisa, esto es por ustedes.

A la Universidad Industrial de Santander y a la Escuela de Fisioterapia por el apoyo para el desarrollo de mi proyecto.

A la profesora Diana Delgado, que con base en su exigencia diaria me hizo demostrarme a mí misma que tengo todas las capacidades para cumplir con todos los objetivos que me proponga.

Al profesor Carlos Conde por su asesoría académica, su apoyo incondicional y su total confianza para apoyarme en las actividades planeadas para mi proyecto.

Al ingeniero Jesús Rodríguez por el tiempo dedicado a mi preparación y por su colaboración durante las fases iniciales y de recolección de muestra de mi proyecto.

A los profesores Diana Camargo y Luis Carlos Orozco por sus invaluables enseñanzas y su metodología extraordinaria para generar conocimiento.

A los laboratorios de Neurociencias, Química, Microbiología y Patología de la Universidad Industrial de Santander por su colaboración en el desarrollo del proyecto.

A mis estudiantes auxiliares que tuvieron valiosos aportes durante la fase piloto del proyecto.

Y por último y no menos importantes, a mis compas de maestría, Yannely, Gloria, Eliana, Gabriela y Carolina, que ahora son mis amigas del alma, que aunque no estemos cerca, nuestra amistad perdurará siempre.

TABLA DE CONTENIDO

	PÁGS
INTRODUCCIÓN	19
1. OBJETIVOS	
1.1 OBJETIVO GENERAL	26
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
2. MARCO TEÓRICO	
2.1. FISIOLOGÍA DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO	27
2.1.1. Desarrollo muscular	27
2.1.2. Microanatomía del músculo esquelético	30
2.1.3. Fisiología de la contracción muscular	31
2.1.4. Plasticidad del sistema neuromuscular	35
2.2. EFECTOS DE LA INMOVILIZACIN SOBRE EL TAMAÑO Y FUNCIÓN MUSCULAR	41
2.2.1. Efectos funcionales de la inmovilización	43
2.2.2. Efectos sobre las variaciones histológicas en el músculo esquelético	47
2.2.3. Efectos moleculares de la inmovilización	52
2.3. REMOVILIZACIÓN DESPUÉS DE LA INMOVILIZACIÓN	59
2.3.1. Efectos funcionales de la removilización	60
2.3.2. Efectos histológicos de la removilización	61
2.4. ULTRASONIDO TERAPÉUTICO	64
2.4.1. Generalidades del UST	66
2.4.2. El efecto piezoeléctrico	67
2.4.3. Área efectiva de radiación (ERA)	68
2.4.4. Frecuencia del ultrasonido terapéutico	68
2.4.5. Tasa de no uniformidad del UST (BNR)	69

2.4.6. Tipo de ondas en el UST	69
2.4.7. Medio de acople	72
2.4.8. Dosis de UST	73
2.4.9. Efectos biofísicos del UST	74
2.4.10. Hipótesis de la resonancia	77
2.4.11. Frecuencia del tratamiento con UST	78
2.4.12. Duración del tratamiento con UST	79
2.5. EVIDENCIA CIENTÍFICA DE LOS EFECTOS DEL ULTRASONIDO SOBRE LA PLASTICIDAD DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO	79
3. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1. TIPO DE ESTUDIO	86
3.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO	86
3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	87
3.4. TAMAÑO DE MUESTRA	88
3.5. VARIABLES DE ESTUDIO	89
3.5.1. Variables de salida	90
3.5.2. Variable explicatoria	92
3.5.3. Variables de control	92
3.6. PROCEDIMIENTOS PREVIOS	93
3.6.1. Datos preliminares	93
3.6.1.1. Estandarización del modelo de disminución de la actividad muscular inducido por inmovilización	93
3.6.1.2. Evaluación de la reproducibilidad inter e intraevaluador para la medición de área de sección transversa de la fibra muscular y conteo de mionúcleos	96
3.6.2. Control de condiciones de laboratorio	97
3.6.3. Protocolo de inmovilización	97
3.6.4. Protocolo de tratamiento de ultrasonido terapéutico	98

3.6.5. Protocolo de evaluación del desempeño motor	99
3.6.6. Protocolo de medición del pico máximo de tensión en una contracción	101
3.6.7. Protocolo de sacrificio de los animales	103
3.6.8. Protocolo de análisis histológico	104
3.6.9. Protocolo de determinación de contenido proteico	105
3.6.10. Protocolo de medición de temperatura intramuscular	106
3.7. CONTROL DE SESGOS	108
3.7.1. Sesgo de selección	108
3.7.2 Sesgo de clasificación	108
3.7.3. Sesgo de confusión	108
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	110
4. CONSIDERACIONES ÉTICAS	112
5. RESULTADOS	114
6. DISCUSIÓN	129
7. CRONOGRAMA	146
8. RESULTADOS ESPERADOS DEL DESARROLLO DEL PROYECTO	147
9. IMPACTO ESPERADO	148
BIBLIOGRAFÍA	150
ANEXOS	171

LISTA DE FIGURAS

		PÁGS
Figura 1.	Esquema de desarrollo del músculo esquelético	27
Figura 2.	Representación esquemática del músculo esquelético que ilustra el tejido conectivo	30
Figura 3.	Esquema que representa las diferencias entre la longitud de la sarcómera y la fuerza o tensión ejercida por la fibra muscular	33
Figura 4.	Relación Velocidad-tensión	34
Figura 5.	Diagrama que representa las principales vías que controlan la síntesis y degradación de proteínas	53
Figura 6.	Características de la absorción del ultrasonido en diferentes tejidos.	66
Figura 7.	Efecto piezoeléctrico	67
Figura 8.	Tipos de ondas del UST	70
Figura 9.	Descripción de las fases del protocolo	87
Figura 10.	Seguimiento del peso corporal de las unidades experimentales en el grupo de inmovilización y control	94
Figura 11.	Peso húmedo de los músculos sóleo y gastrocnemio en los grupos control e inmovilización	94
Figura 12.	Promedio de la latencia a la falla de las ratas	96
Figura 13.	Protocolo de aplicación de ultrasonido terapéutico	99
Figura 14.	Ubicación de los animales en el Rotarod	100
Figura 15.	Medición del pico máximo de tensión en una contracción	102
Figura 16.	Distribución del peso corporal de los animales durante los días de seguimiento, por grupo de comparación	118

Figura 17.	Comparación entre el desempeño motor inicial y el desempeño motor final (seg) ajustado por el peso corporal inicial y final (gr), respectivamente, por grupo de comparación	119
Figura 18.	Análisis del desempeño motor final (DM final) ajustado por el desempeño motor inicial (DM inicial), según grupo de comparación	120
Figura 19.	Análisis del pico máximo de tensión en una contracción (gramos), por grupo de comparación	121
Figura 20.	Análisis del peso húmedo del músculo sóleo (mg) por grupo de comparación	123
Figura 21.	Análisis del peso húmedo del músculo gastrocnemio (gr) por grupo de comparación	122
Figura 22.	Análisis del contenido proteico total (mg/gr) del músculo sóleo (A) y del músculo gastrocnemio (B), por grupo de comparación	124
Figura 23.	Áreas de sección transversa y mionúcleos de los músculos sóleo (A: Fila izquierda) y gastrocnemio (B: fila derecha) según grupo de comparación	125
Figura 24.	Análisis del área de sección transversa del músculo sóleo (A) y del músculo gastrocnemio (B), por grupo de comparación	126
Figura 25.	Análisis del área de dominio nuclear del músculo sóleo (μm^2), por grupo de comparación	127
Figura 26.	Análisis del área de dominio nuclear del músculo gastrocnemio (μm^2), por grupo de comparación	128
Figura 27.	Análisis de las diferencias de la medición de temperatura intramuscular en el grupo de tratamiento con UST y en el grupo de tratamiento con ultrasonido placebo	128

LISTA DE TABLAS

		PÁGS
Tabla 1.	Terminología en el uso del ultrasonido terapéutico.	71
Tabla 2.	Resultados de los estudios revisados para el cálculo del tamaño de la muestra.	89
Tabla 3.	Descripción de variables de salida y explicatorias del estudio.	90
Tabla 4.	Cronograma de actividades del proyecto.	146
Tabla 5.	Indicadores del impacto esperado con el desarrollo del proyecto.	148

LISTA DE ANEXOS

		PÁGS
Anexo A.	Presupuesto para el desarrollo del proyecto	171
Anexo B.	Modelos de disminución de la actividad muscular	172
Anexo C.	Revisión de la literatura de efectos del UST en el músculo esquelético	177
Anexo D.	Formato de seguimiento por unidad experimental	183
Anexo E.	Formato de registro temperatura ambiental	185
Anexo F.	Procedimiento para la inmovilización	186
Anexo G.	Curva estándar para determinación de tensión en gramos	189
Anexo H.	Base de datos de variables de control	190
Anexo I.	Base de datos de variables de salida	192

ABREVIATURAS

ADNu	Área de dominio nuclear
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
AST	Área de sección transversa
ATP	Adenosín trifosfato
APTA	Asociación americana de Fisioterapia
BNR	Tasa de no uniformidad del ultrasonido terapéutico (Beam Nonuniformity Ratio)
Cm	Centímetro
CK	Creatin-cinasa
CS	Células satélite
DM	Desarrollo motor
EDL	Extensor longo de los dedos
EMG	Electromiografía
ERA	Área efectiva de radiación (*effective radiation área*)
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico (*Fibroblast growth factor)*
FoxO	Factor de transcripción “Forkhead” (*Forkhead Transcription Factor*)
Gr	Gramo
Hz	Hertz
HGF	Factor de crecimiento hepático (*hepatocyte growth factor)*
HSP70	Proteínas de shock térmico (Heat shock protein-70)
H&E	Hematoxilina y eosina
IGF-1	Factor de crecimiento similar a la insulina 1 (i*nsulin-like growth factor 1)*
Inmov	Inmovilización

KHz	Kilohertz
KLF5	(Kruppel-like factor 15)
LME	Lesiones musculoesqueléticas
mATPasa	Actividad de la adenosina trifosfatasa miofibrilar
MAFbx	Caja F de atrofia muscular (*muscle atrophy F-box)*
Mg	Miligramo
Mt	Metro
MGF	Factor de crecimiento mecánico (mechano-growth factor)
MHC	Miosina de cadena pesada (myosin heavy chain
MHz	Megahertz
MRF4	Factor regulador muscular especifico 4 (*muscle-specific transcription factor 4*))
mTOR	Objetivo de rapamicina en células de mamífero (*mammalian target of rapamycin)*
MuRF1	(Muscle ring finger-1)
Myf5	Factor miogénico 5 (*myogenic factor 5)*
MyoD	Factor miogénico de diferenciación (*myogenic differentiation factor*)
Nw	Newtons
NF-κB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
Pax7	Factor de transcripción de caja pareada 7
PI3-K/Akt	Vía del fosfatidil-inositol 3 kinasa/proteincinasa B
REDD1	Regulador en desarrollo y respuesta 1 al daño del ADN (*regulated in development and DNA damage responses 1)*
SATA	Intensidad promedio temporal
SATP	Intensidad pico temporal
S6K	S6-cinasa
SNC	Sistema nervioso central
TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta 1 (*Transforming growth factor beta)*

TNF-α	Factor de necrosis tumoral- α (*tumoral necrosis factor*- α)
UST	Ultrasonido terapéutico
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular (Vascular endothelial growth Factor)
VCN	Velocidad de conducción nerviosa

RESUMEN

TITULO: EFECTOS DEL ULTRASONIDO TERAPÉUTICO SOBRE LA CAPACIDAD FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO Y LA ATROFIA INDUCIDA POR INMOVILIZACIÓN*

AUTORA: INGRID JOHANNA DIAZ MARIN**

PALABRAS CLAVE: Ultrasonido terapéutico, atrofia inducida por inmovilización, fisioterapia.

Se realizó un diseño experimental con asignación aleatoria a 5 grupos de comparación. El objetivo fue determinar el efecto de siete sesiones diarias de UST sobre la capacidad funcional y morfología del músculo esquelético inmovilizado durante 10 días en un modelo animal. Las variables de salida fueron medición de área de sección transversa de los músculos sóleo y gastrocnemio (AST), pico máximo de tensión en una contracción, contenido proteico total, área de dominio nuclear (ADNu), desempeño motor y temperatura intramuscular.

Se aplicaron medidas de tendencia central y dispersión, se realizó una t de student pareada para comparar diferencias entre peso corporal, desempeño motor y una t de student no pareada para comparar diferencias en temperatura intramuscular; se aplicó un ANOVA con post-hoc Bonferroni o un análisis de Kruskal-Wallis para evaluar diferencias dentro de cada grupo de las variables de salida. Nivel de significancia: $p<0,05$; Software:STATA 12,1. Se encontraron diferencias significativas para el desempeño motor entre el grupo *Inmov* respecto a los demás grupos, para el pico máximo de tensión en el grupo de Inmov+libremov+UST comparado con los otros grupos; en el peso húmedo del sóleo y gastrocnemio con el grupo de Inmov; entre el grupo de *Libre mov* con los demás grupos en AST y ADNu ($p<0,05$); no se encontraron diferencias en el contenido proteico total ni en temperatura intramuscular.

El modelo de inmovilización indujo una disminución de la masa muscular del sóleo y del gastrocnemio con efectos negativos sobre sus variaciones histológicas y la capacidad funcional del músculo esquelético. Posiblemente la dosis del UST no tiene efectos cuando ya están instauradas las alteraciones fisiológicas y funcionales.

*Trabajo de grado

** Facultad de salud. Escuela de fisioterapia. Maestría en fisioterapia. Directora: Ft. MSc. PhD. Diana Carolina Delgado Díaz.

SUMMARY

TITLE: EFFECTS OF THERAPEUTIC ULTRASOUND ON FUNCTIONAL CAPACITY OF SKELETAL MUSCLE AND IMMOBILIZATION-INDUCED ATROPHY *

AUTOR: INGRID JOHANNA DÍAZ MARÍN**

KEY WORDS: Therapeutic ultrasound, immobilization-induced atrophy, physiotherapy

An experimental design was realized with randomized selection to 5 groups of comparison. The objective was to determine the effect of seven daily sessions of UST on functional ability and morphology of skeletal muscle immobilized for 10 days in an animal model. The output variables were measured cross sectional area of gastrocnemius and soleus muscles (CSA), maximum peak of tension, total protein content, nuclear domain area (NDA), motor performance and intramuscular temperature.

Measures of central tendency and dispersion were applied; paired-t test to compare differences between body weight, motor performance and unpaired-t test to compare differences in intramuscular temperature; ANOVA was applied with Bonferroni post-hoc analysis or Kruskal-Wallis test to differences within each group of output variables. p-value <0.05; Software: STATA 12.1. Statistical significance in motor performance between *Inmov* group compared to other groups and maximum peak of tension peak voltage in *inmov+libremov+UST* compared to the other groups were found; in the soleus and gastrocnemius muscle wet weight of *Inmov* group; in the *Libre mov* group with other groups for CSA and NDA (p <0.05); no differences for total protein content or intramuscular temperature were detected.

The model of immobilization induced a decrease in the gastrocnemius and soleus muscle mass with negative effects on the histological changes and functional capacity of skeletal muscle. Probably, UST dose has no effect when physiological and functional alterations are located.

*Work of grade

** Faculty of health. Physiotherapy School. Master degree in Physiotherapy. Director: Ft. MSc. PhD. Diana Carolina Delgado Díaz

EFECTOS DEL ULTRASONIDO TERAPÉUTICO SOBRE LA CAPACIDAD FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO Y LA ATROFIA INDUCIDA POR INMOVILIZACIÓN

INTRODUCCIÓN

Las lesiones músculo-esqueléticas (LME) son condiciones de alta prevalencia en la población general y en deportistas[1]. En Colombia, es uno de los principales factores etiológicos de morbi-mortalidad en personas entre 15 y 45 años, con costos elevados generados en atención en salud, que representan pérdida de la productividad en edades donde se encuentra la mayoría de la población económicamente activa[1]. Una de las causas más frecuentes de LME en la población mundial son los accidentes de tránsito que conducen a traumas en miembros inferiores[2,3]. Entre las condiciones traumáticas más comunes se encuentran la fractura de cadera estimándose que el ingreso a un centro hospitalario en Colombia es de 450 fracturas del extremo proximal del fémur por año[4]; las fracturas de tibia cuya prevalencia es de 30 a 90% causadas por accidentes de tránsito[5] y los esguinces de tobillo que representan el 10% o más de las consultas en urgencias y ocurren en una de cada 10.000 personas por día[6].

Las LME tienen en común el uso de un tratamiento conservador, que incluye periodos de inmovilización entre 10 días a 3 meses dependiendo del tipo de tejido

[1] OSPINA, Jorge. Paciente Politraumatizado: Evaluación y manejo inicial. En: Médicas UIS. Enero 1997, vol.11, p.228-233.
[2] PRADO, Teófilo; MUÑOZ, Diego. Politraumatismo. Accidentes de tránsito. En: Revista de la Asociación Argentina de Ortopedia y Traumatología. Enero- Marzo 2009. vol.74, no.1, p.6-12.
[3] ORLICH, Dánitza. Fracturas expuestas: Una urgencia en ortopedia. En: Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. Enero, 2005. vol. 62, no. 572, p.141-144
[4] MARTÍNEZ, Alfredo; SÁNCHEZ, Carolina; PORTILLO, Isabel; ORTEGÓN, Katherin. Evaluación de los procesos en el tratamiento inicial de las fracturas de cadera. En: Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología. Septiembre, 2005. vol.19, no. 3, p.19-26.
[5] HOYOS, Harol, HERNÁNDEZ, Rubén; ECHANDIA, Carlos; FUERTES, Darío. Fractura bilateral de tibia en el Hospital Universitario del Valle. Serie de casos. En: Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología. Mayo, 2009. vol.23, p.120-126.
[6] GERSTNER, Juan. Nueva técnica asistida por artroscopia para la inestabilidad de tobillo. En: Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología. Enero: 2004. vol.18, p.68-76.

lesionado, la extensión de la lesión y las características generales del paciente, que conllevan al uso disminuido del segmento corporal comprometido[3-6]. Sin embargo, en la literatura revisada, no existen cifras relacionadas con la prevalencia del uso de la inmovilización en los diferentes tipos de lesiones músculo-esqueléticas[7].

Debido a que el músculo esquelético es un tejido adaptable, que puede cambiar su estructura, tamaño y función de acuerdo con estímulos en el ambiente, se han utilizado diferentes modelos experimentales de inmovilización en animales y en humanos, para demostrar la respuesta de las fibras musculares a la carga mecánica[8]. El objetivo de la inmovilización como medida terapéutica es permitir la instauración controlada del proceso inflamatorio, la prevención de mayor extensión de daño de los tejidos, la estabilización de segmentos óseos, la prevención o manejo de contracturas y/o la disminución de la incidencia de complicaciones de las lesiones[7].

Sin embargo, la inmovilización causa un efecto negativo sobre la capacidad funcional del músculo esquelético, evidente en la pérdida de la masa y fuerza muscular[9]. Así mismo, se ha encontrado que la inmovilización tiene un fuerte impacto sobre el desempeño funcional y la calidad de vida del individuo y por esta razón, se indagan diversas intervenciones terapéuticas como el uso de modalidades físicas y/o cinéticas que ayuden a minimizar los efectos no deseables causados por la inmovilización[9,10].

No obstante, a pesar de ser una medida necesaria, desde la clínica se ha detectado que durante e inmediatamente después del retiro de la inmovilización es probable

[7] KISNER, Carolyn; COLBY, Lynn. Lesión, reparación y manejo de los tejidos blandos. En: Ejercicio terapéutico. Fundamentos y Técnicas. 5º Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2007. p. 295-308.

[8] LIEBER, Richard. Skeletal muscle anatomy. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.1–40.

[9] HENDY, Ashlee; SPITTLE, Michael; KIDGELL, Dawson. Cross education and immobilisation: Mechanisms and implications for injury rehabilitation. En; Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia. Marzo, 2012, vol.15, no. 2, p.94–101.

[10] MOFFAT, Marilyn; ROSEN, Elaine; RUSNAK, Sandra. En: Musculoskeletal Essentials applying the preferred Physical Therapist practice patterns. 1ª Ed. Thorofare NJ: Slack Incorporated. 2006.

que el individuo presente efectos adversos sistémicos y/o localizados; estas alteraciones pueden ser trombosis venosa profunda[8], lesiones cutáneas, disminución de la densidad capilar[11,12] y alteraciones de la morfología y función muscular tales como atrofia muscular[13,14,15,16], cambios en la actividad electromiográfica del músculo[16], disminución en la magnitud de la fuerza y en el índice de fatiga[17,18]. Así, es posible deducir que estas alteraciones impactan de manera negativa la condición física general del paciente y comprometen su capacidad funcional.

En la actualidad, se propone que el tratamiento de los pacientes después del periodo de inmovilización dentro del manejo terapéutico recomendado según las guías de patrones preferidos para la práctica en Fisioterapia de la Asociación Americana de Fisioterapia (APTA)[19], se enfoque en la realización de ejercicio terapéutico a través de ejercicios de flexibilidad y entrenamiento de fuerza y resistencia; técnicas de terapia manual como masaje terapéutico y ejercicios de rango de movimiento pasivo, y actividades de entrenamiento funcional. Estas intervenciones han demostrado efectos positivos en la recuperación de los

[11] JÄRVINEN, Tero; JÓZSA, Lázló; KANNUS, Pekka; JÄRVINEN, Teppo; JÄRVINEN Markku. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. En: Journal of Muscle Research and Cell Motility. Enero, 2002. vol.23, p.245–254.

[12] KANNUS, Pekka, et al. Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. En: Journal of Applied Physiology. Abril, 1998. vol.84, no. 4, p.1418–1424.

[13] JACKMAN, Robert; KANDARIAN, Susan. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Octubre, 2004. vol.287, no.4, p.C834–C843

[14] POWERS, Scott; KAVAZIS, Andreas. Inactivity-induced skeletal muscle atrophy: A brief review. En: Revista Portuguesa de Ciências do Desporto. Enero, 2008. vol.8, no.2, p.299–307.

[15] POWERS, Scott; KAVAZIS, Andreas; DERUISSEAU, Keith. Mechanisms of disuse muscle atrophy: Role of oxidative stress. En: merican Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 2005. vol.288, no. 2, R337–R344.

[16] LIEBER, Richard. Skeletal muscle anatomy. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.1–40.

[17] ZHANG, Peng; CHEN, Xiaoping; FAN, Ming. Signaling mechanisms involved in disuse muscle atrophy. En: Medical Hypotheses. Marzo, 2007. vol.69, no. 2, p.310–321.

[18] MALLINSON, Joanne; MURTON, Andrew. Mechanisms responsible for disuse muscle atrophy: Potential role of protein provision and exercise as countermeasures. En: Nutrition. 2012. doi:10.1016/j.nut.2012.04.012.

[19] MOFFAT, Marilyn; ROSEN, Elaine; RUSNAK, Sandra. En: Musculoskeletal Essentials applying the preferred Physical Therapist practice patterns. 1ª Ed. Thorofare NJ: Slack Incorporated. 2006.

pacientes[20,21,22], sin embargo, el tratamiento podría ser combinado con el uso de modalidades físicas para incrementar la eficiencia de las intervenciones y así reintegrar más rápidamente a los pacientes a sus actividades diarias.

Dentro de las modalidades físicas, una opción de manejo involucra el uso del ultrasonido terapéutico (UST), modalidad física que ha sido ampliamente utilizada en Fisioterapia por más de 60 años[23,24,25,26,27,28]. Actualmente, el UST es aplicado en la práctica clínica con el objetivo de mejorar la reparación de los tejidos mediante la aceleración de la fase inflamatoria y proliferativa[27] y promover la síntesis de proteínas[29,30,31]. Sus beneficios se dan en respuesta a sus efectos mecánicos y térmicos. Mediante estudios *in vitro* (cultivos celulares) e *in vivo* (modelos animales) se ha observado que debido a los efectos físicos de cavitación y vibración molecular, las ondas ultrasónicas producen un cambio en la permeabilidad de la membrana celular y estimulan el transporte de sustancias como segundos mensajeros, que estimulan señales celulares en cascada, tales como la liberación de citocinas,

[20] MARIMUTHU, Kanagaraj; MURTON, Andrew; GREENHALF, Paul. Mechanisms regulating muscle mass during disuse atrophy and rehabilitation in humans. En: Journal of Applied Physiology. Febrero, 2011, vol.110, no.2, p.555–560.

[21] DITTMER, Douglas; TEASELL, Robert. Complications of Immobilization and bed rest Part 1: Músculoskeletal and cardiovascular complications. En: (anadian Family Physician. Junio,1993. vol. 39;p.1428-1437.

[22] VANDENBORNE, Krista, et al. Longitudinal study of skeletal muscle adaptations during immobilization and rehabilitation. En: Muscle Nerve. Agosto, 1998. vol.21, no. 8, p.1006–1012.

[23] MARKERT, Chad; MERRICK, Mark; KIRBY, Timothy; DEVOR, Steven. Nonthermal ultrasound and exercise in skeletal muscle regeneration. En: Archives of physical medicine and rehabilitation. Julio, 2005. vol.86, no.7, p.1304-1310.

[24] JOHNS, Lennart. Nonthermal Effects of Therapeutic Ultrasound: The Frequency Resonance Hypothesis. En: Journal of Athletic Training. Julio, 2002, vol. 37 no. 3, p. 293-299.

[25] FREITAS, Luciana; FREITAS, Tiago; SILVEIRA, Paulo, ROCHA, Luís; PINHO, Ricardo; STRECK, Emilio. Effect of therapeutic pulsed ultrasound on parameters of oxidative stress in skeletal muscle after injury. En: Cell Biology International. Mayo, 2007. vol.31, no.5, p.482-488.

[26] WATSON, Tim. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. En: Ultrasonics. Agosto, 2008, vol. 48 no. 4, p. 321-329.

[27] TER HAAR, Gail. Therapeutic ultrasound. En: European Journal of Ultrasound. Marzo,1999. vol.9, no.1, p.3–9.

[28] VAN DER WINDT, Daniëlle, et al. Ultrasound therapy for musculoskeletal disorders: a systematic review. En: Pain. Junio, 1999, vol. 81 no. 3, p. 257-271.

[29] FISHER, Brian; HILLER, Chad; RENNIE, Sandy. A comparison of continuous ultrasound and pulsed ultrasound on soft tissue injury markers in the rat. En: Journal of Physical Therapy Science. Abril, 2003. vol.15, p.65-70.

[30] PALIWAL, Sumit; MITRAGOTRI, Samir. Therapeutic opportunities in biological responses of ultrasound. En: Ultrasonics. Agosto, 2008. vol.48, no.4, p.271–278.

[31] RANTANEN, Jussi; THORSSON, Ola; WOLLMER, Per; HURME, Timo, KALIMO, Hannu. Effects of therapeutic ultrasound on the regeneration of skeletal myofibers after experimental muscle injury. En: The American Journal of Sports Medicine. Enero-Febrero, 1999, vol.27, no. 1, p.54-59.

factores de crecimiento, incremento en la proliferación celular y síntesis de proteínas[15,23,24,25]. Así, el UST bajo mecanismos térmicos y mecánicos a través de la transmisión de las ondas acústicas, ha sido implicado en estimular la reparación del tejido músculo-esquelético después de una lesión[30]. Estos efectos han sido obtenidos en modelos de lesión muscular y han promovido el incremento en la masa muscular a través del aumento en los niveles del factor de crecimiento similar a la insulina IGF-1 (del inglés i*nsulin-like growth factor 1)*, el incremento en la proliferación de las células satélite y el aumento en la síntesis de proteínas[32].Para obtener mayores efectos sobre el músculo, la aplicación del UST se ha utilizado en etapas tempranas posterior a la lesión y con una frecuencia diaria para lograr un efecto acumulativo sobre el músculo esquelético[33,34]. Sin embargo, son pocos estudios los que han investigado el efecto del UST en modelos de inmovilización y los resultados encontrados han sido controversiales[35,36].

En modelos animales *in vivo* de disminución de uso y removilización, solo dos investigaciones han reportado efectos sobre el músculo esquelético con la aplicación del UST[35,36]. El estudio realizado por Cunha y col.[35] que tuvo como objetivo evaluar la masa del músculo sóleo de las ratas después de un protocolo de removilización con estiramiento pasivo precedido por la aplicación del UST, encontró que no hubo diferencias en el diámetro del músculo sóleo entre la pata no inmovilizada y la pata inmovilizada que recibió UST con una intensidad de 0.5 w/cm^2

[32] DANTUMA, Nico; LINDSTEN, Kristina. Stressing the ubiquitin-proteasome system. En: Cardiovascular Research. Enero, 2010, vol.85, no.2, p.263–271.
[33] PIEDADE, María; SANCHES, Milene; NAVES, Claudia; ALVES, Marcelo; GARCÍA, Elia; SZYMANSKI, Olga. En: Effect of ultrasound therapy on the repair of Gastrocnemius muscle injury in rats. Ultrasonics. Septiembre, 2008. vol.48, no.5, p.403–411.
[34] KARNES, James; BURTON, Harold. Continuous therapeutic ultrasound accelerates repair of contraction-induced skeletal muscle damage in rats. En: Archives of physical medicine and rehabilitation. Enero, 2002, vol.83, no.1,p.1-4.
[35] CUNHA, Daniela et al. Evaluation of rats' soleus muscle submitted to remobilization protocol with therapeutic ultrasound associated with static stretching. En: Journal of Morphological Science, Enero, 2012.vol.29,p. 53-57.
[36] SAKAMOTO, Junya; NAKANO, Jiro; KATAOKA, Hideki; ORIGUCHI, Tomoki; YOSHIMURA, Toshiro; OKITA, Minoru. Continuous therapeutic ultrasound inhibits progresssion of disuse atrophy in rat gastrocnemius muscles. En: Journal of Physical Therapy Science. Junio, 2012. vol.24, p.443-447.

y frecuencia de 1MHz (dosis de 90 joules), logrando así un efecto de protección del UST cuando fue combinado con el estiramiento, observado en una atenuación de la progresión de la atrofia muscular. Por otro lado, Sakamoto y col.[36] encontraron que el UST a una intensidad de 1 w/cm^2 y frecuencia de 1 MHz (dosis de 630 joules) puede inhibir la progresión de la atrofia inducida por disminución de uso en el músculo gastrocnemio, a través de la inducción de las proteínas de shock térmico 70 (del inglés *heat shock protein-70*, HSP70) en el músculo, que podría conllevar a la aceleración de la síntesis de proteínas e inhibición de la proteólisis.

No obstante, estos estudios no realizan mediciones específicas que permitan generar conclusiones concretas de los efectos logrados con la aplicación del UST. Así mismo, los parámetros de aplicación y los modelos de inmovilización utilizados son muy variables y dificultan las comparaciones entre las investigaciones. De acuerdo con los estudios existentes, Cunha y col.[35] no evalúa el uso únicamente de esta modalidad y tampoco incluye análisis histológicos más específicos del músculo esquelético; Sakamoto y col.[36] plantea la disminución de la progresión de la atrofia muscular a través del incremento en los niveles de HSP70 en el músculo gastrocnemio sin tener en cuenta la medición del contenido proteico total al igual que realiza la intervención durante el periodo de inmovilización, lo cual no es una condición común dentro de las situaciones clínicas. De igual forma, ambos estudios incluyen la medición de solo un componente del tríceps sural y no realizan mediciones de capacidad funcional que sería el objetivo final del tratamiento terapéutico.

El análisis de estas investigaciones plantea la necesidad de desarrollar futuros estudios que involucren la aplicación del UST y la evaluación de los aspectos anteriormente mencionados junto con pruebas neuromotoras que indiquen la respuesta funcional en las unidades experimentales para confirmar estos resultados, que permita acercarse a una posible extrapolación de los datos a condiciones clínicas.

Así, de acuerdo con una revisión de los parámetros de UST utilizados por los autores previamente mencionados y por autores que aplicaron esta modalidad en condiciones de lesión muscular y que obtuvieron resultados positivos, se realizó el análisis teniendo en cuenta que disminuyera la variabilidad de estos parámetros con los estudios previos para poder realizar comparaciones. De esta forma, se planteó como hipótesis de este estudio que el UST a una dosis de 300 joules (intensidad de 0.5 w/cm^2 y frecuencia de 1 MHz), aplicado como modalidad de tratamiento después de un periodo de inmovilización, puede incrementar la capacidad funcional de los animales a través de la atenuación de la progresión de la atrofia muscular debido posiblemente el aumento de la síntesis de proteínas que conduciría a un incremento del área de sección transversa (AST) de los músculos sóleo y gastrocnemio así como también del contenido proteico total, pico máximo de tensión y área de dominio nuclear. Esta investigación surge inicialmente en un modelo animal para simular las condiciones que caracterizan la atrofia muscular[15] y de esta manera, tener la posibilidad de un acceso completo al tejido músculo-esquelético para así poder realizar un análisis bioquímico e histológico que permita explorar el posible uso del UST antes de ser aplicado en modelos humanos.

Los resultados de este proyecto de investigación aportan a la línea de investigación “Modalidades físicas de rehabilitación y su interacción con los tejidos y plasticidad del sistema músculo-esquelético”, perteneciente al Grupo de Estudio del Dolor, de la Escuela de Fisioterapia de la Universidad Industrial de Santander.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de siete sesiones diarias consecutivas de ultrasonido terapéutico sobre la capacidad funcional y morfología del músculo esquelético inmovilizado durante 10 días en un modelo animal.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar el efecto del ultrasonido terapéutico sobre el desempeño motor y el pico máximo de tensión en una contracción de los músculos sóleo y gastrocnemio inmovilizados por 10 días.
- Determinar el efecto del ultrasonido terapéutico en el área de sección transversa, área de dominio nuclear y contenido proteico total de los músculos sóleo y gastrocnemio, después de un periodo de inmovilización por 10 días.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 FISIOLOGIA DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

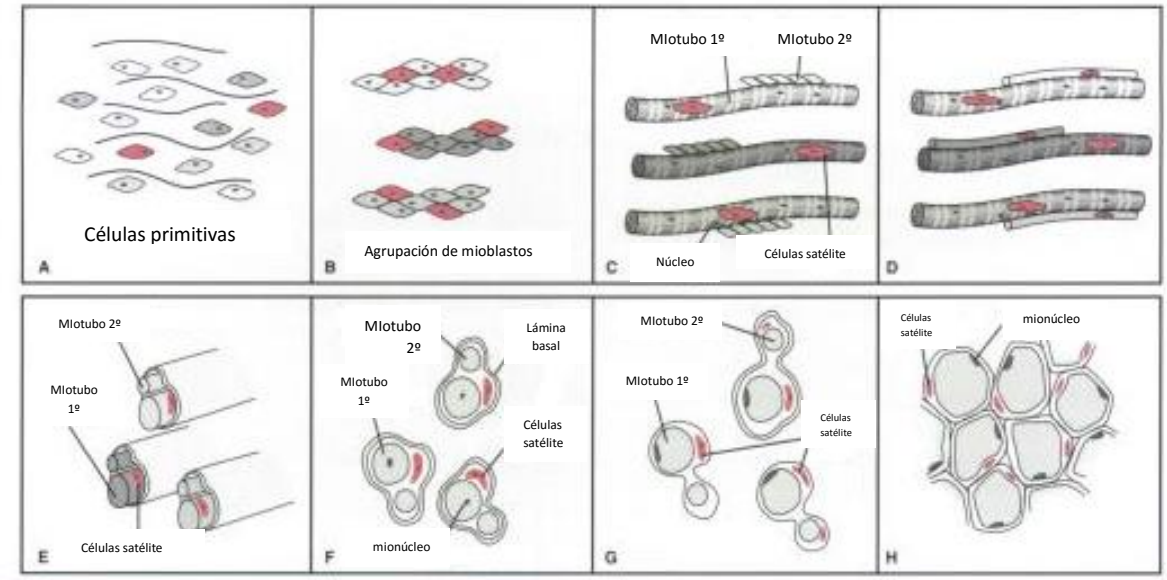
El músculo esquelético constituye entre el 40 a 45% del peso corporal total y está conformado por elementos contráctiles, nervios periféricos, vasos sanguíneos y una matriz de tejido conectivo extracelular. Estos componentes son primordiales para mantener la integridad y función, que son reguladas en respuesta a cambios en la actividad, carga de trabajo o condiciones patológicas[11,17,37].

2.1.1. Desarrollo muscular

El desarrollo de una fibra muscular se deriva de los somitas del embrión que representan las células precursoras miogénicas que se convertirán en tejido muscular[8]. En la figura 1 se presenta el proceso de desarrollo y organización de las células musculares a través de 8 etapas explicadas a continuación (Figura 1 paneles A-H):

Figura 1. Esquema de desarrollo del músculo esquelético.

[37] HUARD, Johnny, LI, Young; FU, Freddie. Current Concepts Review Muscle Injuries and Repair: Current Trends in Research. En: The Journal of Bone and Joint Surgery. Mayo, 2002. vol.84, no.5, p.822-832.



(A) Células primitivas diferenciadas a mioblastos, (B) Fusión de mioblastos para formar miotubos primarios, (C-E) Formación de miotubos secundarios bajo la lámina basal de los miotubos primarios, (F) Vista transversal de miotubos primarios y secundarios y células satélite, (G) Separación de miotubos primarios y secundarios junto con sus células satélite y mionúcleos y (H) Organización poligonal de las fibras musculares maduras. Adaptada de LIEBER, Richard. Skeletal muscle anatomy. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.1–40.

El proceso de desarrollo del músculo desde las células precursoras llamado miogénesis es controlado por la función biológica de principalmente dos proteínas denominadas myoD y Myf5 (del inglés *myogenic differentiation factor* y *myogenic factor 5*, respectivamente) que activan el programa de desarrollo que permite que las células primitivas se conviertan en mioblastos. Inicialmente, ocurre una agregación de células que se diferencian a mioblastos agrupados (Figura 1A-1B) y se da el proceso de diferenciación y maduración junto con la aparición de otros dos factores miogénicos conocidos como MRF4 (del inglés *muscle-specific transcription factor 4*) y miogenina. Los mioblastos comienzan a fusionarse formando pequeñas células multinucleares conocidas como miotubos, que aumentan de longitud a

medida que nuevos mioblastos se fusionan en los extremos del mismo (Figura 1C)[16,38]

Los miotubos que se forman se conocen como miotubos primarios y algunos de ellos junto con células menos diferenciadas se separan del resto de miotubos y forman grupos que son rodeados por la lámina o membrana basal. Posteriormente continúan uniéndose nuevos mioblastos por debajo de la lámina basal al miotubo primario y se funden formando miotubos secundarios (Figura 1D-1F). Algunos mioblastos no se fusionan y permanecen en un estado inactivo y son llamados células satélite que constituyen la fuente de nuevos núcleos celulares durante la madurez del organismo como medio de adaptación a la demanda externa (Figura 1E-1H)[16,39].

Debido al incremento de síntesis de proteínas contráctiles, el mionúcleo cambia de la posición central hacia la periferia y así, las células musculares son denominadas miofibrillas o fibras musculares (Figura 1H)[16,39]. Cuando la fibra muscular madura, hace contacto con una motoneurona y expresa diferentes isoformas de la proteína miosina de cadena pesada (del inglés myosin heavy chain, MHC) y enzimas metabólicas características del perfil metabólico de cada fibra muscular. Tanto la motoneurona como el origen del mioblasto han sido implicados en la especificación de las propiedades contráctiles de la fibra muscular[16,40].

Precisamente, la apariencia de un núcleo central en una fibra muscular adulta, puede ser un indicador de degeneración/regeneración muscular bajo alguna lesión

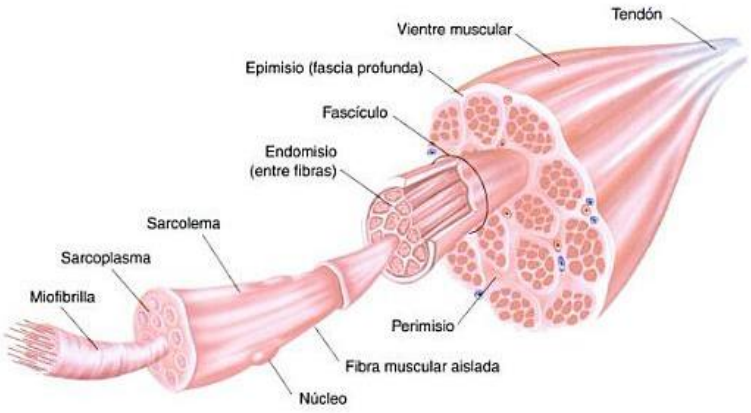
[38] CARLSON Bruce. Sistemas tegumentario, esquelético y muscular. En: Embriología humana y biología del desarrollo. 3 ed. Barcelona: Elservier, 2009 .p. 175-212.
[39] SADLER, Thomas. Langman´s Essential medical embriology. USA. Williams & Wilkins. 2005.
[40] TIDBALL, James. Inflammatory processes in muscle injury and repair. En: American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 2005. vol.288, no. 2, p. R345–R353.

previa[37,40,41,42]. Una descripción más detallada se presenta en la sección de plasticidad muscular.

2.1.2 Microanatomía del músculo esquelético

La unidad básica estructural del músculo esquelético es la fibra muscular o miofibrilla[16,39-42]. La figura 2 muestra la estructura del músculo esquelético en la que se observa el citoplasma de la fibra muscular denominado sarcoplasma, que contiene una matriz celular en donde se encuentran un gran número de mitocondrias, glucógeno y miofilamentos de proteína contráctil[38,39]; el epimisio es el tejido conectivo exterior que recubre la fibra muscular; el perimisio es el tejido conectivo intermedio que recubre los fascículos y el endomisio es el tejido conectivo interno que recubre cada fibra muscular[16,43].

Figura 2. Representación esquemática del músculo esquelético que ilustra el tejido conectivo.



Tomado de HUNTER Gary. Fisiología del músculo. En: Principios del entrenamiento de la fuerza y del acondicionamiento físico. 2º Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2009.p.3-14.

[41] CABRAL, António; MACHADO, Vanessa; FARINHA, Rodrigo; CABRITA, António. Skeletal muscle regeneration: A brief review. En; Experimental Pathology and Health Sciences. Enero, 2008. vol. 2, no. 2, p.9-17.
[42] CHARGÉ, Sophie; RUDNICKI Michael. Cellular and Molecular Regulation of Muscle Regeneration. En: Physiological Reviews. Enero, 2004, vol.84, no.1, p.:209–238.
[43] HUNTER Gary. Fisiología del músculo. En: Principios del entrenamiento de la fuerza y del acondicionamiento físico. 2º Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2009.p.3-14.

Cada fibra muscular está compuesta por varios tipos de proteínas: las proteínas contráctiles que son la actina (filamentos delgados) y la miosina (filamentos gruesos), las proteínas reguladoras como la tropomiosina y troponina y las proteínas accesorias o estructurales como la titina y nebulina[44,45].

Durante el estado de reposo, los filamentos de actina se superponen con los de miosina de forma parcial mostrando bandas claras y oscuras como patrón repetitivo, que le confiere al músculo esquelético un aspecto estriado. Con microscopía de luz polarizada las bandas oscuras son anisótropas y son denominadas bandas A mientras que las bandas claras son isótropas y se denominan bandas I. Cuando la sarcómera se halla en estado de reposo se denomina zona H. La región correspondiente a solo filamentos de actina se denomina banda I y la estrecha línea oscura que divide la banda I es la línea Z que ha sido utilizada para definir la longitud de la sarcómera que es una variable importante en la medición de fuerza muscular[16,43,44,45,46].

2.1.3. Fisiología de la contracción muscular

Las proteínas contráctiles actina y miosina se encargan de producir tensión en el músculo esquelético, función que es controlada por el sistema nervioso central (SNC), segmentos medulares y receptores sensoriales. La contracción del músculo esquelético es dada por la activación de un axón que genera una tensión denominada fuerza interna en respuesta a una señal eléctrica proveniente del SNC para iniciar el movimiento[45,47].

[44] SILVERTHORN, Dee. Muscles. En: Human Physiology, an integrated approach.. 5º Ed. San Francisco: Pearson.2010. p.406-445.
[45] IGLESIAS, Beatriz. Fisiología del músculo. En: Bases de la fisiología. 2º Ed. Madrid: Editorial Tebar, 2007. p.57-82.
[46] WILMORE, Jack; COSTILL, David. Control Muscular del Movimiento. En: Fisiología del esfuerzo y del deporte. 6º Ed. Barcelona: Human Kinetics. 2007. p.34-61.
[47] LIEBER, Richard. Skeletal muscle physiology. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.41–92.

El estímulo eléctrico propagado, denominado potencial de acción, promueve la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular (unión entre el axón de una neurona motora y una fibra muscular)[16].

Los elementos contráctiles de las fibras musculares, actina y miosina, se deslizan uno sobre otro sin cambios en su longitud. Este deslizamiento hace que se produzca un acercamiento de las líneas Z entre millones de sarcómeras, produciendo el acortamiento de la totalidad de la fibra. El complejo de troponina regula la interacción entre la actina y la miosina en la sarcómera y posee tres subunidades denominadas troponina T, I y C, importantes en los cambios conformacionales del complejo para permitir la unión de la miosina y la actina, para que el fosfato se libere del ATP y se dé lugar al deslizamiento de los filamentos y la contracción muscular[47,48,49,50].

Relación longitud/tensión

La tensión desarrollada al estimular la fibra muscular depende de la longitud que pueden alcanzar las mismas. De esta forma, la tensión o fuerza producida es dada únicamente cuando los filamentos de miosina interactúan con los filamentos de actina pero la máxima fuerza se obtiene cuando la fibra está en la denominada longitud óptima definida como la longitud de la sarcómera que permite la activación de todos los puentes cruzados entre sus filamentos. Si se genera un mayor elongamiento en la fibra, el desarrollo de la fuerza disminuye de forma lenta en el inicio y de forma rápida al final de la elongación. Al contrario, si se disminuye la longitud de la sarcómera se presenta un mayor acortamiento que causa mayor

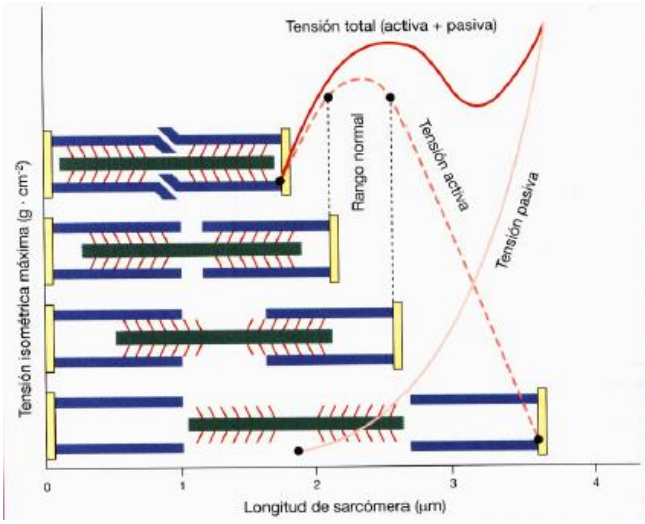
[48] RAYMENT, Ivan, et al. Structure of the Actin-Myosin Complex and Its Implications for Muscle Contraction. En: Science. Julio,1993, vol.262, 58-65.
[49] KENNEY, Larry; WILMORE, Jack; COSTILL, David. Structure and function of exercising muscle. En: Physiology of sports and medicine. 5º Ed. Champaign IL:Human Kinetics. 2012.p. 27-48.
[50] FERRANTE, María; KIFF, Rebecka; GOULDING, David; STEMPLE, Derek. Troponin T is essential for sarcomere assembly in zebrafish skeletal muscle. Journal of Cell Science. Febrero, 2011. vol.124, p.565-577.

aproximación de los filamentos y en consecuencia, la pérdida de la respuesta contráctil de la sarcómera[47].

Por otro lado, la tensión pasiva corresponde a la tensión generada cuando el músculo es elongado a diferentes longitudes sin estimulación; cerca de la longitud óptima, la tensión pasiva es cercana a cero, sin embargo, cuando el músculo se estira a una longitud mayor, la tensión pasiva se incrementa ampliamente. Estas longitudes pueden lograrse fisiológicamente y por ello la tensión pasiva puede desempeñar un papel importante al proporcionar resistencia incluso en ausencia de activación muscular, debido a que la fuente de producción de la fuerza pasiva en el músculo es la proteína titina ubicada dentro de la estructura miofibrilar[44,47].

La figura 3 muestra el esquema de la relación longitud-tensión[51]:

Figura 3.Esquema que representa las diferencias entre la longitud de la sarcómera y la fuerza o tensión ejercida por la fibra muscular



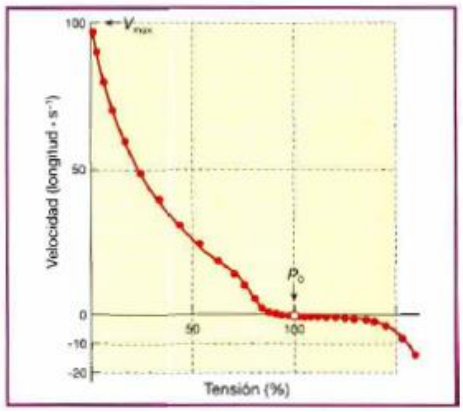
[51] LOPEZ, José; FERNANDEZ, Almudena. Control muscular del movimiento. En: Fisiologia del ejercicio. 3º ed. España: Editorial médica panamericana. 2006. p.81-182.

Tomado de: LOPEZ, José; FERNANDEZ, Almudena. Control muscular del movimiento. En: Fisiologia del ejercicio. 3º ed. España: Editorial médica panamericana. 2006. p.81-182.

Relación velocidad/tensión

La velocidad de acortamiento de un músculo depende de la carga externa aplicada. Existe una relación inversa que establece que a mayor carga, la tensión que debe generar el músculo es superior y la velocidad será menor, es decir, entre más velocidad de acortamiento se le demande al músculo, menos fuerza podrá ejercer y viceversa. La figura 4 muestra que la máxima velocidad de acortamiento se consigue cuando la carga es cero y la máxima fuerza se produce en condiciones excéntricas de la fibra muscular[44,51].

Figura 4. Relación velocidad-tensión



Tomado de LOPEZ, José; FERNANDEZ, Almudena. Control muscular del movimiento. En: Fisiologia del ejercicio. 3º ed. España: Editorial médica panamericana. 2006. p.81-182.

Sin embargo, las propiedades mecánicas del músculo esquelético caracterizadas a partir de las relaciones longitud-tensión y velocidad-tensión dependen de la organización de las fibras musculares para formar el músculo completo. Los músculos pueden organizarse en una distribución en serie definida como la disposición de las fibras una después de la otra y en la cual cada fibra muscular experimenta un cambio en la longitud en respuesta a la activación, generando una

sumatoria de cambios individuales en la longitud de cada fibra muscular lo que favorece un mayor rango de movimiento y una mayor velocidad de acortamiento. Con la disposición en paralelo, una fibra muscular se sitúa junto a la otra, lo que se relaciona con el AST, lo cual optimiza la máxima tensión que un músculo puede originar debido a que la tensión es igual a la sumatoria de las tensiones que puede desarrollar cada fibra con el supuesto que el AST de un músculo es un índice de la máxima fuerza que el músculo desarrolla. Finalmente, en la disposición no alineada directamente con la carga, se conforma un determinado ángulo con respecto a la recta de tensión lineal del tendón denominado ángulo de penación donde la magnitud de la máxima tensión que una fibra muscular puede generar es menor. El tendón actúa como elemento importante directamente relacionado con la carga o resistencia y con las fibras musculares[44,51].

2.1.4. Plasticidad del sistema neuromuscular

La plasticidad neuromuscular es la capacidad de adaptarse al cambio, en respuesta a demandas funcionales tales como ejercicio, procesos inflamatorios, condiciones de gravedad disminuida, envejecimiento e inmovilización. En el sistema neuromuscular se han descrito adaptaciones en el tipo de fibra muscular, alteraciones en el balance de síntesis y degradación de proteínas, cambios en los perfiles metabólicos de las células musculares en consecuencia de modificaciones en los procesos de transcripción y translación y cambios en el tipo de unidad motora y patrón de reclutamiento de unidades motoras[52],[53].

El proceso de crecimiento muscular depende de la activación, proliferación y diferenciación de las células satélite (CS) y puede ser desencadenado por daños

[52] Buckingham Margaret, Montarras Didier. The origin and genetic regulation of myogenic cells: From the embryo to the adult. En: Skeletal muscle repair and regeneration. 1° Ed. The Netherlands: Springer, 2008. p.19-44.
[53] ANDERSON, Judy. The satellite cell as a companion in skeletal muscle plasticity: currency, conveyance, clue, connector and colander. En: The Journal of Experimental Biology. Enero, 2006.vol.209, p.2276-2292.

estructurales, alteraciones en segmentos de la fibra muscular, liberación de sustancias inflamatorias y/o liberación de factores de crecimiento[53,54,55,56,57].

Las CS son mioblastos localizados entre la lámina basal y el sarcolema de las fibras musculares y se encuentran normalmente en un estado inactivo o quiescente y pueden ser activadas por un estímulo mecánico o químico y entrar en la fase de replicación del ciclo celular[53,54,55,58]. En el músculo de los roedores en su fase adulta, las CS comprenden entre el 5-10% de los núcleos de la fibra muscular[52]. Sin embargo, Saverio y col.[59] mencionan que en el músculo de los mamíferos, las CS están presentes de forma quiescente y representan del 2,5 – 6% de todos los núcleos de una fibra muscular.

Teoría del dominio nuclear

Las CS contribuyen al crecimiento muscular dado que las células musculares a diferencia de la mayoría de células del cuerpo son multinucleadas. Una vez que las CS se fusionan a las fibras musculares, son fundamentales para aumentar el tamaño de la fibra bajo la premisa de la teoría de dominio nuclear. Esta teoría sugiere que los mionúcleos controlan la producción de ARNm (ácido ribonucleico mensajero) y las proteínas, para mantener un volumen determinado de citoplasma, así que el incremento en el tamaño de la fibra o volumen citoplasmático debe estar asociado con un incremento proporcional de los mionúcleos, posiblemente para mantener un dominio mionuclear constante[53,57,60]. El mecanismo de crecimiento

[54] YABLONKA, Zipora. The Skeletal Muscle Satellite Cell: Still Young and Fascinating at 50. En: Journal of Histochemistry & Cytochemistry. Diciembre, 2011. vol. 59, no.12, p. 1041–1059.
[55] GRAU, Ameilia; GUERRA, Borja; LÓPEZ, José. Papel de las células satélite en la hipertrofia y regeneración muscular en respuesta al ejercicio. En: Archivos de Medicina del Deporte. Enero, 2007. vol.24, no. 119, p.187-196.
[56] KAWANO, Fuminori, et al. Essential role of satellite cells in the growth of rat soleus muscle fibers. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Agosto, 2008. vol.295, no.2, p.C458–C467.
[57] WANG, XiaoDong, et al. Mechanical load-dependent regulation of satellite cell and fiber size in rat soleus muscle. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Noviembre, 2006. vol. 290, no. C981–C989.
[58] ADAMS, Gregory. Satellite cell proliferation and skeletal muscle hypertrophy. En: Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. Diciembre, 2006. vol.31, p.782-790.
[59] SAVERIO, Francisco; DELLAVALLE, Arianna; DIAZ-MANERA, Jordi; MESSINA, Graziella, COSSU, Giulio. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. En: The Journal of clinical investigation. Enero, 2010. vol.120, no.1, p.11–19.
[60] HAWKE, Thomas, GARRY, Daniel. Myogenic satellite cells: Physiology to molecular biology. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2001. vol, 191, no.2, p:534–551.

mionuclear parece ser activado a través de la fusión de las CS que contribuye al crecimiento de la fibra muscular, y de esta manera favorece la formación de nuevos mionúcleos[61].

En condiciones de disminución de la actividad del músculo esquelético, se ha observado una reducción en el número total de las CS y en su capacidad para proliferar, lo que en consecuencia, inhibe el crecimiento mionuclear y disminuye el tamaño de las fibras musculares[56,57,62]. También ha sido reportado que con la suspensión de las patas posteriores en modelos animales, se presenta una supresión de la actividad mitótica de las CS[57].

En condiciones de lesión muscular, ocurre la ruptura de la lámina basal de manera que la membrana plasmática libera y activa las células satélite, que bajo la influencia de varios factores de crecimiento, se activan, proliferan y diferencian en miotubos multinucleados y eventualmente en fibras musculares regeneradas. Este proceso puede darse a través del restablecimiento de un grupo de células inactivo o de la migración a la región dañada y unión a la miofibra lesionada para formar una nueva fibra muscular. El núcleo formado en la fibra se encuentra inicialmente en posición centralizada pero a medida que aumenta la síntesis de proteínas contráctiles, se logra la recuperación de la fibra muscular como unidad funcional[37,52-55,58,59]. Sin embargo, aunque la disminución de la actividad muscular inducida por un modelo de inmovilización no es considerada como un modelo de lesión, el proceso de removilización posterior a la aplicación del modelo si induce un proceso inflamatorio dentro del músculo que podría activar las CS. Por otro lado, la atrofia muscular puede presentarse como una característica posterior a la lesión muscular debido al

[61] McCARTHY, John, et al. Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. En: Development and Stem Cells. Septiembre, 2011. vol.138, no. 17, p.3657-3666.
[62] ZHANG, Bao, et al. The effects of low frequency electrical stimulation on satellite cell activity in rat skeletal muscle during hindlimb suspension. En: BMC Cell Biology. Noviembre, 2010. vol. 11, p.1-9.

estado de inmovilización del segmento corporal o en forma generalizada por reposo prolongado.

Diferentes factores de crecimiento han sido descritos como elementos fundamentales en la activación y proliferación de las CS[56]. Estos se unen a sus receptores en la membrana plasmática y activan vías de transmisión de señales al interior de la célula y de esta manera, regulan la actividad de las células satélite[55]. El factor de crecimiento hepático HGF de sus siglas en inglés "*hepatocyte growth factor"* es una citocina multifuncional que puede ser extraída de la matriz extracelular y liberada en los músculos y se presume que su función es activar las células satélite; así mismo, el factor de crecimiento fibroblástico FGF de su sigla en inglés "*Fibroblast growth factor"* incrementa la proliferación una vez las CS se encuentran activadas[55,56].

El IGF-1 es uno de los más estudiados debido a que tiene un papel importante en el crecimiento y desarrollo celular durante el proceso embrionario, fetal y postnatal del ser humano[55,63,64]. El IGF-1 tiene tres isoformas conocidas: IGF-1Ea, IGF-1Eb e IGF-1Ec, componentes importantes en el crecimiento del músculo esquelético. Ésta última es sintetizada por las mismas células musculares y tiene un efecto autocrino en respuesta a estímulos mecánicos (como el estiramiento muscular) y también es denominada factor de crecimiento mecánico (MGF del inglés, mechano-growth factor)[65,66,67].

[63] HAMMED, Meera; ORRELL, Richard; COBBOLD, Matthew; GOLDSPINK Geoffrey; HARRIDGE, Stephen. En: Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. The Journal of Physiology. Febrero, 2003. vol.547, no. 1, p.247–254.

[64] YANG, Shi; GOLDSPINK, Geoffrey. Different roles of the IGF-I Ec peptide (MGF) and mature IGF-I in myoblast proliferation and differentiation. En: FEBS Letters. Julio, 2002. vol. 522, no. 1-3, p.156-160.

[65] KUMAR, Prashanth; GOLDSPINK, Geoffrey; BUTLER, Gillian; MOULY, Vicent. Mechano Growth Factor E peptide (MGF-E), derived from an isoform of IGF-1, activates human muscle progenitor cells and induces an increase in their fusion potential at different ages. En: Mechanisms of ageing and development. Abril, 2001. vol. 132, no. 4, p.154–162.

[66] ATES, Kenan, et al. The IGF-I splice variant MGF increases progenitor cells in ALS, dystrophic, and normal muscle. En: FEBS Letters. Mayo,2007.vol.581,p, 2727–2732.

[67] PHILIPPOU, Anastassios; MARIDAKI, María; HALAPAS, Antonis; KOUTSILIERIS, Michael. The Role of the Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) in Skeletal Muscle Physiology. En: In Vivo. Enero, 2007. vol.21, p. 45-54.

El MGF y las otras dos isoformas conocidas regulan la miogénesis y el metabolismo del músculo esquelético y tienen una función importante dentro de la atrofia e hipertrofia muscular. Se ha demostrado que en modelos animales, el aumento en la expresión de estas proteínas podría estar relacionada con la disminución en un 30% de la tasa de atrofia muscular así como con la preservación del área transversa de la fibra muscular, por lo tanto, se podría inferir que tiene un efecto protector sobre la pérdida de masa muscular[68]. Así, medidas terapéuticas que estimulen la producción celular de estos factores de crecimiento podrían generar un impacto importante en la reducción de la atrofia y mantenimiento de la función muscular durante procesos de inmovilización.

Relación entre fibras tipo I y tipo II

El músculo esquelético está compuesto por una población heterogénea de tipos de fibras musculares que varían de acuerdo con sus propiedades metabólicas y contráctiles y su estructura es definida por la disposición de las fibras relativa al eje de generación de fuerza[69,70].

El tipo de fibra muscular influye en la velocidad de contracción que está relacionada directamente con la mATPasa[69,71,72]. De esta forma, la clasificación de las fibras musculares está dada por fibras de contracción lenta y dos tipos de fibras de

[68] SHAVLAKADZE, Thea; WHITE, Jason; DAVIES, Marilyn; HOH, Joseph; GROUNDS, Miranda. Insulin-like growth factor I slows the rate of denervation induced skeletal muscle atrophy. En: Neuromuscular Disorders. Febrero, 2005. vol.15, no.2, p.139–146.
[69] ENG, Carolyn; SMALLWOOD, Laura; RAINIERO, María; LAHEY, Michele; WARD, Samuel; LIEBER, Richard. Scaling of muscle architecture and fiber types in the rat hindlimb. En: The Journal of Experimental Biology. Abril, 2008, vol. 211, p.2336-2345.
[70] SAKAMOTO, Kei; ASCHENBACH, William; HIRSHMAN, Michael; GOODYEAR, Laurie. Akt signaling in skeletal muscle: regulation by exercise and passive stretch. En: American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism. Noviembre, 2003. vol.285, no.5, p.E1081–E1088.
[71] GORZA, Luisa. Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. En: The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Febrero, 1990. vol.38, no.2, p.:257-265.
[72] SILVA, Anabelle; BENEDINI, Priscila; POLIZELLO, Juliana; CARVALHO, Leonardo; MATTIELLO, Ana. Characterization of Fiber Types in Different Muscles of the Hindlimb in Female Weanling and Adult Wistar Rats. En: Acta Histochemica et Cytochemica. Abril, 2011. vol.44, no.2, p.43–50.

contracción rápida, oxidativas y glucolíticas. Estas fibras contienen diferentes isoformas de MHC asociadas con la actividad de la mATPasa que determinan la función del músculo, diferenciando los músculos destinados a contrarrestar la fuerza de la gravedad y la función de apoyo postural, de los músculos especializados en soportar actividades de alta intensidad y potencia[73].

En ratas, al menos cuatro isoformas de MHC son expresadas en los músculos de las patas posteriores. Una isoforma ha sido identificada como fibras lentas o tipo I y las otras isoformas como fibras rápidas también definidas como IIa, IIb y IId/x[72,74]. El músculo sóleo está principalmente compuesto de fibras tipo I aunque también presenta fibras tipo IIa en menor proporción; en condiciones de descarga mecánica, se ha encontrado que el músculo sóleo presenta un incremento de las fibras tipo II[75,76]. Guillot y col.[76] confirmaron estos resultados al demostrar que con un modelo de suspensión de las patas posteriores, disminuye la proporción de fibras tipo I e incrementan las fibras tipo II. De esta manera se puede explicar la tendencia del músculo sóleo a desarrollar algunas características de un músculo compuesto predominantemente de fibras rápidas así como también a presentar cambios en sus propiedades contráctiles tales como el incremento en la fuerza tetánica.

A diferencia del sóleo, el músculo gastrocnemio está compuesto de fibras tipo I, IIa y IIb que se encuentran distribuidas por regiones. Así, la región superficial está compuesta completamente de fibras tipo IIb y la región profunda presenta los tres tipos de fibras[36].

---

[73] DESCHENES, Michael; GILES, Jennifer; McCOY, Raymond; VOLEK, Jeff; GOMEZ, Ana; KRAEMER, William. Neural factors account for strength decrements observed after short-term muscle unloading. En. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 2002. vol.282, no.2, p.R578–R583.

[74] TALMADGE, Robert; ROY, Roland; EDGERTON, Reggie. Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. En: Journal of Applied Physiology. Diciembre,1996. vol.81, no. 6, p. 2540–2546.

[75] DIMOV, Desanka; DIMOV, Irena. Muscle fiber types and fiber morphometry in the soleus muscle of the rat. En: Medicine and Biology. Enero, 2007. vol.14, p.121 – 127.

[76] GUILLOT, Chantal; STEINBERG, Jean: DELLIAUX, Stephane: KIPSON, Nathalie; JAMMES, Yves; BADIER, Monique. Physiological, histological and biochemical properties of rat skeletal muscles in response to hindlimb suspensión. En: Journal of electromyography and kinesiology. Abril, 2008. vol.18, no.2, p.276–283.

Por otro lado, Sakamoto y col.[70] reportan una descripción de la composición de los tipos de fibras e indican que el músculo sóleo presenta un 83% de fibras tipo I y 17% de fibras tipo IIa y que el músculo gastrocnemio presenta en su región profunda o porción roja un 28% de fibras tipo I, 63% de fibras tipo IIa y 9% de fibras tipo IIb y en su región superficial o porción blanca presentan un 87% de fibras tipo IIb y 13% de fibras tipo IIa. Por esta razón, pueden encontrarse variaciones en el perfil histológico de las fibras entre las diferentes investigaciones así como también entre las muestras del mismo músculo evaluado.

En humanos, la conformación de los músculos no se presenta de igual forma como se muestra en los animales debido a que su estructura conformacional se da en mosaico. El genoma humano contienen al menos 10 genes para miosina de cadena pesada pero solamente tres son expresados en los músculos de las extremidades en el humano adulto, que para efectos de esta revisión se tomará la descripción realizada por Scott y col.[77] que organiza los tipos de fibra muscular como tipos I, IIA, y IIB. A diferencia de algunos animales, el humano no presenta la isoforma denominada IId/x. Sin embargo, en el humano, los diferentes tipos de fibras musculares coexisten y no hay un porcentaje estipulado de predominancia de un tipo de fibra sobre el otro[78].

2.2. EFECTOS DE LA INMOVILIZACIÓN SOBRE EL TAMAÑO Y FUNCIÓN MUSCULAR

Prolongados periodos de reducida actividad muscular tales como inmovilización de un segmento corporal, reposo en cama, denervación, microgravedad, envejecimiento y condiciones patológicas como cáncer y enfermedades crónicas

[77] SCOTT, Wayne; STEVENS, Jennifer; BINDER, Stuart. Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications. En: Physical Therapy. Noviembre, 2001. vol.81, no.11, p.1810-1816.
[78] SCHIAFFINO, Stefano; REGGIANI, Carlo. Fiber types in mammalian skeletal muscles. En: Physiological Reviews. Octubre, 2011. vol.91, no.4, p.1447–1531.

degenerativas**,** involucran situaciones de hipocinesia e hipodinamia en el ser humano, que pueden generar una reducción en la actividad neuromuscular[18,20,].

En modelos animales, el músculo esquelético responde rápidamente a la disminución de la masa muscular considerada como atrofia, en respuesta a una descenso en la carga mecánica que puede darse por suspensión de las patas posteriores, denervación, sección de la médula espinal e inmovilización del segmento corporal[79,80]. Estos modelos serán descritos en el anexo 2.

La atrofia muscular está caracterizada por una disminución en el contenido neto de proteínas[13,81,82,83] , en el número total de células satélite[56,57,62], en el área de sección transversa de la fibra muscular[17,84] y en la masa muscular[84,85]. En consecuencia, la atrofia está asociada con alteraciones en la actividad electromiográfica[82], disminución en la producción de fuerza muscular y alteraciones en el índice de

[79] CHOPARD, Angéle; HILLOCK, Steven; JASMIN, Bernard. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. En: Journal of Cellular and Molecular Medicine. Julio, 2009. vol.13, p.3032-3050.

[80] HADDAD, Fadia; ROY Roland; ZHONG, Hu; EDGERTON, Reggie; BALDWIN Kenneth. Atrophy responses to muscle inactivity. I. Cellular markers of protein deficits. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2003. vol.95, no.2, p.781–790.

[81]MACHIDA, Shuichi; BOOTH, Frank. Regrowth of Skeletal Muscle Atrophied from Inactivity. En: Medicine & Science in Sports & Exercise. Enero, 2004. vol. 36, no.1, p.52–59.

[82] LIEBER, Richard. Skeletal muscle adaptation to decreased use. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.183-228.

FITTS, Robert; RILEY, Danny; WIDRICK, Jeffrey. Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2000. vol.89, no. 2, p.823–839

[83] FITTS, Robert; RILEY, Danny; WIDRICK, Jeffrey. Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2000. vol.89, no. 2, p.823–839

[84] MATTIELLO, Ana; CARVALHO, Leonardo; CORNACHIONE, Anabelle; NAGASHIMA Michio; NEDER Luciano; SHIMANO, Antonio. Morphological effects of electrical stimulation and intermittent muscle stretch after immobilization in soleus muscle. En: Histology and histopathology. Septiembre, 2006. vol.21, no. 9, p.957-964.

[85] BRITO, Vitor; OLIVEIRA, Belisa; MORAES, Silvia. Effects of immobilization on rat skeletal muscle tissue. En: Journal of Morphological Sciences. Enero, 2011. vol. 28, no. 4, p. 217-221.

fatiga[20,21,62,86,87]. En modelos animales, se ha reportado la reducción en el número de fibras y del número de sarcómeras en serie acompañada de acumulación del tejido conectivo en el perimisio después de 2 días de inmovilización seguido de una acumulación del tejido conectivo a nivel del endomisio después de 7 días de inmovilización[84].

Debido a la dificultad de investigar los mecanismos responsables para la atrofia muscular en humanos, los modelos animales han sido desarrollados para simular diferentes condiciones que producen esta condición, lo que proporciona a los investigadores la posibilidad de tener acceso completo al tejido para así poder realizar un análisis bioquímico, histológico y génico completo, que permita observar la activación de proteínas y las vías responsables para la atrofia muscular[14,15].

2.2.1. Efectos funcionales de la inmovilización

Disminución de la capacidad del músculo esquelético para generar fuerza muscular

La fuerza muscular ha sido definida como la capacidad del músculo para ejercer tensión activa logrando superar, neutralizar o contrarrestar una resistencia para ejecutar un movimiento articular en particular[82,88].

Según la tensión ejercida, la fuerza muscular es clasificada en tetánica, máxima y submáxima. La fuerza muscular tetánica está definida como la contracción sostenida del músculo por la sumatoria de estímulos eléctricos no fisiológicos en sucesión rápida, en donde el tiempo disponible que tiene el músculo para

[86] MADARO, Luca; SMERIGLIO, Piera; MOLINARO, Mario; BOUCHÉ, Marina. Unilateral immobilization: a simple model of limb atrophy in mice. En: Basic Applied Myology. Enero, 2008. vol.18, no.5, p.149-153.
[87] NAKANO, Jiro; KATAOKA, Hideki; SAKAMOTO, Jyunya; ORIGUCHI, Tomiki; OKITA, Minoru; YOSHIMURA, Toshiro. Low-level laser irradiation promotes the recovery of atrophied gastrocnemius skeletal muscle in rats. En: Experimental Physiology. Septiembre, 2009. vol.94, no.9, p.1005-1015.
[88] FISCHER, Steven; BRENNEMAN, Elora; WELLS, Richard; DICKERSON, Clark. Relationships between psychophysically acceptable and maximum voluntary hand force capacity in the context of underlying biomechanical limitations. En: Applied Ergonomics. Septiembre, 2012.vol,43, no.5, p.813-20.

recuperarse completamente no es suficiente antes que comience la siguiente fase de contracción**.** La fuerza máxima es la mayor fuerza que puede generar un músculo en respuesta a un impulso proveniente del SNC, en el que se alcanza el umbral máximo reclutando el mayor número de unidades motoras con interacción de casi todos los filamentos de actina y miosina. La fuerza muscular submáxima se produce cuando se realiza una contracción voluntaria submáxima que corresponde a un menor número de unidades motoras reclutadas, cuya tensión ejercida se realiza en la mayoría de las actividades funcionales[88,89,90,91].

Se ha encontrado que la reducción en la fuerza en respuesta a la disminución del uso se debe además a una alteración en el reclutamiento de unidades motoras y en la taza de disparo de las motoneuronas. En modelos humanos se ha demostrado un aumento en la amplitud del potencial de acción de la motoneurona a partir del día 7 de 21 días de inmovilización del antebrazo en sujetos sanos. Los autores también reportan un déficit en la activación central de los músculos flexores de la muñeca después del tiempo de inmovilización y menor número de unidades motoras reclutadas[92]. Así mismo, Seki y col.[93] demostraron una disminución de 39±3.2 Hz a 33±1.5 Hz de la tasa de disparo de las motoneuronas al inmovilizar el primer interóseo dorsal y el aductor del pulgar de 5 sujetos sanos durante 1 semana. De esta manera, se concluye que la tasa de disparo de las motoneuronas es uno de los parámetros que puede influir en la producción de fuerza máxima.

Así mismo, LeBlanc y col. citados por Dittmer y col.[21], evaluaron 9 sujetos sometidos a 5 semanas de reposo en cama en forma horizontal. Los autores concluyeron que

[89] WATANABE, Shogo; KITAWAKI, Tomoki; OKA, Hisao. Mathematical equation of fusion index of tetanic contraction of skeletal muscles. En: Journal of Electromyography and Kinesiology. Abril, 2010. vol.20, no. 2, p.284-299.
[90] MEIJER, Kenneth. History dependence of force production in submaximal stimulated rat medial gastrocnemius muscle. En: Journal of electromyography and kinesiology. Diciembre, 2002. vol.12, no. 6, p.463-70.
[91] JACKSON, Alley; DISHMAN, Rod. Perceived submaximal force production in young adult males and females. En: Medicine & Science in Sports & Exercise. Febrero, 2000. vol.32, no.2, p.448–451.
[92] CLARK, Brian; ISSAC, Lailah: LANE, Jason; DAMRON, Leatha; HOFFMAN, Damron. Neuromuscular plasticity during and following 3 wk of human forearm cast immobilization. En: Journal of Applied Physiology. Julio, 2008. vol.105, p.:868-878.
[93] SEKI, Kazuhiko; KIZUKA, Tomohiro; YAMADA, Hiroshi. Reduction in maximal firing rate of motoneurons after 1-week immobilization of finger muscle in human subjects. En: Journal of Electromyography and Kinesiology. Abril, 2007. vol.17, no. 2, p.113–120.

existe una disminución significativa del 26% de la fuerza máxima de los músculos plantiflexores medida con un dinamómetro. En modelos animales de suspensión de las patas posteriores, el músculo sóleo disminuye su fuerza máxima aproximadamente a la mitad comparado con el grupo control (1272±272 vs 560±158 Nw/mg) e incrementa la fuerza tetánica (30±3 a 40±2 Hertz), debido probablemente a los cambios generados en sus propiedades contráctiles, cuya hipótesis se basa en que la transformación de las fibras de contracción lenta (que componen principalmente el músculo sóleo) a fibras de contracción rápida, estarían asociadas con un incremento en la forma rápida de la miosina de cadena pesada[76].

Actividad eléctrica del músculo con la disminución del uso

La electromiografía (EMG) es una técnica de medición de la actividad eléctrica del músculo; cuando éste es activado, se emite una señal eléctrica debido a la conducción de un potencial de acción a lo largo de la fibra muscular[47].

Se ha descrito ampliamente que en condiciones de atrofia, la actividad electromiográfica del músculo se altera[82,94,95,96]. En humanos con un periodo de inmovilización del miembro inferior izquierdo durante 3 semanas en una posición de acortamiento del cuádriceps, se observó una reducción del 40% en el registro electromiográfico de los vastos externo y medial de la rodilla. Estos resultados son consistentes con la noción de que aunque la reducción de la activación muscular contribuye a la disminución de la fuerza muscular, no es una respuesta directamente proporcional[96].

[94] OHIRA, Yoshinobu, et al. Ontogenetic, gravity-dependent development of rat soleus muscle. En: American Journal of Physiology. Cell Physiology. Abril, 2001. vol.;280, no.4, p.C1008–C1016.
[95] FOURNIER, Mario; ROY, Roland; PERHAM, Heidi; SIMARD, Clermont; EDGERTON, Reggie. Is limb immobilization a model of muscle disuse? Experimental neurology. Abril,1983. vol.80, no.1, p.147-156.
[96] HORTOBÁGYI, Tibor, et al. Changes in muscle strength, muscle fibre size and myofibrillar gene expression after immobilization and retraining in humans. En: The Journal of Physiology. Abril, 2000. vol.524, p.293-304.

Ohira y col.[94] demostraron que en un modelo animal, después de un periodo de una semana de suspensión de las patas posteriores ocurre una disminución del 76% en la actividad eléctrica de los músculos sóleo y plantar y del 52% del gastrocnemio lateral. Similares hallazgos fueron reportados por Fournier y col.[95] quienes encontraron que a una semana de inmovilización bilateral de las patas posteriores con los músculos sóleo y gastrocnemio en una posición acortada, la actividad electromiográfica de los músculos disminuyó en un 63% en comparación con los niveles de pre-inmovilización. Después de 4 semanas de inmovilización, la actividad eléctrica se mantuvo deprimida observándose una disminución en el sóleo del 77% y del gastrocnemio del 50%. Considerando la naturaleza biológica del músculo esquelético de los animales utilizados en estos estudios, los cambios electromiográficos son explicados por adaptaciones metabólicas y enzimáticas de los tipos de fibra muscular, por lo tanto, se observa un comportamiento diferencial del efecto negativo de la inmovilización, dependiente del músculo estudiado.

Efectos de la inmovilización sobre la funcionalidad

La funcionalidad se relaciona con la capacidad del individuo de interactuar en el medio ambiente ejecutando sus actividades de la vida diaria, lo que determina su independencia[97,98].

Cuando el individuo es sometido a un periodo de inmovilización que genere disminución de la actividad muscular, puede presentar limitaciones funcionales[99]. Así, alteraciones en la relación contracción/relajación del músculo esquelético pueden afectar la capacidad para mantener la postura normal y la coordinación del

[97] SUIZA. OMS. Clasificación internacional del funcionamiento, de la discapacidad y la salud. Ginebra: OMS.2001. 258 p.
[98] PACHECO, Maia; CESPEDES, Luis; FRANCHINI, Emerson; TAKITO, Mónica. Functional vs. Strength training in adults: specific needs define the best intervention. En: International Journal of Sports Physical Therapy. Febrero, 2013. vol.8, no.1, p.34-43..
[99] STEVENS, Jennifer, et al. Muscle Adaptations with Immobilization and Rehabilitation after Ankle Fracture. En: Medicine and Science in Sports and Exercise. Octubre, 2004. vol.36, no. 10, p.1695–1701.

movimiento. De igual forma, se ha establecido que la disminución del uso a través de modelos de inmovilización genera una reducción del rendimiento muscular, del índice de fatiga y de la capacidad funcional[100].

Sin embargo, una dificultad observada en la revisión realizada es la poca cantidad de estudios que reportan la medición de la funcionalidad medida como coordinación motora o desempeño motor en condiciones de disminución de uso del músculo tanto en modelos humanos como en modelos experimentales en animales.

En humanos, después de un periodo de inmovilización de 8 semanas por una fractura de tobillo, se evaluó la funcionalidad del patrón de marcha, medida a través del tiempo para realizar las actividades de desplazamiento. Los resultados mostraron un aumento en el tiempo de desplazamiento y por tanto, una disminución en la funcionalidad[101]. De esta manera, condiciones de disminución de la actividad muscular tienen repercusiones directas sobre la funcionalidad del individuo que reducirán su eficacia para desempeñarse en sus actividades básicas cotidianas.

2.2.2. Efectos sobre las variaciones histológicas en el músculo esquelético

Periodos de inmovilización conducen a la presencia de atrofia muscular que está caracterizada por una diversidad de alteraciones en las fibras musculares incluyendo la disminución en el número de sarcómeras, degradación endotelial, acumulación de tejido conectivo entre las fibras musculares, reducción en el número de mitocondrias, apoptosis de mionúcleos, reducción en la densidad capilar y disminución del tamaño muscular[11,85,102,103].

[100] SEMMLER, John; KUTZSCHER, Devin; ENOKA, Roger. Limb immobilization alters muscle activation patterns during a fatiguing isometric contraction. En: Muscle Nerve. Septiembre, 2000. vol.23, no.9, p.1381-1392.
[101] SHAFFER, Margaret, et al. Effects of immobilization on plantar-flexion torque, fatigue resistance, and functional ability following an ankle fracture. En: Physical Therapy. Agosto, 2000. vol.80, no. 8, p.769-780.
[102] HUDSON, Nicholas; FRANKLIN, Craig. Maintaining muscle mass during extended disuse: aestivating frogs as a model species. En: Journal of Experimental Biology. Agosto, 2002. vol.205, p.2297–2303.
[103] SOUSA, Ana; LEONEL, Endrigo; VITA, Aline; DIAS, José; VASCONCELOS, Anilton. Padronização da técnica de imobilização do membro pélvico para estudo da atrofia muscular esquelética em ratos. En: Jornal Brasileiro de Ciência Animal. Enero, 2011. vol.4, no.7, p.274-291.

Disminución en el tamaño de la fibra muscular ante la inmovilización

La permanencia de los pacientes en cama por largos periodos de tiempo es una situación que puede conducir a alteraciones en el área de la fibra muscular. Kawashima y col.[104] reportaron una reducción en el AST del músculo aductor corto del muslo en pacientes en cama por 20 días. El músculo puede ser restaurado a su tamaño inicial después de 1 mes en que la ambulación es reintegrada. LeBlanc y col. citados por Dittmer y col.[21] reportan una disminución significativa del área total de los músculos gastrocnemios y soleo del 12% en 9 hombres voluntarios que permanecieron en reposo absoluto en cama por 5 semanas. De igual forma, Bangsbo y Mizuno citados por Mujika y Padilla[105], encontraron una disminución del 7% en el AST del músculo gastrocnemio de deportistas después de 3 semanas de disminución de la actividad muscular**.**

En modelos animales, se ha observado una disminución del 43% en el AST de las fibras musculares del sóleo comparadas con el músculo contralateral (1179 ± 416 vs 2084 ± 728 μm^2, respectivamente), después de 3 semanas de inmovilización[106]. De igual forma, Da Silva y col.[107] también reportan una reducción del 43% del área de la fibra con tan solo 7 días de inmovilización con un material de resina acrílica colocado de forma unilateral en la pata posterior de la unidad experimental**.** Así, la reducción en el AST no podría establecerse en una relación proporcional al periodo de tiempo en el que el músculo es sometido a disminución del uso.

---

[104] KAWASHIMA, Shino; AKIMA, Hiroshi; KUNO, Shin-ya; GUNJI, Atsuaki; FUKUNAGA, Tetsuo. Human adductor muscles atrophy after short duration of unweighting. En: European Journal of Applied Physiology. Agosto, 2004. vol.92, no.4, p.602–605.

[105] MUJIKA, Iñigo; PADILLA, Sabino. Muscular characteristics of detraining in humans. En: Medicine & Science in Sports & Exercise. Agosto, 2001. vol.33, no.8, p.297–1303.

[106] GOMES, Anna; COUTINHO, Eliane; FRANÇA, Carolina, POLONIO John; SALVINI, Tania. Effect of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. En. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Diciembre, 2004, vol.37, no.12, p.1473-1480.

[107] DA SILVA, Claudia; GUIRRO, Rinaldo; POLACOW, María, Cancelliero Karina, Durigan Joao. Rat hindlimb joint immobilization with acrylic resin orthoses. En: Brazilian journal of medical and biological research. Julio, 2006, vol.39, no.7, p.979-985.

Disminución en la masa muscular por descenso de la actividad muscular

En modelos animales, Matiello y col.[84] reportan que la atrofia muscular inicia 48 horas después del inicio de la inmovilización sobre el tríceps sural con un modelo de yeso unilateral en ratas, observándose un 43,3% de pérdida de la masa muscular del sóleo al finalizar 7 días con la inmovilización. Similares hallazgos fueron encontrados por Da Silva y col.[107] que encontraron una disminución del 34% en la masa muscular del sóleo con 7 días de inmovilización a través de un modelo con resina acrílica.

Por otro lado, Cros y col.[108] encontraron que después de tan sólo dos días de suspensión de las patas posteriores de las unidades experimentales, el peso húmedo del músculo disminuyó en un 20%; a los 28 días la disminución fue del 50%. De igual forma, Fitts y col.[83] reportan una reducción en el peso de los músculos gastrocnemio, plantar y sóleo en un 16, 24 and 38%, respectivamente después de 5.4 días de suspensión de las patas posteriores. Por lo tanto, la reducción de la masa muscular dependerá del músculo observado y del modelo de inducción de atrofia muscular utilizado.

Cambios en el número de mionúcleos y área de dominio nuclear por disminución de la actividad muscular

Previos estudios han mostrado variaciones en el número de mionúcleos por fibra muscular en condiciones de atrofia[81,85,94,109]. Algunos autores establecen que hay una reducción no siempre proporcional a la disminución del AST de la fibra muscular, lo cual puede ser explicada por las diferencias en los tipos de fibra

[108] CROS, Nathalie, et al. Upregulation of M-creatine kinase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: two markers of muscle disuse. En: American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 1999, vol.276, p.R308–R316.
[109] BRUUSGAARD, Jo; JOHANSEN, Inger; EGNER, Ignacio; RANA, Zoe; GUNDERSEN, Kristian. Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. PNAS. Agosto, 2010. vol.107, no. 34, p.15111-15116.

muscular[81,85,94]. En modelos animales, se ha demostrado que las fibras tipo I contienen mayor número de mionúcleos por unidad de área que las fibras tipo II, por tanto, se ha encontrado una mayor disminución en el número de mionúcleos en las fibras tipo I del sóleo que en las tipo II del plantar, como respuesta a la inactividad en suspensión de patas posteriores[81]. De igual forma, Ohira y col.[94] también reportaron una reducción en el número de mionúcleos y en el AST en las fibras musculares de ratas recién nacidas sometidas a suspensión de sus patas posteriores por 21 días. Así mismo, el promedio del área de dominio nuclear fue menor en las ratas con suspensión que en las ratas del grupo control.

Sin embargo, Bruusgaard y col.[109] encontraron que el número de mionúcleos no se reduce en atrofia muscular inducida por denervación, rechazando por tanto, el paradigma de la disminución del área de dominio nuclear en atrofia muscular. Debido a esto, establecen que en condiciones de reducción de la actividad muscular, las fibras mantienen un número elevado de mionúcleos que podría proporcionar resistencia al progreso de la atrofia.

En modelos humanos, Ohira y col.[110] analizaron los efectos de dos y cuatros meses de reposo en cama en el músculo sóleo. Los autores reportan que el área de dominio nuclear disminuye a los 4 meses y el número de mionúcleos se mantiene a través de todo el tiempo de observación. Al parecer, en condiciones de atrofia muscular se atenúa el proceso de crecimiento mionuclear, posiblemente para mantener un área constante de dominio nuclear[111].

Por ende, durante periodos de disminución de actividad, el músculo puede responder de una manera inequitativa entre el AST y el número de mionúcleos. Así, se ha observado que los cambios en el área ocurren de forma más rápida que la

[110] OHIRA, Yoshinobu, et al. Myonuclear domain and myosin phenotype in human soleus after bed rest with or without loading. En: Journal of Applied Physiology. Noviembre, 1999. vol.;87, no.5, p.1776–1785.
[111] TEIXEIRA, Carlos; DUARTE, José. Myonuclear domain in skeletal muscle fibers. A critical review. En: Archives of Exercise in Health and Disease. Enero, 2011. vol. 2, no.2, p.92-101.

reducción en el número de mionúcleos, indicando que la inactividad puede ser modulada por expresión génica y como una estrategia adaptativa del músculo a los cambios generados por la disminución de uso[111].

Relación entre fibras tipo I y tipo II con la disminución del uso

La disminución de la actividad induce una transformación rápida en las fibras de los músculos antigravitatorios, seguida de atrofia muscular progresiva que se acompaña de disminución de la fuerza muscular y de la capacidad funcional[112,113]. En modelos animales, se ha observado que los músculos antigravitatorios como el sóleo y el aductor longo que están compuestos de fibras de contracción lenta (tipo I), experimentan un mayor grado de disminución de AST que los músculos compuestos por fibras de contracción rápida (tipo II)[83].

Así mismo, modelos animales sometidos a disminución de actividad, exhiben alteraciones en las propiedades contráctiles del músculo esquelético tales como un incremento en la velocidad de contracción máxima y en la relación fuerza-velocidad en las fibras lentas. Estas alteraciones coinciden con un incremento en el contenido de la miosina rápida y la transformación de las fibras tipo I a tipo II[85]. Los músculos que tienen predominancia en fibras tipo I toman propiedades de los músculos compuestos predominantemente de fibras tipo II después de varias semanas de disminución de la actividad[85]. Esto fue corroborado por Guillot y col.[76] que determinaron que después de 21 días de suspensión de las patas posteriores de las ratas, se produjo un cambio en el perfil histológico de las fibras musculares, con

[112] BASTIDE, Bruno: CONTI, Antonio; SORRENTINO, Vincenzo; MOUNIER, Yvone. Properties of ryanodine receptor in rat muscles submitted to unloaded conditions. En: Biochemical and biophysical research communications. Abril, 2000. vol. 270, no.2, p.442-447.
[113] HVID, Lars; SUETTA, Charlotte; AAGAARD, Per; KJAER, Michael; FRANDSEN, Ulrik; ØRTENBLAD, Niels. Four days of muscle disuse impairs single fiber contractile function in young and old healthy men. En: Experimental Gerontology. Febrero, 2013. vol.;48, no.2, p.154-161.

un incremento en el porcentaje de fibras rápidas y una disminución en el porcentaje de fibras lentas.

La transformación del tipo de fibra muscular con la aplicación de un modelo de disminución de uso puede tener implicaciones funcionales[82,112,113]. Se ha establecido que los músculos compuestos predominantemente de fibras rápidas generan una menor contracción tetánica con altas frecuencias de estimulación, Por ello, si la velocidad de contracción y relajación incrementa, altas frecuencias de conducción neural serán requeridas para mantener los niveles de tensión constante en el músculo esquelético[82].

2.2.3. Efectos moleculares de la inmovilización

Efectos en la relación de la síntesis y degradación de proteínas

La masa muscular es predominantemente compuesta de proteína miofibrilar, por lo tanto, es dependiente del balance intrínseco entre la síntesis de nuevas proteínas y la degradación de proteínas existentes o proteólisis. Una alteración en el balance entre estos dos procesos resulta en una pérdida o ganancia neta de proteínas musculares culminando en una disminución o incremento de la masa muscular respectivamente[15,18]. Diversos estudios se han enfocado en revisar las cascadas moleculares que controlan el balance de las reacciones catabólicas y anabólicas de las proteínas musculares demostrando que la atrofia muscular ocurre debido a disminución de la síntesis de proteínas, a un incremento en la tasa de proteólisis o a una combinación de ambas[13,14,15,17,85].

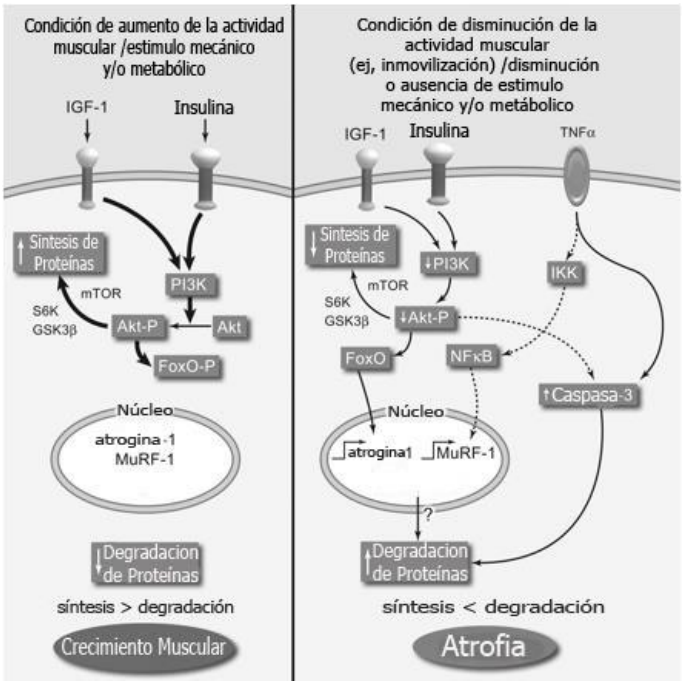
Así mismo, el aumento en la concentración de diversas hormonas dentro del músculo estimula los mionúcleos para aumentar la síntesis proteica de actina y miosina dentro de la sarcómera existente logrando un aumento del tamaño de la fibra muscular y aumento en su capacidad generadora de fuerza. Por lo tanto, la

producción de proteína por la formación de los nuevos mionúcleos determina el crecimiento muscular[53,55,60].

La figura 5 representa las vías moleculares de la síntesis y degradación de proteinas que determina el crecimiento o la atrofia muscular. En el crecimiento muscular, la síntesis de proteínas supera la degradación debido a que la activación del PI3-K/Akt (fosfatidilinositol 3 kinasa/proteincinasa estimula la síntesis de proteínas y fosforila los factores de transcripción FoxO (del inglés *Forkhead Transcription Factor*) que estimula el proceso de proteólisis. En las diferentes condiciones que conducen a la atrofia muscular, se suprime la vía del IGF-1 que conduce a una depresión de la vía PI3-K/Akt y por lo tanto, una disminución de la síntesis de proteínas y de la fosforilación del FoxO. Esto permite que el FoxO estimule la expresión de las enzimas E3 atrogina-1 y del MuRF-1 (del inglés *muscle ring finger-1*) que conduce a la degradación de proteínas. Este estimulo también puede ser producido por una citocina inflamatoria denominada TNF-α (del inglés *tumoral necrosis factor*- α) al incrementar la activación del NF-κB[113].

Figura 5. Diagrama que representa las principales vías que controlan la síntesis y degradación de proteínas[114].

[114] LECKER, Stewart; GOLDBERG, Alfred; MITCH, William. Protein Degradation by the Ubiquitin–Proteasome Pathway in Normal and Disease States. En: Journal of the American Society of Nephrology. Julio, 2006. vol.17, no. 7,p.1807-1819.



Adaptado de LECKER, Stewart; GOLDBERG, Alfred; MITCH, William. Protein Degradation by the Ubiquitin–Proteasome Pathway in Normal and Disease States. En: Journal of the American Society of Nephrology. Julio, 2006. vol.17, no. 7,p.1807-1819. .

A continuación se describen detalladamente los reguladores positivos de la síntesis de proteínas y reguladores de la degradación de proteínas.

Reguladores positivos de la síntesis de proteínas

a) Vía Akt/mTOR

El Akt también denominado proteína-cinasa B pertenece a la familia de las proteínas cinasas serina/treonina (enzimas catalizadoras de la fosforilación del grupo hidroxilo de la serina o treonina de ciertas proteínas) y es un regulador importante en el metabolismo y crecimiento celular. La actividad del Akt se incrementa en respuesta a numerosos estímulos que incluyen factores de crecimiento como el IGF-1, a la angiotensina II y al estrés mecánico. Así mismo, el Akt ha mostrado tener efectos de estimulación del crecimiento en el músculo esquelético y es un activador conocido de la síntesis de proteínas[15,70].

El Akt estimula la síntesis de proteínas vía mTOR (del inglés *mammalian target of rapamycin*), el cual es un importante regulador de la insulina y de las vías de nutrientes requeridas para el crecimiento y proliferación celular[115,116].

La vía del mTOR es un regulador clave del crecimiento y proliferación celular que integra señales de nutrientes, energía y factores de crecimiento que regulan procesos de autofagia, biogénesis de ribosomas y metabolismo[13,70,115,116].

El Akt inhibe la degradación de proteínas a través de la fosforilación de los factores de transcripción de la familia FoxO. Los factores FoxO son importantes en la regulación de la transcripción del MuRF1 y del MAFbx(del inglés *muscle atrophy F-box*) conduciendo a la ubiquitinación de la miosina y otras proteínas y su degradación en el proteosoma[115]. (Una explicación más detallada se encuentra más adelante en "Vía ubiquitina-proteosoma").

b) Factores reguladores miogénicos

El myf5, MRF4, MyoD y la miogenina son factores de transcripción específicos del músculo esquelético y son miembros de una misma familia de proteínas que tiene una función importante durante la determinación y la diferenciación de mioblastos. El MyoD y Myf5 son necesarios para que las CS sean denominadas como mioblastos mientras que la miogenina y el MRF4 regulan la diferenciación en fibras musculares maduras[16,117]. Estudios *in vitro* de la expresión de estos factores ha demostrado que el transcriptor MyoD es el primero y más abundante gen regulador miogénico y es preferencialmente expresado en fibras musculares rápidas[117,118]. En

[115] SCHIAFFINO, Stefano; MAMMUCARI, Cristina. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: Insights from genetic models. En: Skeletal Muscle. Enero, 2011. vol.1, p.1-14.
[116] BONALDO, Paolo; SANDRI, Marco. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. En: Disease Models & Mechanisms. Enero, 2013. vol.6, no. 1, p.25-39.
[117] STEWART, Claire; RITTWEGER, Jörn. Adaptive processes in skeletal muscle: Molecular regulators and genetic influences. En: Journal of musculoskeletal & neuronal interactions. Enero-Marzo, 2006. vol.6. no. 1, p.73-86.
[118] WANG, Jingsong; MALDONADO, Michael. The Ubiquitin-Proteasome System and Its Role in Inflammatory and Autoimmune Diseases. En: Cellular & Molecular Immunology. Agosto, 2006. vol.3, no.4, p.255-261.

estudios *in vivo* se ha demostrado que la activación de las CS se puede dar a través de dos vías: expresando myoD o Myf5. Así, durante el envejecimiento, enfermedad o lesión, estos factores son reactivados para reiniciar la miogénesis y reparar el daño muscular. Sin embargo, este proceso dependerá de la edad del sujeto y/o el grado de cambio presentado en la fibra muscular[117].

Reguladores de la degradación de proteínas

a) Vía ubiquitina-proteosoma

La vía ubiquitina-proteosoma se compone de un complejo proteolítico dinámico denominado proteosoma y de acciones concertadas de enzimas que enlazan cadenas del co-factor polipéptido Ub sobre las proteínas para marcar su degradación[113,118].

La participación de esta vía en la disminución de la actividad muscular está asociada tanto a condiciones patológicas como a modelo de disminución de actividad muscular (descarga, denervación o inmovilización) y media una gran parte de la degradación de las proteínas miofibrilares en el músculo esquelético[32,113,117].

La participación de esta vía en la atrofia muscular se encuentra asociada con los diferentes modelos de disminución del uso[116,117]. El ARNm del MuRF1, es supra-regulado en varios modelos de disminución de uso como lo observado en las primeras 24 horas en un modelo de denervación. Los niveles de MAFbx incrementan rápidamente antes que la pérdida de masa muscular sea detectable y mantiene un alto nivel de expresión cuando se acelera el proceso de proteólisis sugiriendo que estas ligasas pueden ser establecidas como buenos marcadores de la atrofia en la fase temprana así como también objetivos potenciales para intervenciones terapéuticas[17,117].

b) Miostatina

Es una proteína perteneciente a la familia del factor de crecimiento transformante beta, TGF- β (del inglés *Transforming growth factor beta*). Es expresada en las CS y se ha demostrado su influencia como regulador negativo en la expresión de Myf4, Myf5 y MyoD[20,119]. La mutación o ruptura de esta proteína está asociada con un fuerte incremento de la masa muscular debido a la hiperplasia o hipertrofia de las fibras musculares[13,17]. Al inhibir la diferenciación y crecimiento muscular, la ausencia del gen de la miostatina puede generar una amplia hipertrofia muscular[20,120].

Así, se ha observado en modelos animales que la administración exógena de este regulador negativo conduce a la pérdida de masa muscular[13]; en cultivos celulares, el tratamiento con miostatina recombinante resulta en pérdida de proteínas debido a la reducción en la tasa de síntesis de proteínas[121]. De igual forma, el incremento en la actividad de la miostatina está asociado con pérdida de la masa muscular en personas con atrofia por disminución de uso en pacientes con reposo prolongado y en envejecimiento[13,117].

c) Glucocorticoides

Los glucocorticoides son potentes activadores de la degradación de las proteínas y su administración estimula el incremento en la expresión de MuRF1 y en la atrogina-1 y esta respuesta requiere de la activación del FoxO[113,116].

---

[119] SMITH, Timothy; BLOCK, Nancy; RHODES, Simon; KONIECZNY, Stephen; BOONE, Jeffrey. A unique pattern of expression of the four muscle regulatory factor proteins distinguishes somitic from embryonic, fetal and newborn mouse myogenic cells. Development. Marzo, 1993. vol.117, no.3, p.125-1133.

[120] SHARMA, Mridula; LANGLEY, Brett, BASS, John; KAMBADUR, Ravi. Myostatin in Muscle Growth and Repair. En: Exercise & Sport Sciences Reviews. Octubre, 2001, vol.29, no.4, p.155–158.

[121] TAYLOR, Wayne, et al. Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C_2C_{12} muscle cells. En: American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism. Febrero, 2001. vol. 280, no. 2, p.E221–E228.

En el músculo esquelético, los glucocorticoides disminuyen la tasa de síntesis de proteínas e incrementan la tasa de degradación de proteínas. La atrofia muscular inducida por uso disminuido y la caquexia son condiciones asociadas con el incremento de los niveles circulantes de glucocorticoides[15].

d) TNF- α

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citocina pleiotrópica producida y liberada por diferentes tipos celulares que tiene efectos sobre la promoción o inhibición del crecimiento, angiogénesis, inflamación e inmunomodulación.[122,123,124]

El TNF- α ha sido asociado con la pérdida de masa muscular. En la caquexia, se observa un incremento del TNF- α y de las citocinas IL-1 e IL-6, lo que sugiere que su producción local puede ser suficiente para inducir degeneración en el músculo esquelético[13,124]. En modelos animales con cáncer o sepsis, el bloqueo en la producción de TNF- α puede prevenir la pérdida de masa muscular debido a que el incremento en sus niveles puede conducir a un aumento en la degradación de proteínas en cultivos de células musculares[13].

Sin embargo, no hay evidencia clara acerca de la participación del TNF- α dentro de la atrofia inducida por disminución de uso debido a que este último es un fenómeno local mientras que condiciones como la caquexia está asociada con cambios inmunológicos sistémicos[13,117].

e) Señalización NF-κB

[122] GLASS, David. Signaling pathways perturbing muscle mass. En: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. Mayo, 2010, vol.13, no.3, p.225-229.
[123] ALVAREZ, Belém; QUINN, Lebris; BUSQUETS Silvia; LÓPEZ Francisco; ARGILÉS Josep. Direct effects of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) on murine skeletal muscle cell lines. Bimodal effects on protein metabolism. En; European Cytokine Network. Julio – Septiembre, 2001, vol.12, p.399-410.
[124] LANG, Charles; FROST, Robert; NAIRN, Angus; MACLEAN David; VARY, Thomas. TNF- α impairs heart and skeletal muscle protein synthesis by altering translation initiation. En: American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism. Febrero, 2002. vol.282, no. 2, p.E336–E347.

El NFκB representa una familia de cinco factores de transcripción que actúan como mediadores de procesos inmunes e inflamatorios que también son expresados en el músculo esquelético en el que median el efecto de las citocinas inflamatorias como el TNF-α[13,79,116].

Aunque no hay evidencia clara del incremento en la producción del TNF-α y de otras citocinas inflamatorias en la atrofia inducida por disminución del uso, se ha observado que se genera una activación del NFκB, por tanto, se cree que el punto de activación es independiente de estas citocinas y de esta manera, darse a través de una vía específica para el NFκB activada durante la atrofia[17,79,116].

El NF-κB puede inducir la expresión de varías proteínas del sistema ubiquitina-proteosoma que están involucradas en la degradación de proteínas del músculo esquelético[125].

2.3. REMOVILIZACIÓN DESPUÉS DE LA INMOVILIZACIÓN

Las investigaciones que han sido realizadas para evaluar los efectos de la removilización después de un periodo de disminución de uso del músculo, han demostrado que se requiere de un mayor periodo de tiempo de removilización que de inmovilización para conducir al músculo esquelético a un valor aproximado a sus condiciones iniciales[82].

Generalmente, los músculos sóleo y gastrocnemio son utilizados para los modelos de disminución de la actividad muscular en condiciones de inmovilización debido a que tienen una distribución diferente en el tipo de fibra muscular y ambos responden rápidamente al ejercicio. No obstante, es necesario definir si los cambios degenerativos causados por la inmovilización son temporales o permanentes. Si

[125] LI, Hong; MALHOTRA, Shweta; KUMAR, Ashok. Nuclear Factor-kappa B Signaling in Skeletal Muscle Atrophy. En: Journal of Molecular Medicine. Octubre, 2008. vol.86, no.10, p.1113–1126.

son temporales debe conocerse si la recuperación del tejido muscular es completa y posible y cuáles son los métodos que requieren utilizarse para su optima reparación[12].

2.3.1. Efectos funcionales de la removilización

Para conocimiento de esta investigación, existen pocos estudios que examinen el efecto del periodo de removilización involucrando tan solo el retorno a las actividades cotidianas sobre la capacidad funcional del músculo esquelético y del individuo; en su mayoría, las publicaciones enfatizan en los efectos de diversas intervenciones terapéuticas en condiciones normales del músculo o después de reposo prolongado (no inmovilización). A continuación se describen los dos estudios que presentan resultados de algunas de los componentes de funcionalidad del músculo durante un periodo de removilización posterior a inmovilización.

En humanos sanos, Hortobágyi y col.[96] investigaron el efecto del entrenamiento con tres tipos de ejercicio (contracciones concéntricas, excéntricas o mixtas) en el músculo esquelético inmovilizado por 21 días. Al finalizar el periodo de inmovilización se observó una reducción del 48% en la fuerza máxima muscular; luego de realizar entrenamiento concéntrico, la fuerza muscular incrementó en cerca de 44%, y con el entrenamiento mixto aumentó en un 70%. Los autores encontraron que la fuerza muscular regresó a los valores basales (antes de la inmovilización) en tan sólo 14 días de entrenamiento excéntrico y mixto, mientras que el entrenamiento concéntrico indujo recuperación completa de la fuerza en 28 días.

Igualmente, Kodama y col.[126] utilizando un modelo animal de inmovilización bilateral de las patas posteriores en plantiflexión durante 7 días, describieron los efectos

[126] KODAMA, Fabio; TRINDADE, Regina; JOB, Aldo; TAMURA, Guilherme; KOIKE Tatiana; SILVA, José. Muscle mechanical properties of adult and older rats submitted to exercise after immobilization. En: Acta Ortopédica Brasileira. Enero, 2012; vol.20, no. 4, p.218-222.

sobre la carga tensil del músculo gastrocnemio sometido a movimiento libre y ejercicio físico (natación durante 25 minutos). El periodo de inmovilización y removilización son equivalentes en duración. Los autores reportan que ninguna de las dos intervenciones fueron suficientes para restaurar los niveles basales de carga tensil del gastrocnemio.

Con base en los resultados presentados se puede observar que algunos aspectos relacionados con la funcionalidad puede regresar a sus condiciones basales (antes de la inmovilización) con un tiempo de removilización mayor al tiempo de inmovilización. Así mismo, es posible inferir que para lograr mejores resultados en cuanto a la capacidad del músculo para producir fuerza, se requiere de inducir un estímulo mecánico que genere en el músculo mayor carga la producida durante las actividades cotidianas (ejercicio altamente demandante, excéntrico) que involucre directamente el segmento afectado.

2.3.2. Efectos histológicos de la removilización

En seres humanos sanos, Christensen y col.[127] encontraron que con un periodo de inmovilización de 2 semanas, se observó una disminución del 6% del AST de los músculos del tríceps sural (de 5413 antes de la inmovilización a 5077 mm^2 posterior a la inmovilización). Después de 2 semanas de haber retirado el yeso sin realizar ningún tipo de intervención y permitiendo a los participantes solo la ejecución de sus actividades diarias, el AST del músculo retornó aproximadamente a sus niveles iniciales (5367 ± 235 mm^2). Para trasladar esta conclusión a otros aspectos clínicos, se debe considerar el pequeño decremento en el AST, insignificante clínicamente.

[127] CHRISTENSEN, Britt; DYRBERG, Eva; AAGAARD, Per; KJAER, Michael; LANGBERG, Henning. Short-term immobilization and recovery affect skeletal muscle but not collagen tissue turnover in humans. En: Journal of Applied Physiology. Octubre, 2008, vol.105, p.1845–1851.

Posteriormente, los mismos autores realizaron un estudio con 12 participantes con fractura unilateral del tobillo a quienes se les inmovilizó con yeso por un periodo entre 6 a 10 semanas con toma de peso parcial durante la marcha, encontrando una disminución significativa de aproximadamente 15% del AST de los músculos de la pierna (5316 ± 306 a 4517 ± 307 mm^2). Después de un periodo de tiempo similar de removilización sin intervención, el AST incrementó solo un 9% comparado con los valores basales[128]. Así, se puede establecer que el restablecimiento del tamaño de la fibra muscular, requieren de un periodo de tiempo más extenso que el periodo de disminución de la actividad muscular, acompañado de una intervención terapéutica que facilite la rápida integración del paciente en sus actividades diarias.

Similares hallazgos son presentados por Kannus y col.[12] quienes utilizando un modelo animal (ratas) encontraron que después de 3 semanas de inmovilización en posición de acortamiento, se indujo una disminución del AST de las fibras tipo I y tipo II de aproximadamente 31%, comparado con la pata no inmovilizada (contralateral). Se permitió un periodo de removilización de 8 semanas de duración comprendido por movimiento libre en la jaula y ejercicio (carrera en tapiz rodante) de baja o alta intensidad, Al final de estas intervenciones, el grupo de movimiento libre presentó la misma reducción en el AST (≈31%) una vez finalizada la inmovilización; de forma contraria, el grupo de ejercicio de alta intensidad indujo una recuperación total (no diferencia con el miembro no inmovilizado) en el AST de los músculos sóleo y gastrocnemio.

Un estudio similar realizado por Sakakima[129] con los tres mismos tipos de actividad, fue ejecutado para observar los efectos de 6 semanas de removilización después de la inmovilización con yeso por 2 semanas en la pata posterior derecha ubicada en plantiflexión. Los resultados demostraron que el AST de las fibras tipo I y II

[128] CHRISTENSEN, Britt, et al. Effects of long-term immobilization and recovery on human triceps surae and collagen turnover in the Achilles tendon in patients with healing ankle fracture. En: Journal of Applied Physiology. Abril, 2008, vol.105, p. 420–426.
[129] SAKAKIMA, Harutoshi. Effects of immobilization and subsequent low and high frecuency treadmill running on rat soleus muscle and ankle joint movement. En: Journal of Physical Therapy Science. Enero, 2004. vol.16, no.1, p.43-48.

incrementaron con el movimiento libre, el ejercicio a baja intensidad y el ejercicio a alta intensidad en el tapiz rodante. Sin embargo, éste último generó un mayor incrementó en el tamaño de la fibra muscular (1539 ± 305.9 μm^2 en las fibras tipo I del sóleo inmovilizado vs. 2583.6 ± 211.5 μm^2 en el grupo con ejercicio a alta intensidad).

Utilizando el modelo de inmovilización propuesto por Coutinho y col.[130], Gomes y col.[106] demostraron que el estiramiento pasivo del músculo sóleo aplicado una vez a la semana por 40 minutos en un periodo de 3 semanas después del periodo de reducción de la actividad muscular, disminuye el efecto de la inmovilización sobre el tamaño muscular (43.4% de disminución del AST sin intervención y 32.8% con el estiramiento). Usando el mismo modelo, Coutinho y col.[131] encontraron una disminución del 37% en el AST con 3 semanas de inmovilización de la pata izquierda a diferencia de una reducción del 22% del tamaño de la fibra muscular cuando el estiramiento pasivo fue aplicado al sóleo cada 3 días por 3 semanas durante 40 minutos. De esta manera se puede establecer que aunque el estiramiento no previene la reducción del AST de las fibras musculares si promueve una protección significativa del grado de alteración del tamaño muscular.

Así, se ha podido observar que para que se presenten cambios histológicos en el músculo esquelético al igual que con la funcionalidad, se requiere de un estímulo mecánico por encima de las demandas de las actividades diarias para que el músculo regrese a sus valores iniciales en el menor tiempo posible, lo cual puede

[130] COUTINHO, Eliane; GOMES, Anna; FRANÇA, Carolina; SALVINI, Tania. A new model for the immobilization of the rat hind limb. En: Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Agosto, 2002. vol.35, p.1329-1332.
[131] COUTINHO, Eliane; GOMES, Anna; FRANÇA, Carolina; OISHI John; Salvini Tania. Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. En: Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Septiembre, 2004. vol.37,p.1853-1861.

dificultar su extrapolación a la práctica clínica en donde el ejercicio bajo estos parámetros no ha sido recomendado en etapas tempranas posterior a la lesión.

2.4. ULTRASONIDO TERAPÉUTICO

El ultrasonido terapéutico (UST) es una modalidad que transmite un tipo de energía acústica hacia el tejido y ha sido ampliamente usada en el ámbito clínico desde hace más de 60 años en el tratamiento de lesiones músculoesqueléticas[24,25,132,133,134,135].

A diferencia de la energía electromagnética que viaja más efectivamente a través del vacío, la energía acústica depende de la colisión molecular para su transmisión. Las moléculas en un medio conductor vibran y causan el desplazamiento de otras moléculas circundantes de forma que la onda vibratoria es propagada a través del medio conductor completo. Así, el ultrasonido es una onda mecánica en la cual la energía es transmitida por la vibración de las moléculas del medio biológico a través del cual la onda viaja[132].

Los parámetros de emisión de la onda ultrasónica son la frecuencia, velocidad, absorción y longitud de onda.

El número de oscilaciones que experimenta una molécula en un segundo define la frecuencia de una onda sonora y es expresada en Hertz (Hz). De esta forma, Hz corresponde a 1 ciclo/segundo; 1 KHz a 1000 ciclos/segundo y 1 MHz a 1 millón de ciclos/segundo[122]. La frecuencia del sonido audible oscila entre 16 y 20 KHz. El

[132] DRAPER, David and PRENTICE, William. Therapeutic Ultrasound. En: PRENTICE, William. Therapeutic modalities in rehabilitation. Fourth Edition. Bogotá: McGrawHill, 2011. p.360-406.
[133] MILLER, Michale; LONGORIA, Janae; CHEATHAM, Christopher; BAKER, Robert; MICHAEL, Timothy. Intramuscular temperature differences between the mid-point and peripheral effective radiating area with ultrasound. En: Journal of Sports Science and Medicine. Junio, 2008. vol.7, no.2, p.:286-291.
[134] McDIARMID, Terry; ZISKIN, Marie; MICHLOVITZ, Susan. Therapeutic ultrasound. En: Thermal Agents in Rehabilitation. 3ª Ed. Philadelphia: F.A. Davis Company.1996.p.168-212.
[135] TER HAAR, Gail. Therapeutic applications of ultrasound. En: Progress in Biophysics and Molecular Biology. Enero - Abril, 2007. vol.93, p.111–129.

ultrasonido tiene una frecuencia por encima de 20 KHz[132,134,136]. El rango de frecuencia para el UST está entre 0.75 y 3 MHz. Cuanto mayor es la frecuencia de las ondas sonoras emitidas desde una fuente de sonido, menor será la divergencia del sonido y de esta manera, se produce un haz más concentrado de sonido. En tejidos biológicos, a menor frecuencia de la onda de sonido, mayor es la profundidad de penetración[132,137].

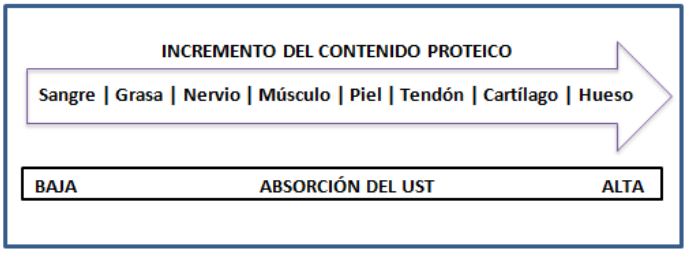
La velocidad de la onda sonora es la velocidad es a la cual el movimiento vibratorio u onda sonora es propagado a través del medio conductor y está directamente relacionada con la densidad. Los materiales más densos y rígidos tienen una alta velocidad de transmisión. De esta manera, en una frecuencia de 1 MHz, el sonido viaja a través del tejido blando a 1540 m/seg y a través del hueso compacto a 4000 m/seg[132,134].

A medida que aumenta la frecuencia, aumenta la absorción y atenuación del sonido y de esta manera, menos energía es transmitida a los tejidos profundos[132,134]. Los tejidos pueden ser especificados por su impedancia acústica definida como el producto de su densidad y la velocidad a la cual el UST viaja a través de ella[137]. Por lo tanto, la absorción de la energía ultrasónica varía de acuerdo con la capacidad del tejido para absorber la energía aplicada[36]. Así, los tejidos con alto contenido de proteínas y bajo contenido de agua como el ligamento y el tendón tienen un mayor grado de absorción que los tejidos con alto contenido de agua y baja cantidad de proteínas como la sangre y la grasa[24,36,132]. En la figura 6 se realiza la descripción de la absorción de la energía ultrasónica de los diferentes tejidos donde se puede observar que la grasa tiene una relativa baja tasa de absorción en comparación con

[136] KITCHEN, Sheila and PARTRIDGE, Cecily. A review of therapeutic ultrasound. En: Physiotherapy. Octubre, 1990, vol. 76 no 10, p:593-599.
[137] SPEED, Cathy. Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions. En: Rheumatology. Diciembre, 2011. vol.40, no.12, p.1331-1336.

el músculo, y el hueso absorbe mayor energía del ultrasonido que cualquiera de los otros tejidos[132].

Figura 6. Características de la absorción del ultrasonido en diferentes tejidos.



A medida que incrementa el contenido de proteínas del tejido, aumenta la absorción de las ondas del UST. Adaptado de: WATSON, Tim. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. En: Ultrasonics. Agosto, 2008, vol. 48 no. 4, p. 321-329.

Finalmente, la longitud de onda está relacionada con un periodo de tiempo finito que ocurre antes de que la vibración de una molécula cause la vibración de una molécula adyacente. Debido a este retraso, la primera molécula logrará su punto de excursión máxima antes que la otra molécula lo haga mientras que ellas continúan en vibración. De esta forma, las moléculas oscilan de forma asincrónica y el tiempo de retraso es llamado fase de cambio, observándose que la concentración de moléculas incrementa en regiones llamadas condensaciones y disminuye en regiones alternadas llamadas rarefacciones[134,138].

2.4.1. Generalidades del UST

Los componentes básicos del UST son el generador ultrasónico y la cabeza del transductor. El generador es de alta frecuencia eléctrica y está conectado a través de un circuito de oscilaciones y a un transformador por medio de un cable coaxial a un transductor ubicado en un tipo de aplicador aislado[132,136,137].

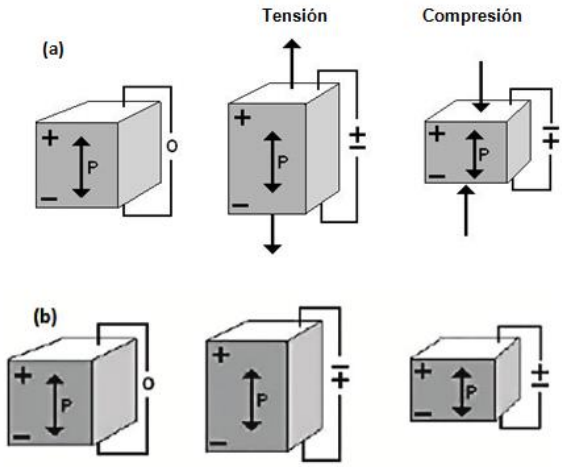
[138] REID, Dorian; CUMMINGS, George. Factors in selecting the dosage of ultrasound: With particular reference to the use of various coupling agents. En: Physiotherapy Canada. Enero, 1973, vol.25, p.5-9.

La cabeza del transductor corresponde al lector de sonido que transmite la onda acústica, creada por una corriente eléctrica que fluye a través de un cristal de cerámica sintética o de cuarzo ubicado en la cabeza del transductor. Este cristal piezoeléctrico es responsable de producir las cargas eléctricas positivas y negativas cuando se expande y se contrae el material[132,136].

2.4.2. El efecto piezoeléctrico

Cuando una corriente alterna generada en la misma frecuencia en la que la resonancia del cristal pasa a través del cristal piezoeléctrico, el cristal puede expandirse o contraerse creando un efecto piezoeléctrico[139]. Hay 2 formas de este efecto que se reflejan en la figura 7:

Figura 7. Efecto piezoeléctrico



(a) El efecto piezoeléctrico directo causa que el cristal genere un voltaje cuando el material se comprime o expande. (b) Para que el efecto piezoeléctrico inverso ocurra, el cristal se comprime o expande cuando el voltaje es aplicado. Adaptado de KHOLKIN, Andrey; PERTSEV, Nail; GOLTSEV,

[139] KHOLKIN, Andrey; PERTSEV, Nail; GOLTSEV, Arket. Piezoelectricity and crystal symmetry. En: Piezoelectric and acoustic materials for transducer applications. New York. Springer. 2008.p.17-38.

Arket. Piezoelectricity and crystal symmetry. En: Piezoelectric and acoustic materials for transducer applications. New York. Springer. 2008.p.17-38.

Un efecto piezoeléctrico directo es la generación de un voltaje eléctrico a través de un cristal cuando éste se comprime o expande y es utilizado para convertir el ultrasonido en una señal eléctrica que replica el patrón sonoro y puede ser procesada y analizada[134]. Un efecto piezoeléctrico indirecto o reveso es la compresión o expansión de un cristal en respuesta al voltaje aplicado a través del cristal[132,134]. Un cambio en la polaridad del voltaje aplicado hace que el cristal vibre en la frecuencia de la oscilación eléctrica[134].

2.4.3. Área efectiva de radiación (ERA)

La porción de la superficie del transductor que produce la onda sonora es referida como ERA (del inglés, *effective radiation área*)[132]. El ERA es dependiente del área de la superficie del cristal e idealmente es cercana al diámetro de la placa frontal del transductor[134].

Debido a que el ERA es siempre más pequeña que la superficie del transductor, el tamaño del transductor no indica la superficie de radiación total. Por lo tanto, el tamaño apropiado del área a ser tratada con el UST debe ser dos a tres veces el tamaño del ERA del cristal[132,134].

2.4.4. Frecuencia del ultrasonido terapéutico

El UST producido por un transductor piezoeléctrico tiene un rango de frecuencias entre 0.75 y 3 MHz que determina la profundidad en la penetración del tejido. La energía del ultrasonido a 1 MHz es trasmitida a través de los tejidos más profundos y se absorbe principalmente en los tejidos a una profundidad entre 2 a 5 cm. Esta frecuencia es más útil en pacientes con alto porcentaje de grasa corporal subcutánea o cuando los efectos deseados estén en estructuras profundas. A una

intensidad de 3 MHz, la energía se absorbe en los tejidos más superficiales con una profundidad de penetración entre 1 a 2 cm que puede ser ideal para tratar condiciones superficiales como fascitis plantar, tendinitis patelar y epicondilitis[132,134,137].

2.4.5. Tasa de no uniformidad del UST (BNR)

El haz del ultrasonido no es homogéneo a lo largo de su eje longitudinal lo cual depende de la distancia de la superficie del transductor. Cuanto mayor sea el diámetro de la cabeza del transductor, el haz será más enfocado o colimado. Cabezas de transductor pequeñas producen un haz más divergente. También, el haz del ultrasonido generado en una frecuencia de 1 MHz es más divergente que el ultrasonido generado a 3 MHz[132,134].

La cantidad de variabilidad de la intensidad dentro del haz del ultrasonido es indicada por el área de no uniformidad (del inglés Beam Nonuniformity Ratio, BNR). Es decir, un BNR de 2:1 significa que cuando la intensidad promedio de salida es de 1 watts/cm^2, el pico o punto máximo de intensidad del haz es de 2 watts/cm^2. La forma óptima del BNR debe ser de 1:1 y menor de 8:1 [132,134,137].

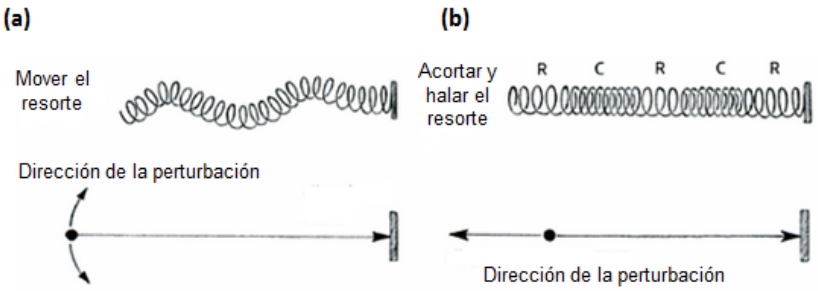
2.4.6. Tipo de ondas en el UST

Las ondas pueden ser clasificadas como ondas longitudinales u ondas transversas de acuerdo con la dirección del movimiento de las moléculas del medio en el que éstas viajan. La figura 8-a muestra que si la dirección del movimiento de las moléculas es perpendicular a la dirección de la propagación de la onda se denominan ondas transversales[134,140]. Si la dirección del movimiento de las moléculas es paralela a la dirección de la propagación de la onda (Figura 8-b) se denominan ondas longitudinales y éstas presentan regiones de alta densidad

[140] MORRISON, Karen. Waves, sound and light. En: Physical Science Level 3. South Africa: Pearson Education. 2008.p.138-166.

molecular referidas como compresiones (las moléculas son oprimidas juntas) y regiones de baja densidad molecular llamadas rarefacciones (las moléculas se expanden)[22,132,134,140]. Por otro lado, Aunque el UST viaja principalmente como una onda longitudinal, se genera una onda transversa cuando hace contacto con el hueso[132].

Figura 8. Tipos de ondas del UST



(a) Onda transversa, (b) Onda longitudinal. R: Rarefacción, C: Compresión. Adaptada de: Morrison K. Waves, sound and light. En: Pearson Education. 2008.p.138-166.

Este tipo de ondas puede originar tanto ondas continuas como ondas pulsadas. En el ultrasonido continuo, la intensidad del sonido permanece constante a través de todo el tiempo de tratamiento[132,134].

Con el ultrasonido pulsado, la onda es periódicamente interrumpida sin producirse energía del ultrasonido denominado periodo OFF, reduciendo el tiempo de la intensidad promedio de salida. El porcentaje del tiempo que el ultrasonido está siendo generado (duración del pulso) sobre un periodo del pulso es denominado ciclo de trabajo que corresponde a la fórmula[132,134,137]:

$$\text{Ciclo de trabajo: } \frac{\text{Duración del pulso (tiempo on) x 100}}{\text{Periodo del pulso (tiempo on + tiempo off)}}$$

El ultrasonido continuo es más comúnmente usado cuando los efectos térmicos son deseados. El uso del ultrasonido pulsado resulta en un reducido promedio de calentamiento del tejido. A una baja intensidad, ambos tipos de ultrasonido producirán efectos mecánicos o no térmicos que pueden ser asociados con la curación del tejido[134].

Otra terminología utilizada con respecto a las características del UST es descrita en la tabla 1.

Tabla 1. Terminología en el uso del ultrasonido terapéutico

TÉRMINO	**DEFINICIÓN**
Amplitud	Término usado para describir la magnitud de la vibración en una onda, usada para describir si el movimiento de las partículas en el medio a través de cual viaja la onda es en unidades de distancia (cm o mt) o la variación en la presión encontrada a lo largo del recorrido de la onda en unidades de presión (Nw-m)[132,134,137].
Potencia	Es la cantidad total de energía en el haz de ultrasonido y es expresada en watts[132,137].
Intensidad	Tasa a la cual la energía está siendo liberada por unidad de área y es expresada en unidades de watts por centímetro cuadrado (watts/cm^2) [132,134]. Hay una gran variación en el uso del UST que incluyen un rango de intensidades entre 0.1 a 3 watts/cm^2 [36].

Intensidad promedio espacial	Es la intensidad promedio del haz de ultrasonido sobre el área del transductor, que puede ser calculad al dividir de la potencia en watts por el área efectiva de radiación de la cabeza del transductor en cm^2 para ser indicada en watts/cm^2 [132,134,137].
Intensidad pico espacial	Es el valor más alto del ultrasonido sobre el área del transductor. Las máximas intensidades con el UST están en un rango entre 0.25 y 3 watts/cm^2 [132,134,137].
Intensidad promedio temporal (SATA)	Es la intensidad promedio durante el periodo on y off con el ultrasonido pulsado. Se calcula por promediar la intensidad de ambos periodos de pulso, determinada como la intensidad que le llega al sujeto[132,134,137].
Intensidad pico temporal (SATP)	Es la intensidad máxima durante el periodo on con el ultrasonido pulsado. La SATP es simplemente el promedio espacial durante un solo pulso[132,134,137]

2.4.7. Medio de acople

El UST será reflejado en una interface de aire y metal que se encuentra en la cabeza del transductor y es necesario proporcionar un medio a través del cual la onda acústica pueda pasar libremente para llegar al tejido del paciente. Este medio es comúnmente referido como medio de acople que debe tener una impedancia acústica similar a la del transductor, absorber poco el UST, permanecer libre de burbujas de aire y permitir el fácil movimiento del transductor sobre la superficie de aplicación[36,137].

El gel es uno de los medios más comúnmente empleados debido a que solo varía en sus características de absorción aproximadamente 3% comparada con el agua[36]. El objetivo de medio de acople es prevenir la reflexión de las ondas fuera de la región entre el tejido y el transductor excluyendo el aire para que el UST puede llegar al área a ser tratada[137].

2.4.8. Dosis de UST

Para que la energía se distribuya uniformemente sobre el área de aplicación, en el ámbito clínico es usada una combinación de parámetros que incluyen la frecuencia, densidad de potencia, ciclo de trabajo y tiempo de tratamiento los parámetros que establecen la dosis aplicada son la potencia, el tiempo de sesión, la superficie de la zona tratada y la cantidad de energía que se espera sea recibida por los tejidos[36,137].

La dosis parece ser dosis-dependiente en relación a los efectos terapéuticos. No hay un rango exhaustivo en la literatura clínica que hable de la dosis pero si se hace necesario establecer un modelo de toma de decisiones para escoger la dosis efectiva y sensible[36].

La fórmula se basa en la Ley de Joule que determina que el trabajo medido en Julios es igual a la potencia en watts por el tiempo en segundos. Sin embargo, lo que se ha decidido en la clínica es aplicar la energía en modo continuo o pulsado. El modo continuo resulta en más rápida liberación de la energía deseada pero hay una más fuerte evidencia que soporta la afirmación que el UST pulsado es más efectivo especialmente en relación a la reparación temprana del tejido en las etapas inflamatoria y proliferativa[36].

La energía total o dosis es calculada como[141]:

[141] ROBERTSON, Valma. Dosage and treatment response in randomized clinical trials of therapeutic ultrasound. En: Physical Therapy in Sport. Agosto, 2002, vol. 3 no. 3, p. 124-133.

*Energía total (joules)= SATA (watts/cm^2) * área de contacto del aplicador (cm^2) * tiempo (seg).*

Los estudios realizados por Ebenbichler y col. y Lundeberg et al y col., citados por Robertson y Baker[142] utilizan una densidad de energía entre 60 y 120 J/cm^2 para el tratamiento del síndrome del túnel del carpo y la epicondilalgia con una frecuencia de 1 MHz. Los autores concluyen que existen diferencias en la dosis de UST entre áreas de tratamiento comparables y que también algunas comparaciones son dudosas debido a la estimación en los cálculos realizados con estudios que no especifican completamente los parámetros utilizados.

2.4.9. Efectos biofísicos del UST

Los efectos biofísicos del UST resultan de la interacción del UST con las células, los tejidos y los órganos y pueden ser clasificados como efectos térmicos y no térmicos[134].

Sin embargo, no es correcto asumir que solo uno de estos efectos está presente en un tratamiento fisioterapéutico asumiendo erróneamente que se da un efecto térmico si el UST está en modo continuo o en efecto no térmico si se aplica en modo pulsado. Por lo tanto, no pueden ser excluyentes el uno del otro[143].

Efectos térmicos del UST

El UST logra incrementar la temperatura del tejido debido a que posee la capacidad de proporcionar calor profundo, a través de la absorción de la energía ultrasónica y su conversión a calor[132,144]. Esta absorción depende de la naturaleza del tejido, su

[142] ROBERTSON, Valma; BAKER, Kerry. A Review of therapeutic ultrasound: Effectiveness studies. En: Physical Therapy. Julio, 2001. vol.81, no.7, p.1339-1350.
[143] BAKER, Kerry; ROBERTSON, Valma y DUCK, Francis. A Review of Therapeutic Ultrasound: Biophysical Effects. En: Physical Therapy. Julio, 2001, vol. 81 No. 7, p. 1351-1358.

[144] McBRIER Nicole; LEKAN, Jaimy; DRUHAN, Lawrence; DEVOR, Steven; Merrick, Mark. Therapeutic Ultrasound Decreases Mechano-Growth Factor Messenger Ribonucleic Acid Expression

grado de vascularización y la frecuencia de UST aplicada[36]. Para una profundidad intramuscular de 3 cm, el UST de 1 MHz puede incrementar la temperatura aproximadamente 4ºC en un periodo de tiempo de 10 minutos[132].

El grado de calentamiento del tejido depende de la intensidad de las ondas ultrasónicas. El mecanismo de homeóstasis tratará de contrarrestar la elevación de la temperatura causada por la modalidad pero su acción depende del balance entre la ganancia y pérdida de calor. No obstante, este proceso no revierte rápidamente el efecto de la elevación en la temperatura y surge una resultante en el tejido seguida del calentamiento que dependerá del grado de conducción a los tejidos circundantes y su disipación por el flujo sanguíneo[143].

La respuesta fisiológica relacionada con los efectos térmicos incluye el incremento en la extensibilidad de las fibras de colágeno en tendones y cápsula articular, alteraciones en el flujo sanguíneo, incremento en el umbral del dolor, reducción del espasmo muscular, disminución en la rigidez articular, cambios en la velocidad de conducción nerviosa, incremento de la actividad enzimática, cambios en la actividad contráctil del músculo esquelético y moderación de la respuesta inflamatoria[28,132,134,137,143].

La cantidad de producción de calor depende de varios factores: La intensidad y la frecuencia del UST, la duración de la exposición y el tamaño y tipo de tejido. Tejidos con alto contenido de colágeno como el hueso y la capsula articular absorben grandes cantidades de energía ultrasónica. Al penetrar la piel y la grasa subcutánea, las ondas ultrasónicas son leve o moderadamente atenuadas[134].

Para lograr los efectos térmicos con la aplicación del UST se ha sugerido que a intensidades que varían entre 1.0 a 2.0 watts/cm^2 en modo continuo con una

After Muscle Contusion Injury. En: Archives of physical medicine and rehabilitation. Julio, 2007. vol.88, no. 7, p.936-940.

duración de 5 a 10 minutos, se obtiene un incremento en la temperatura en un rango de 40 a 45ºC[24,132,134]. Mediciones realizadas con transmisores insertados a diferentes profundidades en tejido *in vivo* con UST a frecuencias de 1 y 3 MHz durante 10 minutos, demostró que con la frecuencia de 3 MHz hay una tasa de incremento de la temperatura del tejido más rápida que con 1 MHz, sin embargo, con ambas frecuencias se observa una dosis-respuesta dependiente al incrementar la temperatura[24].

En relación al umbral del dolor, se ha encontrado que incrementa seguido de un aumento en la temperatura del tejido utilizando una intensidad de 1,5 watts/cm^2 [133]. Por otro lado, en un estudio realizado en humanos, se observó que con una dosis de UST de 1.5 watts/cm^2 con 1 MHz por 8 minutos, hay un ligero incremento de la extensibilidad de los ligamentos colaterales medial y lateral de la rodilla[142].

Efectos no térmicos del UST

El término “no térmico” está relacionado con el efecto de que aparentemente no hay incremento de temperatura en el tejido[36]. Sin embargo, los efectos no térmicos están siempre acompañados de un grado de calentamiento del tejido debido a que la interacción entre el ultrasonido y el tejido es simultáneamente térmica y mecánica[143].

Los efectos no térmicos del UST incluyen los mecanismos de cavitación y transmisión mecánica y/o acústica[9,24,35,137].

La cavitación acústica es la conducta de las burbujas dentro de un campo acústico[143]. Así, puede ser definida como la formación de burbujas de gas en el microambiente dentro del tejido como resultado del efecto vibratorio del UST[24,134,143].

La cavitación puede ser clasificada como estable o inestable. En la cavitación estable, las ondas se expanden y se contraen como respuesta a los cambios en la

presión a través de los diferentes ciclos acústicos y las burbujas en el campo del UST no incrementan mucho su amplitud[24,132,134]. En la cavitación inestable o transitoria, ocurre una implosión de las burbujas que ocasiona aumento de temperatura, aumento de presión y ruptura del tejido que ocurre después de solo algunos ciclos acústicos. Así, los beneficios terapéuticos son derivados solamente de la cavitación estable debido a que los rápidos cambios en la presión dentro y alrededor de la célula como el incremento de la presión y temperatura pueden causar daño del tejido local[24,132].

El segundo mecanismo es la transmisión acústica que es definida como la fuerza física de la onda sonora que proporciona una conducción de fuerza capaz de desplazar iones y pequeñas moléculas[24].

La importancia terapéutica de los efectos no térmicos ha sido planteada por sus efectos tales como el incremento en la permeabilidad de la membrana celular y de la pared vascular, encontrado dentro del rango de intensidades terapéuticas. Así mismo, con el uso del UST se ha observado que incrementa la actividad fibroblástica lo que produce un incremento en la síntesis de proteínas, alteraciones en la proliferación celular, regeneración del tejido, incremento en el flujo sanguíneo en tejidos isquémicos y reparación ósea que puede ser resultado de la acción mecánica del UST sobre la membrana celular, sugiriendo también que los efectos no térmicos del UST pueden modificar la respuesta inflamatoria[132,134,137].

2.4.10. Hipótesis de la resonancia

La energía mecánica dentro de la onda del UST y la fuerza de cizallamiento de la onda se combinan para producir propiedades mecánicas que alteran la membrana celular y las estructuras moleculares dentro de la célula. Además, la onda sonora puede inducir una actividad resonante en la proteína, modulando la función efectora de la molécula o complejo multimolecular[24]. La hipótesis de la resonancia de la frecuencia describe dos posibles mecanismos biológicos que pueden alteran la

función y conformación estructural de las proteínas como resultado de la absorción de la energía del UST. El primer mecanismo establece que la absorción de la energía mecánica por una proteína puede producir un cambio conformacional transitorio y alterar la actividad funcional de la proteína. El segundo mecanismo dice que la resonancia o las propiedades de cizallamiento de la onda o ambas pueden disociar un complejo multimolecular, y de este modo interrumpir la función de la proteína[24,132].

La hipótesis de la resonancia de la frecuencia difiere de la cavitación y la transmisión acústica debido a que ésta se relaciona con la absorción del UST por la proteína o complejo proteico que pueden alterar los mecanismos de señalización dentro de la célula por inducir cambios conformacionales o alteraciones del complejo multimolecular Así, esto podría explicar las alteraciones en las propiedades de la membrana celular, el incremento en la producción de proteínas y la modulación de la actividad enzimática[24].

Sin embargo, la hipótesis de la resonancia de la frecuencia puede sugerir que en las diferentes frecuencias se requieren diferentes tiempos de tratamiento y dosis de UST para lograr la eficacia terapéutica, aspecto que dentro de la literatura revisada se encuentra en controversia debido a la amplia gama de parámetros utilizados.

2.4.11. Frecuencia del tratamiento con UST

Las condiciones en estados agudos requieren generalmente que el tratamiento sea más frecuente sobre un corto periodo de tiempo mientras que las condiciones crónicas requieren menor número de sesiones de tratamiento y se realizan en periodos de tiempo más prolongados. El tratamiento con UST debe iniciar tan pronto como sea posible posterior a una lesión; la recomendación establece que idealmente debe aplicarse dentro de las 48 horas iniciales para maximizar sus efectos. En condiciones crónicas, cuando los síntomas agudos permanecen, el tratamiento puede ser aplicado de forma interdiaria. Sin embargo, no es

recomendable aplicar más de 14 sesiones de tratamiento con UST debido a que puede reducir el conteo de células blancas y rojas[132].

2.4.12. Duración del tratamiento con UST

La recomendación típica del tiempo de tratamiento ha estado entre 5 a 10 minutos; sin embargo, esto debe depender de factores como el tamaño del área a tratar, la intensidad en watts/cm^2, la frecuencia y el incremento deseado de temperatura. Una recomendación aceptada es que el UST debe ser administrado en un área 2 veces el ERA. Si los efectos térmicos son deseados en un área mayor, el tiempo de tratamiento necesita ser incrementado[132,134].

En relación a la intensidad, entre más alta sea, el tiempo de tratamiento debe ser más corto y viceversa. Por otro lado, la frecuencia del UST no solo determina la profundidad de penetración sino también la tasa de calentamiento. La energía producida con un ultrasonido de 3 MHz es absorbido 3 veces más rápido que el producido por 1 MHz, por lo cual es calentamiento es más rápido. El UST a 3 MHz consistentemente calienta el tejido 3 veces más rápido que el de 1 MHz, de esta manera reduce la duración de tratamiento requerida en un tercio[132,134].

2.5. EVIDENCIA CIENTÍFICA DE LOS EFECTOS DEL ULTRASONIDO SOBRE LA PLASTICIDAD DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

Los estudios que involucran el uso del UST en el músculo esquelético han utilizado modelos de lesión y de diminución de la actividad muscular. Sin embargo, hay poca evidencia experimental y clínica que examinen el efecto del UST bajo estas circunstancias tanto en modelos animales como humanos.

a) Modelos *in vivo* en animales

En condiciones experimentales de lesión muscular en ratas, se han utilizado modelos de contusión[27,31,144,145], uso de estimulación eléctrica para inducir contracciones excéntricas[32], trauma directo sobre el músculo[27] y por laceración[25], entre otros. Esta información es detallada en el anexo 3.

A nivel funcional

Los estudios en modelos animales han encontrado una reducción en la fuerza tetánica ante la aplicación del UST. Karnes y col.[34] observaron el efecto del UST en modo continuo sobre la reparación del músculo esquelético lesionado a través de contracciones excéntricas repetidas. Los autores reportan que existen diferencias significativas entre el grupo lesionado no tratado y el grupo tratado con UST con una dosis diaria de 150 joules así como también demuestran que la aplicación del UST por 7 días consecutivos alcanza valores similares a los del grupo sin lesión. Sin embargo, los datos suministrados son dados a través de una figura y no hay valores específicos de la fuerza tetánica producida por el músculo evaluado.

A nivel histológico

La evidencia encontrada de la aplicación de UST en modelos de atrofia muscular es reducida y de reciente investigación y solo ejecutada en modelos animales. Cunha y col.[35] utilizaron el modelo de inmovilización propuesto por Coutinho y col.[130], para evaluar la masa muscular de las ratas sometidas a un protocolo de estiramiento posterior a la aplicación de UST con la inclusión de diferentes dosis diarias de 90, 45 y 18 joules para cada grupo con UST. Evaluando el peso húmedo del músculo y el diámetro de la fibra del sóleo, se observa un efecto protector del UST con una dosis diaria de 45 joules junto con estiramiento. Sin embargo, los

[145] BORGES, Fabrizio: SHIMANO, Antônio; FERRAZ, Celso. Ultra-som terapêutico e imobilização na Reparação do trauma muscular. En: Acta Ortopédica Brasileira. Enero, 2009. vol.17, no.3, p.167-170.

autores no registran valores específicos de los resultados obtenidos. De igual forma, no se estableció la inclusión de un grupo control sin el uso del modelo de inmovilización para hacer las comparaciones contra el músculo en condiciones normales debido a que la comparación con la pata contralateral puede no ser objetiva al observar que el modelo aplicado puede inducir hipomovilidad en la rata y encontrarse también ligeros cambios en el AST y el peso del músculo así no fueran inmovilizados.

Por otro lado, Sakamoto y col.[36] investigaron si el UST inhibe la progresión de la atrofia muscular inducida por disminución de uso en el gastrocnemio de las ratas. Con una dosis diaria de 630 joules y una frecuencia de 5 días por semana durante 2 semanas de inmovilización con yeso sobre ambas patas posteriores en plantiflexión completa, observaron que el promedio del diámetro de las fibras tipo I del gastrocnemio con tratamiento con UST en comparación con el grupo placebo es de 32.4 ± 5.5 μm vs 28.5 ± 5.4 μm. Los autores también analizan el contenido de HSP70, bFGF e IGF-1 y encuentran que en comparación con el grupo placebo se observa un porcentaje de HSP70 de 160.8 ± 57.3 vs 81.2 ± 34.4%; los niveles de bFGF son aproximadamente 3 veces mayor al valor del grupo control (156.4 ± 32.4 vs 53.5 ± 17.3 picogramos/miligramo y los niveles de IGF-1 son menores al grupo control pero mayores que el placebo (802.2 ± 255.1 con UST vs 848.3 ± 138.6 picogramos/miligramo del control)[36]. Estos resultados confirman que la aplicación del UST disminuye la progresión de la atrofia muscular. La inducción de HSP70 en el músculo puede resultar en el incremento en la síntesis de proteínas y disminución de la degradación, que puede explicar el efecto logrado. Sin embargo, es necesaria la evaluación de la funcionalidad de los animales evaluados que podría ser un precedente para la extrapolación de los resultados hacia el campo clínico, revisando anteriormente, los protocolos utilizados.

De igual forma, para ambos estudios que aplicaron UST en atrofia muscular, el tratamiento fue establecido durante el proceso de inmovilización. En el ámbito

clínico, la intervención con modalidades físicas es realizada después de haber retirado el dispositivo que inmoviliza el segmento, lo cual no es consistente para la extrapolación de los parámetros y protocolo utilizado para ser realizado en seres humanos.

A nivel molecular

Con un modelo de contusión, Rantanen y col.[31] reportan que con la aplicación de UST en modo pulsado, se incrementó la proliferación de las CS al día 3 iniciando su aplicación 6 horas después de la lesión en comparación con el músculo lesionado sin tratamiento (37,4 ± 6,9 vs 19,1 ± 3,9 núcleos/mm^2). No obstante, estos resultados no se mantuvieron durante el tiempo de tratamiento debido a que después de 9 días de la lesión, disminuyó la capacidad de proliferación de las CS. La dosis aplicada por los autores fue de 540 joules y no es consistente con respecto a otros estudios revisados posteriormente.

A través de un modelo similar por contusión bilateral del gastrocnemio, McBrier y col.[144] examinaron la influencia del UST en la expresión del ARNm del MGF. Con una dosis de 90 joules, el tratamiento con UST disminuyó la expresión del ARNm en las patas lesionadas en comparación con las no tratadas. Si el MGF es responsable de la activación inicial de las CS y de la supra-regulación del IGF-1, se esperaría que incrementara a través de la aplicación de las ondas sonoras. Sin embargo, los mismos autores justifican sus resultados explicando la posibilidad de activación de otras proteínas que disminuyeran la actividad del MGF o que el estímulo mecánico producido a través de la dosis aplicada no fue la indicada o el efecto fue sobre la traslación o acción proteica. De igual forma, el modelo de lesión utilizado y el tamaño de la porción de músculo evaluado, pudieron no ser congruentes para encontrar los resultados esperados.

Por otro lado, se ha demostrado que el tratamiento con UST incrementa el contenido de proteína contráctil en el músculo esquelético. Bajo un modelo de lesión por

trauma directo sobre el músculo gastrocnemio, se encontró que la aplicación de UST en modo pulsado por 7 días con una dosis diaria estimada de 300 joules, aumentó el contenido de proteínas con respecto al grupo control lesionado (341 ± 6 vs 291 ± 5 mg). Los resultados encontrados son similares a los valores registrados en el grupo control sin lesión (360 ± 32 mg), lo que podría indicar que el UST estimula un incremento en la tasa de síntesis de proteínas y/o una reducción en la proteólisis[29]. Estos resultados podrían apoyarse en la evaluación de otras variables como la medición de fuerza o torque y funcionalidad que no fueron tenidas en cuenta para efectos de ese estudio.

Así mismo, con un modelo de lesión por laceración se demostró que el tratamiento en etapas tempranas con UST en modo pulsado, existe un beneficio directo sobre el área en la que se encuentran las células en regeneración (mioblastos y miotubos), después de 14 días de la lesión comparadas con el grupo control (41.66 ± 2.97% vs 34.83 ± 3.08%). El posible mecanismo de acción para obtener estos efectos es a través de un estímulo mecánico generado por el UST que puede activar las vías de señalización involucradas con la reparación del tejido[33]. No obstante, aunque el estudio compara el efecto del UST a los 4 días después de la lesión, no muestra resultados para esta condición. De igual forma, la aplicación de la modalidad inicia después de dos días de la lesión y el tratamiento no se hace de forma consecutiva. Estos aspectos podrían cambiar los resultados esperados con el UST.

b) Modelos *in vivo* en seres humanos

Para observar el efecto del UST en seres humanos, se han utilizado modelos en individuos sanos[146] y en daño muscular[147],[148]. La información detallada se encuentra en el anexo 3.

A nivel funcional

En 1984, Black y col.[146] observaron si el UST alteraba el ángulo al cual se lograba el pico de torque en dorsiflexión de forma inmediata, 30 y 60 minutos después de la aplicación del UST en el compartimento del tibial anterior. Cada participante realizó 4 series de dorsiflexión en el dinamómetro isocinético que consistían en una antes de la aplicación del UST, una inmediatamente después, 30 minutos y 60 minutos después del tratamiento. Los resultados del estudio demostraron que el tratamiento con UST antes de la ejecución del ejercicio a diferentes velocidad angulares no altera el pico de torque máximo. Sin embargo, estos resultados no son consistentes debido posiblemente a que se realizó una sola aplicación de UST.

Por otro lado, Craig y col.[149] investigaron el efecto de dos dosis de UST en modo pulsado sobre el dolor causado posterior al ejercicio a través de la ejecución de 3 sesiones de ejercicio realizando contracciones excéntricas del codo hasta llevar al participante a la fatiga, durante 3 días consecutivos. Los resultados del estudio no mostraron diferencias significativas entre los grupos que pueden estar relacionadas con la ausencia de un cálculo del tamaño de muestra desde el punto de vista

[146] BLACK, Kennard; HALVERSON, Judith; MAJERUS, Kimberly: SODERBERG, Gary. Alterations in Ankle Dorsiflexion Torque as a Result of Continuous Ultrasound to the Anterior Tibial Compartment. En: Physical Therapy. Enero,1984. vol.64, p,910- 913.

[147] DELGADO-DÍAZ, Diana, et al. Therapeutic ultrasound affects IGF-1 splice variant expression in human skeletal muscle. En:The American Journal of Sports Medicine. Octubre, 2011. vol.10, p.2233-2241.

[148] SENGUPTA, Pallav. A Scientific Review of Age Determination for a Laboratory Rat: How Old is it in Comparison with Human Age?. En: Biomedicine International Journal. Enero, 2011. vol. 2, no.2, p.81-89.

[149] CRAIG, Jason; BRADLEY, Judith; WALSH, Deirdre; BAXTER, David; ALLEN, James. Delayed onset muscle soreness: lack of effect of therapeutic ultrasound in humans. En: Archives of Physical Medicine and Rehabilitation. Marzo, 1999. vol.80, no.3, p.318-323.

estadístico o con el establecimiento de las dosis aplicadas con reducida frecuencia de tratamiento.

A nivel molecular

Con un modelo de daño muscular, Delgado-Díaz y col.[147] examinaron el efecto del UST aplicado 6 horas después de una lesión causada por 200 contracciones excéntricas en el cuádriceps bilateral sobre la expresión del ARNm del IGF-1). El daño muscular fue confirmado a través de los niveles de creatin-cinasa (CK), 48 horas después del ejercicio y a través de la disminución de la fuerza muscular medida con una contracción voluntaria máxima. Con la aplicación de UST se indujo un incremento significativo en la expresión de ARNm del IGF-1 en el grupo control (muslo tratado vs no tratado) pero no en el grupo con lesión, lo que indica que el UST tiene efectos sobre el músculo no lesionado probablemente a partir del estímulo mecánico realizado por la modalidad y que una probabilidad de no haber encontrado efecto sobre el músculo lesionado es que se realizó una sola aplicación del UST que no fue suficiente para estimular la expresión del IGF-1, más allá del efecto mismo del proceso inflamatorio inducido por la lesión.

De esta manera, la revisión realizada permite observar que aunque los resultados son positivos al examinar los diferentes modelos experimentales con aplicación de UST, existe poca evidencia científica y una amplia variedad de parámetros de tratamiento utilizados con relación a la frecuencia, intensidad y modo, que dificultan establecer claramente la dosis utilizada en cada uno de ellos así como también otros factores que pueden influir en la respuesta encontrada dependiendo del tejido observado y el modelo de lesión utilizado[34].

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. TIPO DE ESTUDIO:

Se desarrolló un estudio experimental con asignación aleatoria a 5 grupos de comparación .

3.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO:

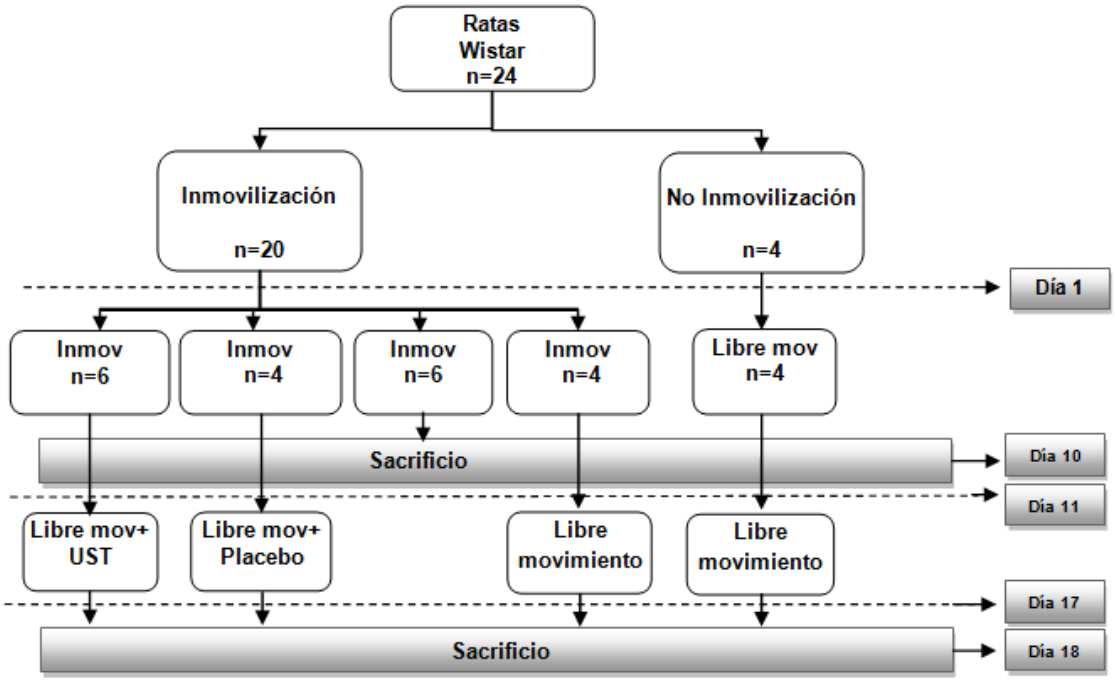
24 Ratas Wistar machos provenientes del Bioterio de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander ubicadas en cajas plásticas en el Laboratorio de Neurociencias de la misma institución. La pata inferior derecha fue seleccionada para la inmovilización y aplicación de ultrasonido terapéutico por 7 días consecutivos posterior a 10 días de inmovilización.

Se designaron inicialmente cinco grupos de comparación: *Inmov+libre mov+UST* (inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de UST por 7 días; *Inmov+libre mov+placebo* (inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de ultrasonido placebo por 7 días); *Inmov* (inmovilización por 10 días); *Inmov+libre mov* (inmovilización por 10 días + libre movimiento por 7 días, y *libre mov* (libre movimiento por 17 días)

Los grupos *Inmov+libre mov+UST, Inmov+libre mov+placebo* e *Inmov* fueron inmovilizados unilateralmente durante 10 días (día uno correspondió al momento de la inmovilización). Una vez finalizó el periodo de inmovilización, el modelo fue retirado y los grupos *Inmov+libre mov+UST* e *Inmov+libre mov+placebo* recibieron la intervención durante 7 días consecutivos con UST a la dosis definida o ultrasonido placebo, respectivamente. Los animales asignados al grupo *Inmov*, fueron sacrificados una vez finalizado el periodo de inmovilización y los animales pertenecientes al grupo *Inmov+libre mov* realizaron libre movimiento por la jaula posterior a retirarse el modelo de inmovilización. Los animales asignados al grupo G5 tenían libre movimiento por la jaula durante 17 días. Así, los tres últimos grupos

fueron considerados controles para *(a)* determinar el efecto de 10 días de inmovilización (*Inmov)*, *(b)* determinar el efecto de la removilización sin intervención, posterior a la inmovilización (*Inmov+libre mov*) y *(c)* determinar las condiciones normales del músculo esquelético en animales de esta edad *(libre mov)*. A continuación se presenta un diagrama (Figura 9) con la descripción temporal del experimento.

Figura 9. Descripción de fases del protocolo



El día 1 consiste en el inicio del experimento asignando a los animales a los cinco grupos. El sacrificio fue realizado el día 11 (24 horas después del retiro de la inmovilización para el grupo *Inmov* y en el día 18 (24 horas después de la última intervención para los demás grupos de comparación).

3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Machos sin malformaciones congénitas[148]:

Las ratas Wistar son ratas albinas que pertenecen a la especie Rattus norvegicus, creadas en el Instituto Wistar en 1906 para su uso en la investigación biológica y médica, siendo la primera cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo. Se utilizan machos debido a las variaciones hormonales de las ratas hembra que poseen un ciclo estral de 4 a 5 días con una duración de la ovulación de 12 horas que pueden influir dentro de la respuesta adaptativa del músculo esquelético al proceso de inmovilización y tratamiento con UST. Se descartaron malformaciones congénitas por medio de observación al nacimiento, procedimiento realizado por el técnico del Bioterio.

- Adultos jóvenes (10-12 semanas de edad)[148]:

La rata Wistar tiene una vida promedio de 2.5 a 3.5 años. A la edad de 10-12 semanas se ha establecido que las ratas Wistar se encuentran en la fase de adultez por lo cual sus modificaciones en el peso serán menores que en el periodo de crecimiento.

- Peso corporal entre 200 a 350 gramos[148]:

El promedio del peso de un macho adulto es de 200 a 500 gramos que corresponde al peso esperado para las ratas según la edad escogida.

3.4. TAMAÑO DE LA MUESTRA

El cálculo del tamaño de la muestra fue realizado mediante la aplicación del comando sampsi del software Stata 12.0[150], con las siguientes especificaciones de diseño: α= 0.05, (1-β)= 0.8, razón 1:1.

[150] StataCorp. 2011. Stata Statistical Software: Release 12. College Station, TX: StataCorp LP.

Los datos fueron obtenidos a partir del análisis de la revisión de literatura disponible de estudios experimentales con el modelo de inmovilización y aquellos que incluían la aplicación del UST en músculo esquelético en condiciones de reparación. Aunque la atrofia muscular inducida por inmovilización no es considerada como un modelo de lesión, sus características histológicas y fisiológicas son similares en las condiciones de disminución de uso del músculo.

El cálculo fue establecido con un porcentaje de pérdida de aproximadamente el 20%, determinándose así un total entre 24 a 30 ratas (4 a 6 ratas por grupo) para lograr detectar posibles diferencias significativas en las variables de salida. Los datos se presentan en la Tabla 2 y fueron la base para el cálculo del tamaño de muestra.

Tabla 2. Resultados de los estudios revisados para el cálculo del tamaño de la muestra

Estudio	Variable	Medición 1*	Medición 2*	N
Ramírez y col. 2011[151]	Área de sección transversa	1360 ± 198 μm^2 (inmovilización)	1849 ± 220 μm^2 (control)	**4**
Fisher y col. 2003[29]	Contenido de proteínas	264 ± 11 mg (UST en lesión)	291± 5 mg (control)	**3**
Karnes y col. 2002[34]	Fuerza tetánica	14 ± 1.8 N/cm^2 (UST en lesión)	18 ± 1.8 N/cm^2 (control)	**4**

***(Promedio ± DE)

3.5. VARIABLES DEL ESTUDIO:

La tabla 3 muestra las variables de salida y explicatorias en su escala y unidad de medición.

[151] RAMIREZ, Carolina, et al. Joint Inflammation Alters Gene and Protein Expression and Leads to Atrophy in the Tibialis Anterior Muscle in Rats. En; American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation. Noviembre, 2011. vol.90, no. 11, p.930-939.

Tabla 3. Descripción de variables de salida y explicatorias del estudio

Variables	Escala de Medición	Instrumento de medición	Unidad de Medición
De salida			
Pico máximo de tensión en una contracción	Razón	Transductor de fuerza	Gramos (g)
Desempeño motor	Razón	Rotarod	Segundos
Contenido proteico	Razón	Espectrofotometría	Miligramos (mg)
Área de sección transversa	Razón	Análisis por fotografía	Micrómetros cuadrados (μm^2)
Área de dominio nuclear	Razón	Análisis por fotografía	Micrómetros cuadrados (μm^2)
Variables Explicatorias			
Grupo de comparación	Nominal categórica	-	-
Variables de control			
Peso corporal	Razón	Gramera manual	Gramos (g)
Peso húmedo	Razón	Gramera digital	Miligramos (mg) o gramos(g)

3.5.1. Variables de salida:

a) Pico máximo de tensión en una contracción:

El pico máximo de tensión en una contracción es definido como la máxima fuerza isométrica aplicada bajo una resistencia determinada. Para esta medición se utilizó un modelo *in-situ*, la contracción muscular fue inducida mediante estimulación

eléctrica y la fuerza fue registrada mediante un transductor, su unidad de medición se presenta en gramos (g)[152].

b) Desempeño motor:

El desempeño motor es definido como la combinación de movimientos corporales necesarios para realizar una tarea motora con adecuada precisión y tiempo. Esta variable fue evaluada mediante el mantenimiento del animal en un cilindro en rotación, con aceleración fija. El tiempo de permanencia de cada animal sobre el cilindro fue denominado también como latencia a la falla y su unidad de medición fue en segundos (seg)[153].

c) Contenido proteico total

El contenido proteico total está definido como la concentración total de proteínas que compone el músculo esquelético, contráctil y no contráctil. Se midió a través espectrofotometría, cuya unidad de medida es en gramos (gr)[23].

d) Área de sección transversa

El área de sección transversa es el corte en dirección perpendicular al eje longitudinal del músculo. Se registró a través de las imágenes capturadas con una cámara Moticam 2300® 3.0 Mpixel USB 2.0 adaptada a un microscopio Olympus CH30® usando una magnificación de 40x. Su medición fue realizada en micrómetros cuadrados (μm^2)[36].

e) Área de dominio nuclear

[152] HURST, Jim, FITTS, Robert. Hindlimb unloading-induced muscle atrophy and loss of function: protective effect of isometric exercise. En: Journal of Applied Physiology. Octubre, 2003. vol.95, no.4, p.1405–1417.
[153] CARTER, Rebeca; MORTON, Jennifer; DUNNETT, Stephen. Motor coordination and balance in rodents. En: Current Protocols in Neuroscience. [En línea]. [Agosto 1 de 2001]. Disponible en: doi: 10.1002/0471142301.ns0812s15.

El área de dominio nuclear corresponde al área de la fibra muscular que es regulada por un mionúcleo particular; es decir, el volumen citoplasmático de la fibra por mionúcleo. Esta medición fue determinada a través de la fórmula, y expresada en micrómetros cuadrados (μm^2) [62]:

A = B/C

A: área de dominio nuclear

B: Área de sección transversa de la fibra muscular

C: Número de mionúcleos por fibra muscular

3.5.2. Variable explicatoria

Corresponde a la comparación entre los grupos G1 (inmovilización por 10 días más la aplicación de ultrasonido terapéutico por 7 días, después del periodo de inmovilización) y G2 (inmovilización por 10 días más la aplicación de ultrasonido placebo por 7 días, posterior al periodo de inmovilización).

3.5.3. Variables de control

a) Peso corporal

Corresponde a la magnitud del peso específico de un cuerpo y fue registrado en una gramera manual. El registro de su medición se da en gramos (g). El peso corporal de los animales con el modelo de inmovilización puede disminuir los primeros días debido a las condiciones de hipocinesia del animal por la restricción generada por la configuración del modelo[130].Fue registrado en el anexo 4

b) Peso muscular

El peso muscular es el registro del peso húmedo del músculo inmediatamente después de su disección, retirando el tejido graso o conectivo circundante. Fue

medido en una gramera digital en miligramos (mg) para el músculo sóleo y en gramos (g) para el músculo gastrocnemio.

3.6. PROCEDIMIENTOS PREVIOS

3.6.1. Datos preliminares

Previo al planteamiento de la propuesta de esta investigación, fueron realizadas las siguientes pruebas piloto con el fin de estandarizar las técnicas y protocolos de inmovilización y recolección de datos.

Antes de iniciar las pruebas piloto que involucraron el mantenimiento de animales, se realizó un entrenamiento específico en la manipulación de animales, realizado en el Bioterio de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander.

3.6.1.1. Estandarización del modelo de disminución de la actividad muscular inducido por inmovilización

Objetivos:

- Estandarizar el protocolo de inmovilización unilateral para el músculo tríceps sural de la pata posterior derecha en posición de acortamiento en un modelo animal.
- Estandarizar el protocolo de evaluación del desempeño motor en el modelo animal.

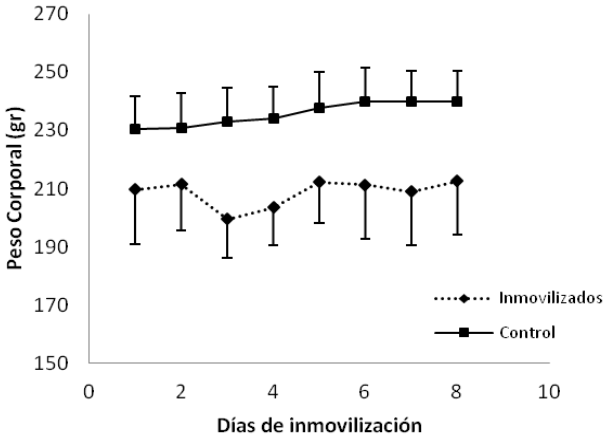
Protocolo:

Este experimento fue realizado en 8 ratas, asignadas aleatoriamente a los grupos de inmovilización o control. El modelo de inmovilización fue aplicado durante 10 días mediante el protocolo descrito en materiales y métodos del presente documento. A través de la observación durante los días de seguimiento, se establecieron los ajustes específicos al modelo y a los sistemas de alimentación de las unidades

experimentales. Así mismo, no se determinaron alteraciones en el comportamiento de las unidades sugestivas de estrés.

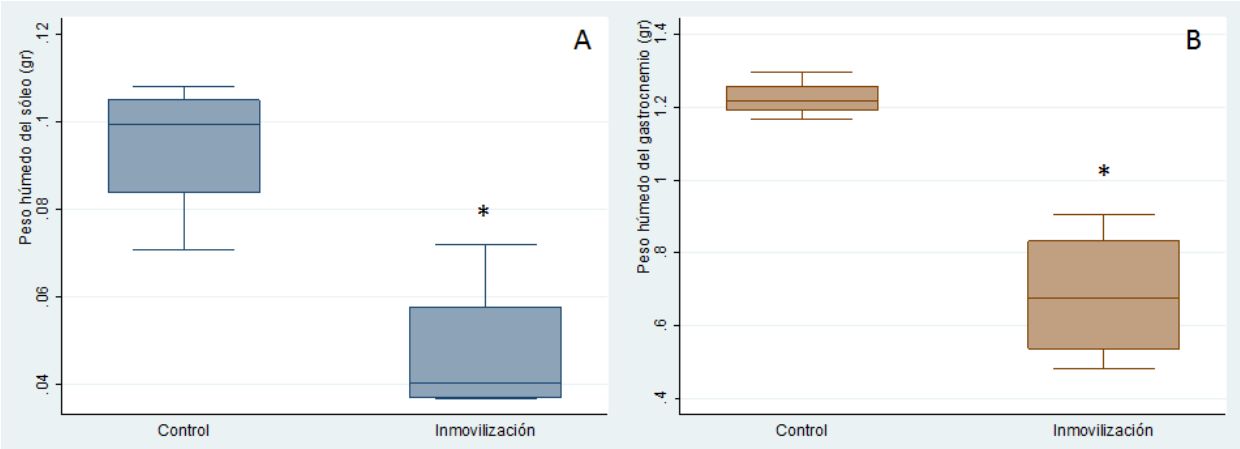
Con el fin de determinar el bienestar general de los animales, se realizó el registro de peso corporal diariamente. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de comparación en ninguno de los días. Estos datos son presentados en la figura 10.

Figura 10. Seguimiento del peso corporal de las unidades experimentales en el grupo de inmovilización y control.



Una vez concluidos los diez días de inmovilización, los músculos sóleo y gastrocnemio fueron disecados, limpiados de tejido conectivo, graso y sangre y se registró el peso húmedo. Para los dos músculos examinados, se detectó una disminución significativa del peso, cuyos datos son presentados en la figura 11.

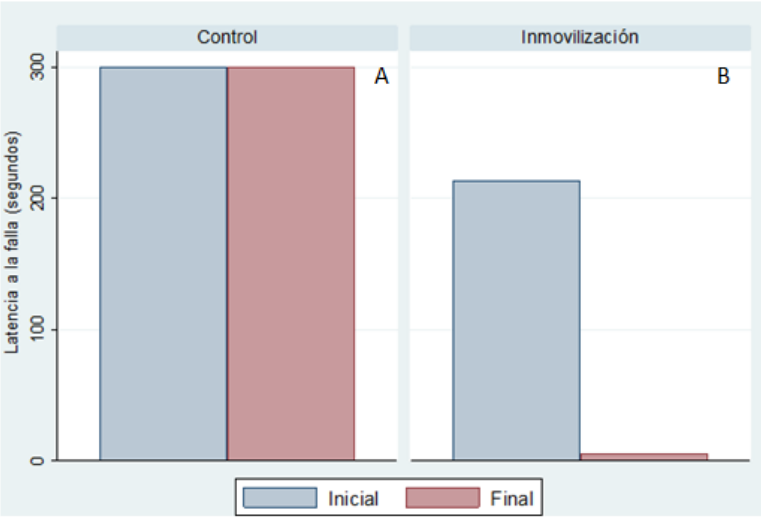
Figura 11. Peso húmedo de los músculos sóleo (A) y gastrocnemio (B) en los grupos control e inmovilización.



* Diferencia estadísticamente significativa cuando se compara con el grupo control (*p<0.05*).

Con respecto a la prueba de desempeño motor, los animales fueron sometidos a un periodo de familiarización que consistió en 2 ensayos previos a la prueba, con diferencia de 3 horas. El parámetro establecido en el Rotarod fue aceleración de 4 a 40 rpm durante 300 seg. Se realizaron 3 intentos y se reportó la mayor latencia a la falla definida como el tiempo de permanencia de la unidad experimental sobre el cilindro. En la figura 12 se presentan los resultados descriptivos definidos como latencia a la falla, comparando los resultados de la prueba inicial (día 1) con la prueba final (día 10, inmediatamente después de retirar la inmovilización), para el grupo control y el grupo de inmovilización. La figura muestra que las unidades experimentales en la prueba inicial cumplieron con el máximo de tiempo permitido dentro del protocolo utilizado (grupo control) y que en el grupo de inmovilización se alcanzó un registro cercano a los 200 segundos. Sin embargo, al finalizar la inmovilización, los animales disminuyeron drásticamente su desempeño en la prueba al caer rápidamente del cilindro. En el grupo control, no hubo cambios en el tiempo de permanencia en el Rotarod.

Figura 12. Promedio de la latencia a la falla de las ratas



(A) En el grupo control y (B) en el grupo de inmovilización, en la evaluación inicial (antes de inmovilización) y final (después de la inmovilización).

3.6.1.2. Evaluación de la reproducibilidad inter e intraevaluador para la medición de área de sección transversa de la fibra muscular y conteo de mionúcleos

La evaluación de la reproducibilidad intra e interevaluador fue ejecutada con las muestras de una prueba piloto en condiciones de lesión muscular, que consistió en la medición del AST y el conteo de mionúcleos de las muestras musculares. El análisis de la reproducibilidad intraevaluador fue ejecutado por la investigadora principal, quien realizó la medición de las variables en dos momentos diferentes con enmascaramiento doble. La reproducibilidad interevaluador fue realizada entre la investigadora y la directora del proyecto, considerando su experiencia de 3 años en mediciones histológicas de tejido muscular. Se determinó una excelente reproducibilidad intra e interevaluador para la medición del AST con un CCI=0.98 [0.92-0.99] y 0.8 [0.41-0.92], respectivamente. Así mismo, el conteo del número total

de mionúcleos mostró excelente reproducibilidad interevaluador con un CCI=0.8 [0.49-0.93] y buena reproducibilidad intraevaluador con un CCI=0.7 [0.26-0.89].

3.6.2. Control de las condiciones del laboratorio

a) Temperatura del laboratorio.

El laboratorio experimental, incluyendo el área de manutención de los animales, de evaluación y sacrificio fue mantenida a aproximadamente 23ºC, corroborada y registrada diariamente a través de un termómetro ambiental (Anexo 5).

b) Ciclo: 12/12 (luz/oscuridad):

Fue establecido a través de ciclos de encender/apagar la luz en los horarios correspondientes a las 07:00/19:00 horas, respectivamente.

c) Alimentación: Acceso a comida y agua *ad libitum*

La administración del alimento fue realizada a las 17:00 horas. La cantidad de concentrado por unidad experimental correspondió a 30 mg/día. El alimento y el agua fueron situados de manera que permitiera su fácil acceso a los animales inmovilizados.

3.6.3. Protocolo de Inmovilización

Para inducir la disminución de la actividad muscular, se adaptó un protocolo de inmovilización, previamente descrito en la literatura propuesto por Coutinho y col.[130] y adaptado por Benedini y col.[154] El modelo consta de dos fases: El procedimiento previo a su ubicación en la unidad experimental que involucra la elaboración de una malla y una camisa de acuerdo con el tamaño de cada animal y el proceso de

[154] BENEDINI, Priscila; CALVENTE, Mariana; SILVEIRA, Anna; MATTIELO, Ana. Changes in postnatal skeletal muscle development induced by alternative immobilization model in female rat. En: Anatomical Science International. Septiembre, 2009.vol.84,no.3, p.218–225.

inmovilización unilateral a través del mantenimiento de la pata derecha en posición de plantiflexión con el fin de mantener los músculos sóleo y gastrocnemio en acortamiento. El procedimiento detallado de la inmovilización se muestra en el anexo 6.

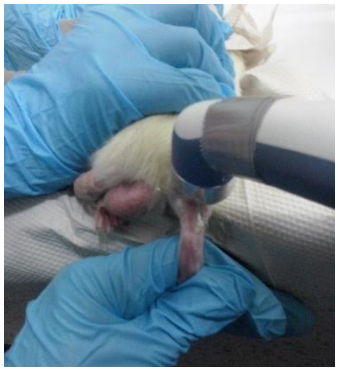
3.6.4. Protocolo de Tratamiento de Ultrasonido terapéutico

La intervención con ultrasonido terapéutico (grupo *Inmov+libre mov+UST*) o el tratamiento placebo (grupo *Inmov+libre mov+placebo*) fue realizada en el mismo horario todos los días. Para la realización de las intervenciones fue utilizado un ultrasonido terapéutico Chatanooga Intelect Mobile® ((Intelect mobile ultrasound device, Chattanooga Group), con ERA de 2 cm^2 y BNR 5:1, duración de la intervención de 5 minutos y frecuencia de 1 MHz. Para aquellos animales asignados a recibir UST, la intensidad fue de 0,5 w/cm^2, en un ciclo de trabajo continuo para una dosis energética total diaria de 300 joules. En los animales asignados al tratamiento placebo, la intensidad fue mantenida a 0 w/cm^2, por lo tanto la dosis energética correspondió a 0 joules. En todos los casos, el área de tratamiento correspondió a la región del tríceps sural de la pata inferior derecha, estandarizada mediante demarcación previa. Inmediatamente antes de iniciar el tratamiento el pelaje fue retirado para permitir un mejor acople con el cabezal de la unidad de ultrasonido.

El tratamiento en todos los casos inició el día 11, inmediatamente después de retirar el modelo de inmovilización; las subsecuentes sesiones de tratamiento fueron realizadas cada 24 horas durante 7 días consecutivos[155]. (Figura 13)

[155] ARTIFON, Elisangela; FERRARI, Delsi; MARTINS, Daniela; MERIGO, Cassiane; CHASKO, Lucinéla; FLOR Gladson. Efeitos do ultrassom terapêutico asociados ao alongamento estático sobre parámetros histomorfométricos longitudinais de sóleos imobilizados de ratos. En: Revista Brasileira de Medicina do Esporte. Octubre, 2012.vol.18, p.341-344.

Figura 13. Protocolo de aplicación de ultrasonido terapéutico.



3.6.5. Protocolo de evaluación del desempeño motor

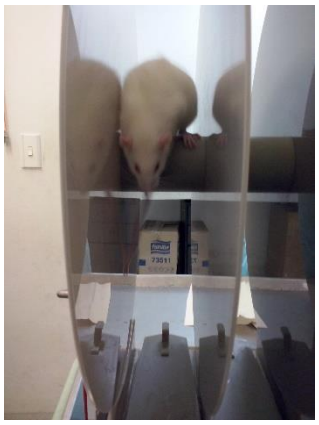
El desempeño motor de las unidades experimentales fue evaluado en el dispositivo Rotarod (Ugo Basile biological research apparatus Via G. Borghi 43 21025 Comerio – Varese, ITALY) (Figura 14)[156]. Las evaluaciones fueron realizadas en dos momentos, al día inicial (día 1), que corresponde a la primera medición, y al día final (día 11 para el grupo de inmovilización y día 18 para los demás grupos, que corresponde a 24 horas después del último tratamiento). En todos los animales y momentos de evaluación, se realizaron 15 minutos de aclimatación en el laboratorio previo a la realización de la prueba.

Cada animal fue manipulado desde la zona proximal de la cola y ubicado sobre el cilindro rotando bajo los siguientes parámetros: Modo: Aceleración a 1.2 rpm, velocidad mínima: 10 rpm, velocidad máxima: 80 rpm. 2 horas antes de la medición inicial, se realizó un entrenamiento de 3 ensayos con diferencia de 1 minuto entre ejecuciones. Para las mediciones inicial y final se realizaron 3 registros con un periodo de 1 minuto de reposo, cuyo tiempo fue registrado desde el momento que

[156] BASILE, Ugo. Instruction Manual. Via G. Borghi 4321025 COMERIO - Varese, ITALY.2008.

el animal se sostiene por si solo en el cilindro hasta el momento en el cae sobre la plataforma. El mejor tiempo fue registrado en el anexo 4.

Figura 14. Ubicación de los animales en el Rotarod.



El Rotarod es una de las pruebas más usadas para evaluar la coordinación neuromuscular y el balance en roedores[157]. Se ha establecido como un método reproducible para evaluar las unidades experimentales en condiciones de lesión de neurona motora mostrando un coeficiente de correlación de 0.8 a 0.9[158]. Así mismo, ha sido considerado reproducible al evaluar animales con exposición a etanol[159,160] y en esclerosis lateral amiotrófica[161]. Sin embargo, dentro de la literatura revisada no se encontró reportada su evaluación en condiciones de atrofia muscular inducida por inmovilización.

[157] MANDILLO, Silvia, et al. Reliability, robustness, and reproducibility in mouse behavioral phenotyping: a cross-laboratory study. En: Physiological Genomics. Agosto, 2008. vol.34, no, 3, p.243-255.
[158] KAI, Li; SHUNG, Ming; BIN, Tzer; LIANG, Wu; LI, Hung. Establishing a standardized therapeutic testing protocol for spinal muscular atrophy. En: Neurobiology of Disease. Noviembre, 2006. vol.24, no.2, p.286–295.
[159] KAMENS, Helen; PHILLIPS, Tamara; HOLSTEIN, Sarah, CRABBE, John. Characterization of the parallel rod floor apparatus to test motor incoordination in mice. En: Genes, Brain and Behavior. Junio, 2005. vol.4, no.4, p.253–266.
[160] RUSTAY, Nathan; WAHLSTEN, Douglas, CRABBE, John, Influence of task parameters on rotarod performance and sensitivity to ethanol in mice. En: Behavioural Brain Research. Mayo, 2003, vol.141, no.2, p. 237–249.
[161] NEYMOTIN, Arie, et al. Neuroprotective effect of Nrf2/ARE activators, CDDO ethylamide and CDDO trifluoroethylamide, in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. En: Free Radical Biology & Medicine. 2011;51: 88–96.

3.6.6. Protocolo de medición del pico máximo de tensión en una contracción

Para el análisis del pico máximo de tensión en una contracción, se utilizó un estimulador eléctrico conectado a un transductor de fuerza ADInstruments MLT500/A adaptado a un sistema Powerlab 16/30® utilizando el software PowerLab Chart 6® (Lexington Drive, Bella Vista, Australia) para la visualización y análisis de los datos. Inmediatamente antes del experimento, se realizó la verificación de los parámetros utilizados en un estimulador eléctrico a través de un osciloscopio Tektronix TDS-1002® (Tektronix TDS, TDS1002 Digital RT Oscilloscope, Tektronix Inc., Beaverton, OR, USA). Para la determinación de tensión en gramos, para cada día de recolección de los datos se realizó una curva estándar con pesos definidos (anexo 7), mostrando en todos los casos que la variabilidad de las mediciones fue de $r^2=1$ sin diferencias en las curvas de registro.

La técnica de determinación del pico máximo de tensión fue modificada de Hurst y Fitts[152]. Inmediatamente después de la evaluación del desempeño motor, los animales fueron anestesiados con inyección vía intraperitoneal de xilacina (12 mg/kg) y ketamina (95 mg/kg) que fue prolongada con inyecciones periódicas de mantenimiento con la mitad de la dosis. Los músculos de la pata inferior derecha fueron denervados mediante corte del nervio ciático en su extremo proximal, y los músculos dorsiflexores fueron desinsertados en su extremo distal, con el fin de disminuir la posible tensión pasiva generada. El tríceps sural fue disecado, y su tendón fue fijado al transductor de fuerza; el grupo muscular se mantuvo humedecido periódicamente con aplicaciones de solución salina. El transductor de fuerza estuvo dispuesto de forma perpendicular al músculo evaluado (figura 15a).

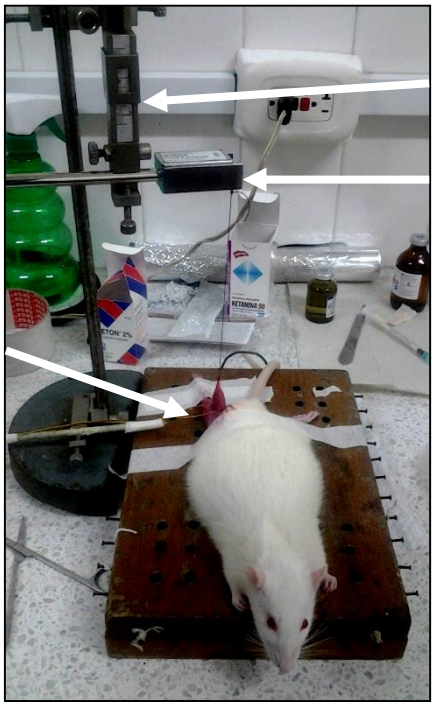
Las contracciones del músculo tríceps sural fueron inducidas mediante estimulación directa con electrodos sobre el vientre muscular. La longitud del músculo fue ajustada para producir la máxima tensión en una sacudida simple con intensidad de 88V. Una vez dispuesto el experimento, se indujo una contracción isométrica

mantenida hasta observar la respuesta en el vientre muscular cuyos parámetros utilizados fueron una duración de pulso de 100 mseg, una intensidad de 88V y frecuencia de 70 Hertz. La medición fue tomada a través del registro desde el punto de inicio de la respuesta hasta el pico más alto producido por el estímulo (figura 15b).

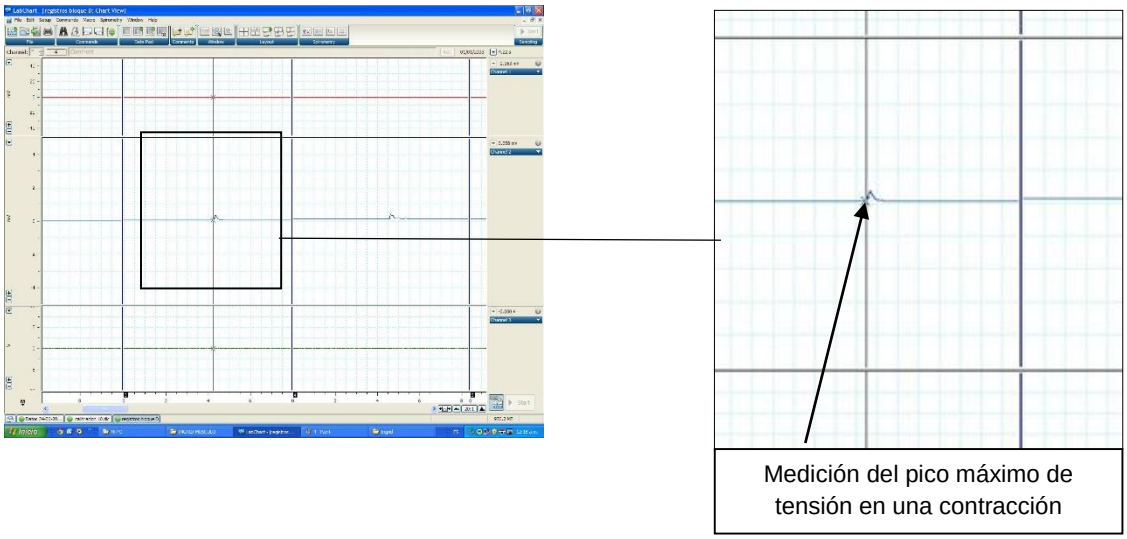
Se procedió entonces a la recolección de las muestras de tejido muscular y sacrificio del animal. Para esta variable, el grupo *Inmov* no fue incluido en el análisis estadístico.

Figura 15. Medición del pico máximo de tensión en una contracción

a)



b)



a) Ubicación *in situ* del animal para la medición y b) Modelo de registro del pico máximo de tensión en una contracción.

3.6.7. Protocolo de sacrificio de los animales

Los animales de los grupos que recibieron la intervención con UST o placebo y aquellos que tuvieron tan sólo libre movimiento fueron sacrificados 24 horas después del séptimo tratamiento, es decir, al día 18. El grupo inmovilizado durante 10 días fue sacrificado inmediatamente después de retirado el modelo. Finalmente, el grupo que nunca estuvo inmovilizado fue sacrificado al día 18 (Figura 9). Los músculos gastrocnemio y sóleo de la pata inferior derecha fueron resecados del animal, eliminando el tejido graso, conectivo o sangre. Inmediatamente a esto, se registró el peso húmedo de cada músculo. La mitad proximal de cada uno fue rápidamente enfriada en nitrógeno líquido para ser almacenado a -70ºC, para su posterior análisis de contenido proteico total. La mitad distal fue fijada en formaldehído con amortiguación al 2% con cambio a las 24 horas a alcohol al 70%,

y embebidas en parafina para el análisis histológico. Una vez el tejido muscular y muestras sanguíneas fueron recolectados, los animales se sacrificaron mediante intoxicación con CO_2 siguiendo el protocolo internacional adoptado por la Universidad Industrial de Santander[162].

3.6.8. Protocolo de análisis histológico

Para la cuantificación del AST y el área de dominio nuclear, se realizó el corte de las muestras musculares y su respectiva tinción con Hematoxilina-Eosina (H&E) bajo condiciones estándares[36].

La mitad distal de los músculos sóleo y gastrocnemio que previamente fueron almacenadas en bloques de parafina para los análisis histológicos, fue ubicada en forma transversa en el sistema de sujeción del micrótomo para realizar los cortes seriales a una profundidad de 5 μm[163].

Para la tinción con H&E, se fijó cada muestra en horno a 70ºC por 40 minutos para desparafinar el tejido. Así, cada muestra fue sumergida en xilol y alcohol y se realizó el lavado con agua corriente para eliminar los excesos y fueron ubicadas en hematoxilina durante 6 minutos y siguiente lavado en agua. Así mismo, fue requerido diferenciar en alcohol ácido al 0.1% y nuevamente lavado en agua. Después de este proceso, las placas fueron sumergidas en agua amoniacal y alcohol y se realiza la respectiva tinción con eosina. Para finalizar, se lavó con agua corriente hasta eliminar el exceso y se realizó la limpieza de cada lámina y final lavado en alcohol. Por último, cada placa fue ubicada en horno a 70ºC por 10 minutos y se dio paso al montaje de cada lámina con citoresin y cubreobjeto para su final marcación[164].

---

[162] RAJ, Mohan; LEACH, Matthew; MORTON, David. Carbon Dioxide for Euthanasia of Laboratory Animals. Comparative Medicine. Octubre, 2004. vol.54, no. 5, p.470-471.
[163] GARCÍA, Raimundo. Coloraciones histopatológicas rutinarias de mayor interés. En: Manual de laboratorio clínico diagnóstico. Colombia: McGraw-Hill, 1°Ed,1993. p.89-118.
[164] GARCÍA, Raimundo. Coloraciones histopatológicas rutinarias de mayor interés. En: Manual de laboratorio clínico diagnóstico. Colombia: McGraw-Hill, 1°Ed,1993. p.155-174.

Para el registro fotográfico y análisis de las muestras obtenidas se realizó enmascaramiento de las muestras. El registro fotográfico se realizó con una cámara Moticam 2300® 3.0 Mpixel USB 2.0 adaptada a un microscopio Olympus CH30® utilizando el software Motic Images Plus® 2.0, ejecutando una cuantificación de aproximadamente 100 fibras musculares por muestra, a una magnificación de 40x. El procedimiento para el registro fotográfico fue por observación de cada muestra a través del lente del microscopio, desde el segmento superior izquierdo al segmento superior derecho descendiendo en ese mismo orden. Las imágenes fueron tomadas aleatoriamente. El análisis de las imágenes, se realizó en el software ImageJ® (National Institutes of Health, http://www.imagej.nih.gov.ij). La reproducibilidad de las mediciones realizadas entre el software ImageJ y el software Osirix, así como la reproducibilidad interevaluador ha sido evaluada para la medición del AST de los músculos erector de la espina y paraespinales, encontrando un ICC de 0,99[165]. A través prueba piloto realizada en el marco de este proyecto de investigación, se determinó una excelente reproducibilidad intra e interevaluador para la medición del AST con un CCI=0.98 [0.92-0.99] y 0.8 [0.41-0.92], respectivamente. Así mismo, el conteo del número total de mionúcleos mostró excelente reproducibilidad interevaluador con un CCI=0.8 [0.49-0.93] y buena reproducibilidad intraevaluador con un CCI=0.7 [0.26-0.89].

3.6.9. Protocolo de determinación de contenido proteico

Para el análisis de contenido proteico total de los músculos sóleo y gastrocnemio, se utilizó un espectrofotómetro Bio-Rad iMark® (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) a través de la medición suspensión de cada muestra muscular en solución buffer de lisis para agitación en vórtex e inclusión en una centrífuga THERMO IEC CL31R Multispeed® (Thermo Electron Corp Milford, MA, USA)

[165] FORTIN, Maryse; BATTIÉ, Michele. Quantitative Paraspinal Muscle Measurements: Inter-software reliability and agreement using OsiriX and ImageJ. En: Physical Therapy. Junio, 2012. vol.92, no.6, p.853-864.

Posterior a ello, la concentración de proteínas en cada muestra muscular fue determinada mediante el ensayo de Bradford[166], para lo cual fue preparada una curva de calibración utilizando patrones de albúmina de suero bovino (fraction V, MERCK) disueltos en solución buffer de lisis. A partir de la relación 1:20 de muestra/buffer de lisis, se realizó la cuantificación utilizando la curva de calibración determinada previamente[167]. Posterior a ello, se incluyeron estos datos dentro del análisis para los resultados del proyecto. (Anexo 9)

3.6.10. Protocolo de medición de temperatura intramuscular

Se utilizaron 2 ratas Wistar con peso de 364.6±2.05 gramos para realizar el registro de temperatura intramuscular antes y después de la aplicación de ultrasonido terapéutico y ultrasonido placebo, con los parámetros definidos anteriormente.

Bajo condiciones estándar del laboratorio, los animales fueron anestesiados con inyección vía intraperitoneal con xilacina (12 mg/kg) y ketamina (95 mg/kg) que fue prolongada con inyecciones periódicas de los anestésicos con la mitad de la dosis si se observaba respuesta motora, con el fin de evitar respuesta dolorosa en el animal. Se realizó la tricotomía de la pata inferior e inmediatamente antes de la aplicación de la intervención (UST o placebo), se realizó la punción directa sobre el vientre muscular del gastrocnemio con un termómetro marca Physitemp BAT-10 (BAT 10, Physitemp Inc, Clifton, NJ) con una aguja hipodérmica MT-23/3®. A 0.5cm de profundidad, en el punto medio del vientre muscular del tríceps sural, se realizó

[166] KRUGER, Nicholas. The Bradford Method for Protein Quantitation. The Protein Protocols Handbook. Springer. Enero, 2002. p. 15-21.
[167] ÁLVAREZ, Marilyn Evaluación del efecto de la cicloheximida sobre la memoria emocional y la expresión de proteínas en el hipocampo dorsal de ratas wistar expuestas al laberinto en cruz elevado. Trabajo de grado Química. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química, 2012. 114 p.

la medición inmediatamente antes e inmediatamente después de la aplicación de ultrasonido terapéutico bajo los parámetros establecidos para el proyecto (Ultrasonido terapéutico Marca Chattanooga Intellect®; frecuencia: 1 MHz; intensidad: 0.5 w/cm2; ERA: 2 cm2; modo: continuo; duración: 5 minutos, o ultrasonido en modo placebo (intensidad a 0 w/cm2). Los datos fueron almacenados para el posterior análisis estadístico.

3.7. CONTROL DE SESGOS

3.7.1. Sesgo de selección[168]:

a) Pérdida de unidades experimentales: El tamaño de muestra fue realizado teniendo en cuenta un incremento del 20% del cálculo ejecutado si se presentaba la pérdida de alguna unidad experimental en cualquiera de los grupos de comparación.

b) Asignación aleatoria a grupos de comparación: Todos los animales fueron asignados inicialmente de forma aleatoria a cada uno de los grupos y al orden de evaluación de las pruebas establecidas a través del software Epidat 3.1[169].

3.7.2. Sesgo de clasificación[168]:

a) Evaluación previa de las propiedades psicométricas de las pruebas e instrumentos de medición a través de la estandarización de los protocolos de evaluación y medición, evaluación de la reproducibilidad intra e interevaluador de la medición del AST y conteo de mionúcleos y fibras musculares y a través del enmascaramiento en los procedimientos de disección muscular y en análisis histológico e inmunohistoquímico.

3.7.3. Sesgo de confusión[168,170]:

Control de las covariables: El peso corporal de cada unidad experimental fue registrado diariamente con el fin de observar la respuesta de cada animal al modelo

[168] HERNÁNDEZ, Mauricio; GARRIDO, Francisco; SALAZAR, Eduardo. Sesgos en estudios epidemiológicos. En: Salud Pública de México. Septiembre-Octubre 2000. vol.42, no.5, p.438-446.
[169] Xunta de Galicia-Consellería de Sanidade-Servizo Galego de Saúde [online]. Galicia: Servizo Galego de Saúde; 2006 [acceso 4 de abril de 2013]. Epidat 3.1. España.
[170] OROZCO, Luis Carlos. Validez de los estudios de validez o de los sesgos, cómo evitarlos y algo más. En: Medición en salud. Diagnóstico y evaluación de los resultados. Un manual crítico más allá de lo básico. 1ª Ed. Bucaramanga, Colombia: División de publicaciones UIS,2010. p.159-169.

de inmovilización, al libre movimiento, al tratamiento planteado y a las condiciones del laboratorio. El peso muscular fue medido previa disección y sacrificio y ambas variables fueron incluidas dentro del análisis para la normalización de los datos

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los grupos de comparación para el análisis de los datos fueron organizados de la siguiente manera: *Libre mov*: Libre movimiento por la jaula por 17 días; Inmov: Inmovilización por 10 días; *Inmov+libre mov*: Inmovilización por 10 días + libre movimiento por 7 días: *Inmov+libre mov+placebo*: Inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de ultrasonido placebo por 7 días e *Inmov+libre mov+UST*: Inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de UST por 7 días. Se realizó un análisis previo con una t de student para comparar los grupos *Inmov+libre mov+placebo e Inmov+libre mov* en sus variables de salida y covariables; no se detectaron diferencias entre ambos grupos ($p<0.05$ en cada variable). Por tanto, con el fin de incrementar el poder de los análisis posteriores, se consideró un solo grupo denominado *Inmov+libre mov+placebo* (Inmovilización por 10 días y libre movimiento por la jaula o tratamiento placebo por 7 días, n=8).

Se aplicaron medidas de tendencia central y dispersión según el grupo de comparación, para la descripción de las características de la población de estudio. Se comprobó la normalidad de las variables de desempeño motor, pico máximo de tensión en una contracción, contenido proteico total, área de sección transversa y área de dominio nuclear y de las covariables peso muscular y peso corporal, con la prueba de Shapiro-Wilk y se aplicaron pruebas paramétricas y no paramétricas, según el grupo de comparación, escala de medición y distribución inicial de estas mismas. Adicionalmente, se realizó el cálculo del área bajo la curva del peso corporal dentro de cada grupo de comparación para el día 11 (día de retiro de la inmovilización) y para el día 18 (24 horas después de la última intervención).

Para comparar la diferencia entre los promedios de peso corporal inicial y final, así como también el desempeño motor inicial y final ajustado respectivamente por el peso corporal inicial y final, se realizó una t de student pareada para cada grupo de comparación. Para predecir el desempeño motor final por el desempeño motor

inicial, se aplicó un análisis de covarianza (ANCOVA) entre los grupos de comparación.

Para evaluar las diferencias en la relación desempeño motor final/desempeño motor inicial, pico máximo de tensión en una contracción, contenido proteico total, área de sección transversa y área de dominio nuclear, se aplicó un ANOVA con post-hoc Bonferroni o un análisis de Kruskal Wallis, dependiendo de la distribución de la variable, entre los grupos de comparación.

Finalmente, para comparar las diferencias entre la medición de temperatura intramuscular inmediatamente antes e inmediatamente después de la aplicación de UST o tratamiento placebo dentro de cada grupo de comparación, se aplicó una t de student pareada; para comparar las diferencias de las mediciones de temperatura intramuscular entre ambos grupos (UST o placebo), se realizó una t de student no pareada.

La base de datos fue elaborada en Microsoft Excel 2010 por duplicado y posteriormente fue exportada a STATA 12.0[150] para su validación y respectivo análisis, considerando un nivel de significancia de α=0.05[171,172,173]. Todos los valores son presentados en $\bar{x}$±EE o Me[RIS:RII], según su distribución.

[171] DOMHOLDT, Elizabeth. Statistical Analysis of Differences: The Basics. En: Rehabilitation Research. Principles and Applications. Indianapolis, Indiana: ElSevier Saunders, 3º Ed. 2004.p.303-327.
[172] DOMHOLDT, Elizabeth. Statistical Analysis of Relationships: The Basics. En: Rehabilitation Research. Principles and Applications. Indianapolis, Indiana: ElSevier Saunders, 3º Ed. 2004.p.351-363.
[173] DOMHOLDT, Elizabeth. Statistical Reasoning. En: Rehabilitation Research. Principles and Applications. Indianapolis, Indiana: ElSevier Saunders, 3º Ed. 2004p.277-302.

4. CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo con los principios establecidos en el Capítulo VI la Ley 84 de 1989 (actualmente en reforma)[174] y en la Resolución 008430 de Octubre 4 de 1993[175]: y en cumplimiento con los aspectos mencionados con el Artículo 87 del Título V de la presente Resolución, este estudio se desarrolló conforme a los siguientes criterios:

Siguiendo la normatividad internacional para las investigaciones con animales, este estudio fue regido por la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, avalada por "National Institutes of Health (NIH)" de Estados Unidos[176], la Directiva 86/609/CEE[177], la Directiva 2010/63/UE[178], la Convención ETS 123 para la protección de animales vertebrados usados para experimentación y otros propósitos científicos[179], el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS) 1985[180], la Declaración Universal de los Derechos de los Animales de la UNESCO[181] y la Declaración de políticas CCPA en la ética de la investigación con animales y el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL)[182.183].

Para la ejecución del proyecto de investigación "Efectos del ultrasonido terapéutico sobre la capacidad funcional del músculo esquelético y la atrofia inducida por

[174] COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley 84 de 1989. Por la cual se adopta el Estatuto Nacional de Protección de los Animales y se crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia. Bogotá D.C.: El Congreso, 1989. 19 p.
[175] MINISTERIO DE SALUD DE COLOMBIA. Resolución 008430 de 1993, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. 1993.
[176] ESTADOS UNIDOS. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, DC: The National Academies Press; 1996. [acceso 24 mayo 2013]. Disponible en: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=5140.
[177] FRANCIA. Council of Europe. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Estrasburgo: Council of Europe, 1986. 13 p.
[178] FRANCIA. EL PARLAMENTO EUROPEO Y EL CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA, Directiva 2010/63/Ue del Parlamento Europeo Y del Consejo. Relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. Estrasburgo: Diario oficial de la unión europea, 2010. 47 p.
[179] FRANCIA. GUIDELINES FOR ACCOMMODATION AND CARE OF ANIMALS. Of the european convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS 123), apendix A: Estrasburgo, Strasbourg: Guidelines for accommodation and care of animals, 2006. 109 p.
[180] SUIZA. CIOMS. Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que Implique el Uso de Animales. Ginebra: Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, 1985. 2 p.
[181] FRANCIA. UNESCO. Declaración universal de los derechos de los animales. Considerando que todo animal posee derechos París: 1978. 1p.
[182] CANADA.CCPA. Responsabilidad para el cuidado y uso de los animales de experimentación: Ottawa; 1968.
[183] MÉXICO. CICUAL. Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio: México; 1999.

inmovilización" se tuvieron en cuenta las políticas de investigación de la Universidad Industrial de Santander que se rigen por el acuerdo 047 de 2004, en el cual se incluye el desarrollo científico como uno de los objetivos de la Educación Superior[184].

En búsqueda de lograr avances en el conocimiento del movimiento corporal humano, la experimentación con animales vivos fue realizada considerando a los animales como seres sensibles siendo necesario y ético su cuidado, alimentación, nido, ciclo luz/oscuridad, bienestar a través de la observación y registro diario de su peso corporal y evitando al máximo su angustia y sufrimiento en su intervención y posterior sacrificio[185]. Para la realización del proyecto se utilizaron ratas Wistar bajo el reglamento del Bioterio de la Universidad Industrial de Santander que se rige por las exigencias internacionales, en el cumplimiento de normativas y recomendaciones específicas para el cuidado y respeto de las especies.

La investigación fue llevada a cabo cuando se obtuvo la autorización del representante legal de la Universidad Industrial de Santander y la aprobación del proyecto por parte del Comité de Ética en Investigación de la institución.

[184] COLOMBIA. Universidad Industrial de Santander. Consejo superior, acuerdo No 047 de 2004: Bucaramanga; 2004.
[185] COLOMBIA. Universidad industrial de Santander. Reglamento para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Bioterio central, departamento de ciencias básicas: Bucaramanga; 2004.

5. RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 24 ratas machos Wistar con edad de 12±1.4 semanas. Los animales fueron asignados a los cuatro grupos de comparación definidos anteriormente.

El peso corporal de los animales presentó variaciones durante todos los días de seguimiento, con una disminución más evidente durante los primeros 4 a 5 días después de los cuales, se observó un incremento progresivo. El grupo *Libre mov* presentó un incremento en el peso corporal inicial vs final de 261.3±17.2gr a 364.2±3.5gr (p=0.007, n=4), respectivamente. El grupo *Inmov* presentó una disminución del peso corporal con un peso de 298.1±5.7gr al inicio y de 265.4±8.9gr al final (p=0.044, n=6); el grupo *Inmov+libre mov+placebo* presentó un incremento en su peso corporal, de 279.6±16.5gr al inicio, vs. 312.3±11.2gr al final (p=0.007, n=8). Finalmente, el grupo *Inmov+libre mov+UST* mostró un peso corporal inicial de 355.7±6.7gr, y final de 338.1±8.2gr (p= 0.003, n=6). Los datos de cada grupo por día de seguimiento son presentados en la figura 16. Una vez ajustada la variable de peso corporal por el área bajo la curva, no se detectó homogeneidad de varianza de los datos en el día 11 (Bartlett p=0.004), pero si al día 18 (Bartlett p=0.2). Las comparaciones entre los grupos de intervención al día 11, mostraron diferencias entre los grupos *Inmov+libre mov+UST* vs. *Inmov* (p=0.03), e *Inmov+libre mov+UST* vs. *Libre mov* (p=0.01). De igual forma, se encontraron diferencias entre los grupos *Inmov+libre mov+placebo* vs. *Inmov* (p=0.04) y vs. *Libre mov* (p=0.02). En las comparaciones a los 18 días, se detectaron diferencias entre los grupos *Inmov+libre mov+UST* vs *Inmov+libre mov+placebo* (p=0.02) y entre éste último y el grupo *Libre mov* (p=0.05).

Para la evaluación del desempeño motor, los resultados normalizados por peso corporal, en la comparación inicial y final del experimento mostraron que para el

grupo *libre mov* fue de 0.19 ± 0.03 al inicio vs 0.08±0.01 seg/gr al final (p=0.02); para el grupo *Inmov* fue de 0.09±0.01 vs 0.01±0.01 seg/gr (p=0.001); para el grupo *Inmov+libre mov+placebo* fue de 0.11±0.01 vs 0.05±0.01 seg/gr (p=0.001) y para el grupo *Inmov+libre mov+UST* fue de 0.07±0.01 vs.0.06±0.01 seg/gr (p=0.05) Estos datos se muestran en la figura 17.

La comparación entre grupos del desempeño motor a través de la evaluación final normalizada por la evaluación inicial, mostró que para el grupo *Libre mov* fue de 0.6±0.1; para el grupo *Inmov* fue de 0.1±0.01; para el grupo *Inmov+libre mov+placebo* fue de 0.6±0.1 y para el grupo *Inmov+libre mov+UST* fue de 0.8±0.2. Aunque los datos no mostraron homogeneidad de varianza (Bartlett=0.01), fueron detectadas diferencias entre el grupo *Inmov* con los demás grupos de comparación (*Libre mov*, p=0.001; *Inmov+libre mov+placebo*, p=0.001 e *Inmov+libre mov+UST*, p<0.001). Los resultados son mostrados en la figura 18. Adicionalmente, el análisis de covarianza mostró que tomando como referencia el grupo *Inmov+libre mov+placebo* respecto con los demás grupos de comparación, se detectaron diferencias solamente con el grupo *Inmov* (β= -12.6 [-18.2:-7.1], p= 0.001). Así mismo, se confirmó la disminución del desempeño motor en la evaluación final para todos los grupos de comparación, a través del ajuste por la la evaluación inicial (p= 0.03).

Para el análisis del pico máximo de tensión en una contracción se detectaron diferencias entre el grupo *Inmov+libre mov+UST* con el grupo *Libre mov* (p=0.004) y con el grupo *Inmov+libre mov+placebo* (p=0.006). Los datos se muestran en la figura 19.

El peso húmedo del músculo sóleo no mostró homogeneidad de varianza (Bartlett=0.008). En la comparación entre grupos se detectaron diferencias entre el grupo *Inmov+libre mov+UST* con el grupo *Inmov+libre mov+placebo* (p=0.01) y con

el grupo *Inmov* (p=0.004). Así mismo, fueron detectadas diferencias entre el grupo *Inmov+libre mov+placebo* con el grupo *Inmov* (p=0.002). De igual manera, se observó una disminución del peso húmedo del sóleo del grupo *Inmov* con respecto al grupo *Libre mov* (p=0.01). El peso húmedo del músculo soleo por grupo de comparación es presentado en la figura 20.

En el peso húmedo del gastrocnemio se determinó una distribución homogénea de los datos en los grupos de comparación (Bartlett=0.13). La comparación entre grupos mostró que hubo una disminución significativa del peso húmedo del músculo gastrocnemio de los animales del grupo *Inmov* con respecto a los grupos *Inmov+libre mov+UST* (p<0.0001), *Inmov+libre mov+placebo* (p<0.0001) y *Libre mov* (p=0.001). De la misma manera, para los grupos que completaron los 18 días en el experimento, se encontraron diferencias entre el grupo *Libre mov* con el grupo *Inmov+libre mov+UST* (p<0.001) y con el grupo *Inmov+libre mov+placebo* (p<0.0001) (figura 21).

En el músculo sóleo, el contenido proteico total mostró una distribución homogénea de los datos (Bartlett p=0.4), sin diferencias encontradas entre los grupos (p=1.00 en todas las comparaciones). Estos datos se muestran en la figura 22-A. Así mismo, en la comparación entre grupos del contenido proteico total del músculo gastrocnemio también fue evidenciada una distribución homogénea de la variable (Bartlett p=0.8) y no se encontraron diferencias significativas (p=1.0 en todas las comparaciones). Los datos son mostrados en la figura 22-B.

En la figura 23 se muestran las imágenes del AST de los músculos sóleo y gastrocnemio a una magnificación de 40x, por cada grupo de comparación. En la figura se observa una mayor AST de los músculos sóleo y gastrocnemio del grupo *Libre mov* respecto con los demás grupos de comparación. En el músculo sóleo, el grupo *Libre mov* mostró diferencias con respecto a los demás grupos de

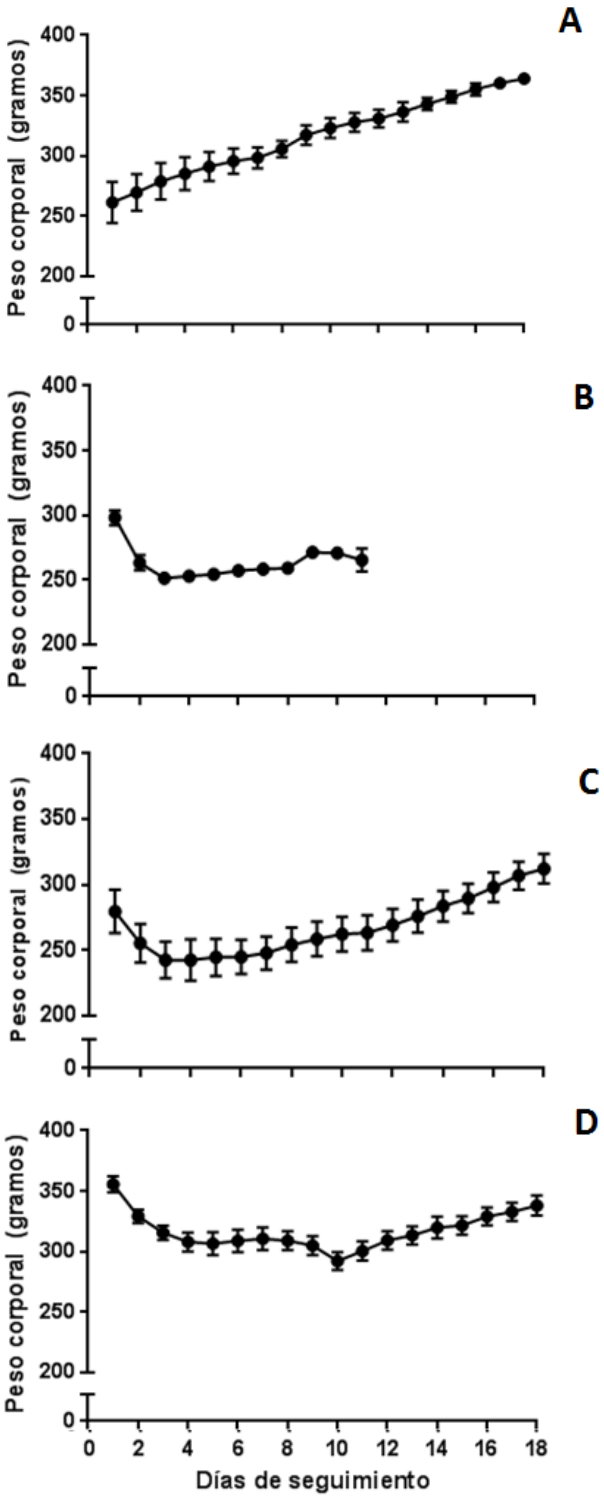
comparación (*Inmov*, p<0.001; *Inmov+libre mov+placebo*, p=0.004; *Inmov+libre mov+UST*, p=0.005), previa determinación de la normalidad de los datos y con una distribución homogénea de la variable (Bartlett p= 0.58). Estos datos son mostrados en la figura 24-A. En el músculo gastrocnemio se encontró que con una distribución homogénea de los datos (Bartlett=0.51), el AST del grupo *Libre mov* fue mayor que en los demás grupos de comparación (*Inmov*, p<0.001; *Inmov+libre mov+placebo*, p<0.001; *Inmov+libre mov+UST*, p=0.001). Los datos son mostrados en la figura 24-B.

En el músculo sóleo, el área de dominio nuclear (ADNu) no mostró homogeneidad de varianza (Bartlett: 0.0001). El análisis mostró que el grupo *Libre mov* fue diferente de los demás grupos de comparación (*Inmov*, p=0.01; *Inmov+libre mov+placebo*, p=0.007 e *Inmov+libre mov+UST*, p=0.011). Así mismo, se detectaron diferencias significativas entre el grupo de Inmov+libre mov+placebo con el grupo de Inmov (p=0.007). Estos datos se muestran en la figura 25.

En el músculo gastrocnemio, el análisis del ADNu detectó homogeneidad de varianza (Bartlett=0.4). El ADNu fue mayor en el grupo *Libre mov* en comparación con los demás grupos (*Inmov,* p=0.0001; *Inmov+libre mov+placebo,* p=0.006 e *Inmov+libre mov+UST*, p=0.001). Los datos son mostrados en la figura 26.

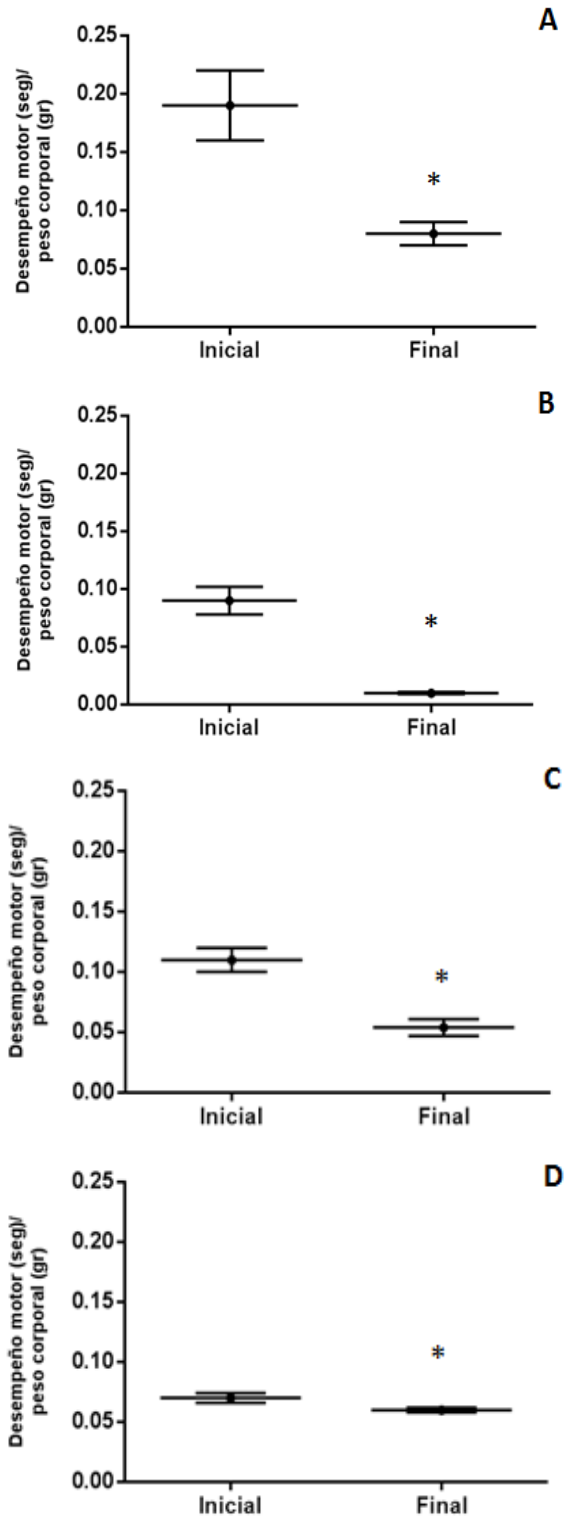
La medición de la temperatura intramuscular inicial (32.8±0.6 ºC) y final (31.7±0.5ºC) en el grupo de aplicación de UST, no detectó diferencias (p=0.26). Con la aplicación del ultrasonido placebo se encontró una temperatura de 31.4±0.7ºC al inicio y de 29.4±0.3 ºC al final, mostrando diferencias entre ambas mediciones (p=0.03). Las diferencias de la temperatura intramuscular (inicial – final) entre ambos grupos, mostró para el grupo de aplicación de UST una temperatura de 1.08 ±0.8 ºC y para el grupo de ultrasonido placebo de 1.98±0.5ºc. El análisis no detectó diferencias entre ambos grupos (p=0.4). Estos resultados son mostrados en la figura 27.

Figura 16. Distribución del peso corporal de los animales durante los días de seguimiento, por grupo de comparación



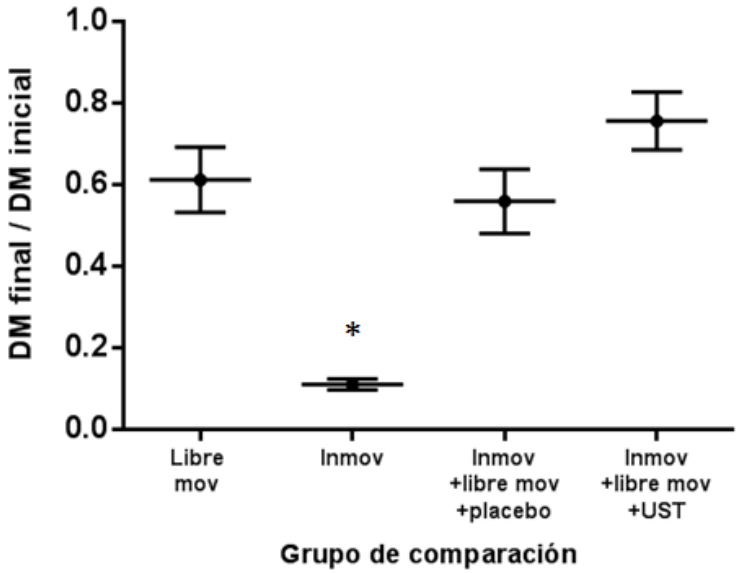
. A, Libre mov; B, Inmov, C: Inmov+libre mov+placebo; D: Inmov+libre mov+UST. Los valores representan $\bar{x}$±EE

Figura 17. Comparación entre el desempeño motor inicial y el desempeño motor final (seg) ajustado por el peso corporal inicial y final (gr), respectivamente, por grupo de comparación



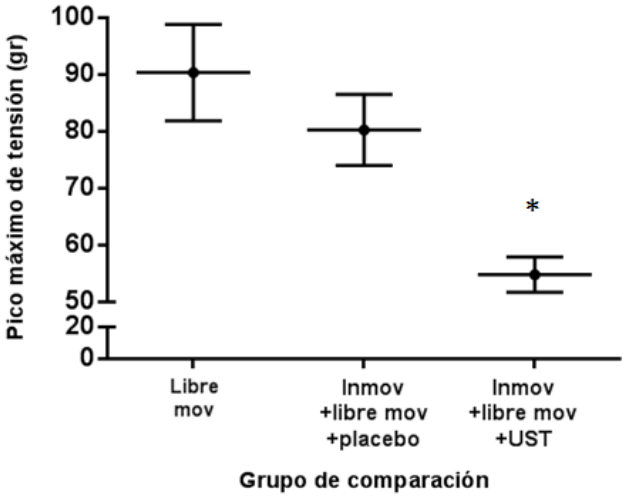
A, Libre mov; B: Inmov; C: Inmov+ libre mov+placebo; D: Inmov+libre mov+UST. *p<0.05. Los datos son mostrados en $\bar{x}$±EE.

Figura 18. Análisis del desempeño motor final (DM final) ajustado por el desempeño motor inicial (DM inicial), según grupo de comparación



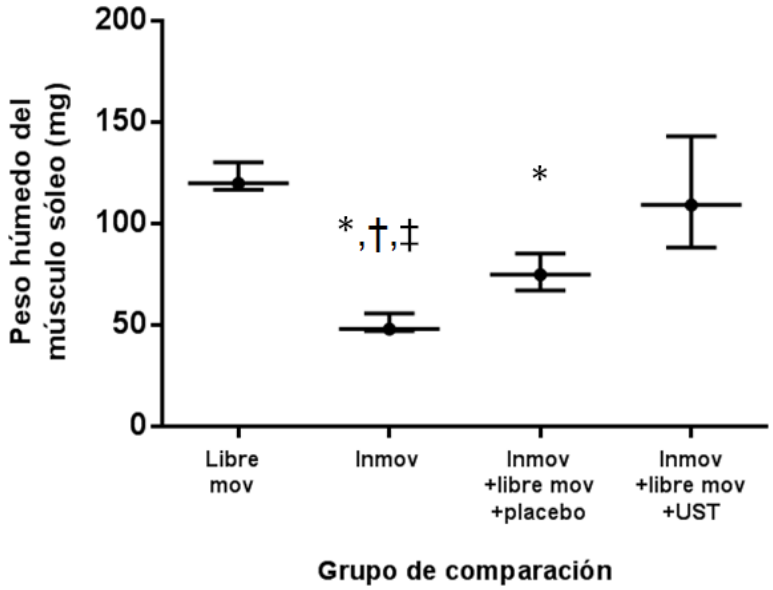
Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización por 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de ultrasonido placebo por 7 días; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días + libre movimiento y aplicación de UST por 7 días. * $p<0.05$ para el grupo Inmov respecto con los demás grupos de comparación. Los valores representan $\bar{x}$±EE.

Figura 19. Análisis del pico máximo de tensión en una contracción (gramos), por grupo de comparación



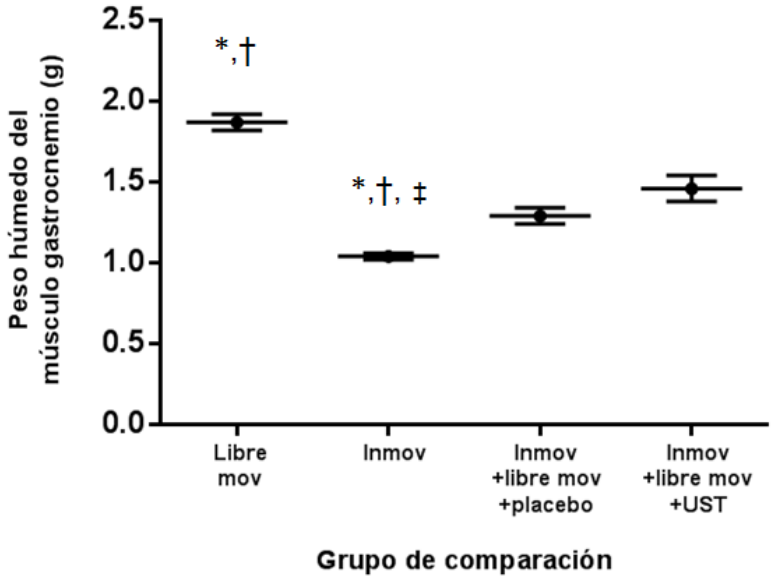
Libre mov: Libre movimiento; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de ultrasonido placebo por 7 días; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días + libre movimiento y aplicación de UST por 7 días. * $p<0.05$ para el grupo de Inmov+libre mov+UST comparado con los grupos Libre mov e Inmov+libre mov+placebo. Los valores representan $\bar{x}\pm EE$.

Figura 20. Análisis del peso húmedo del músculo sóleo (mg) por grupo de comparación



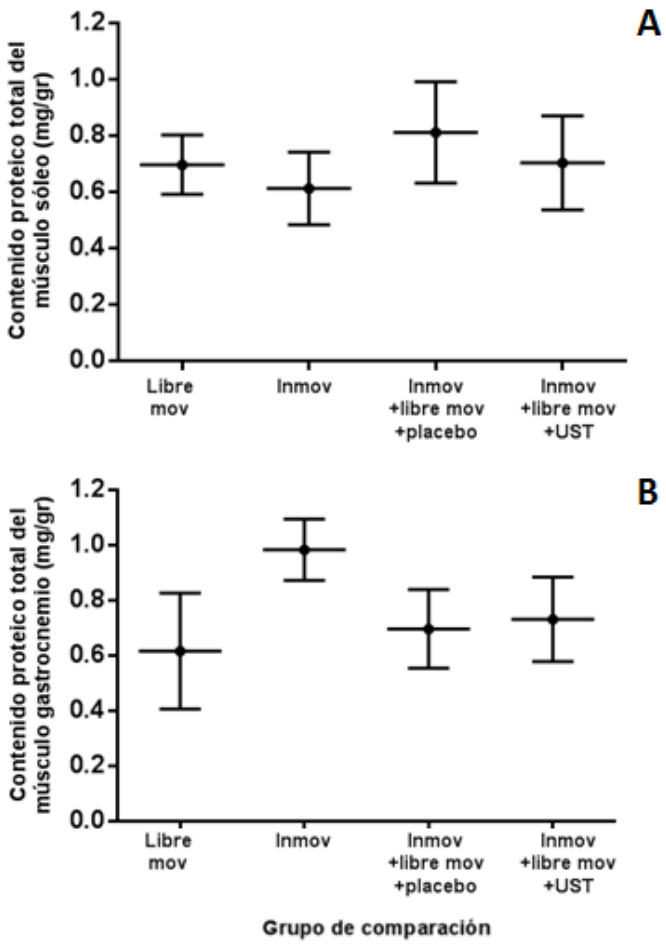
Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización por 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de ultrasonido placebo por 7 días; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días + libre movimiento y aplicación de UST por 7 días. * Diferencia con el grupo Inmov+libre mov+UST, † diferencia con el grupo Inmov+libre mov+placebo, ‡ diferencia con el grupo Libre mov; $p<0.05$. Los valores representan Me[RIS:RII].

Figura 21. Análisis del peso húmedo del músculo gastrocnemio (g) por grupo de comparación



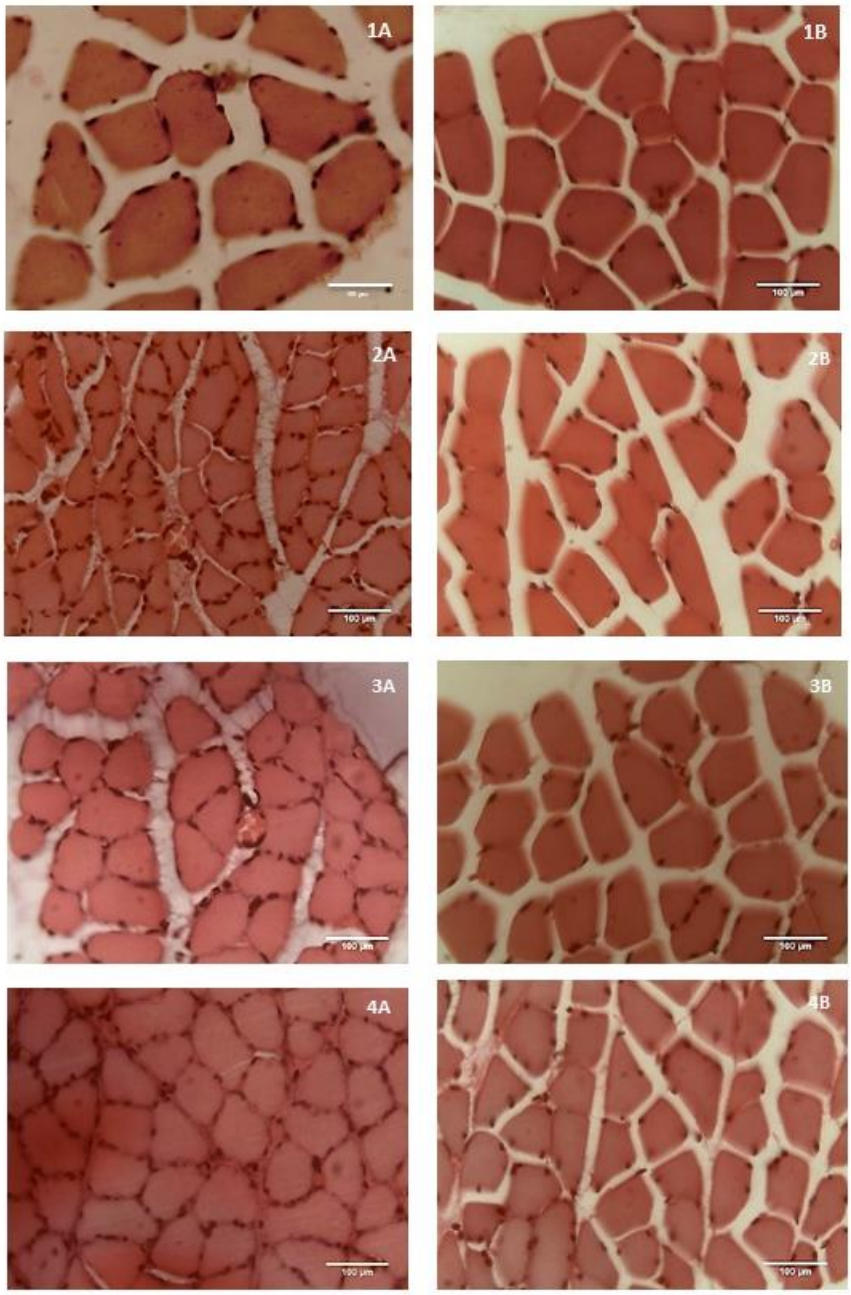
Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización por 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización por 10 días + libre movimiento y aplicación de ultrasonido placebo por 7 días; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días + libre movimiento y aplicación de UST por 7 días. * Diferencia con el grupo Inmov+libre mov+UST, † diferencia con el grupo Inmov+libre mov+placebo, ‡ diferencia con el grupo Libre mov; $p<0.05$. Los valores representan $\bar{x}\pm EE$.

Figura 22. Análisis del contenido proteico total (mg/gr) del músculo sóleo (A) y del músculo gastrocnemio (B), por grupo de comparación



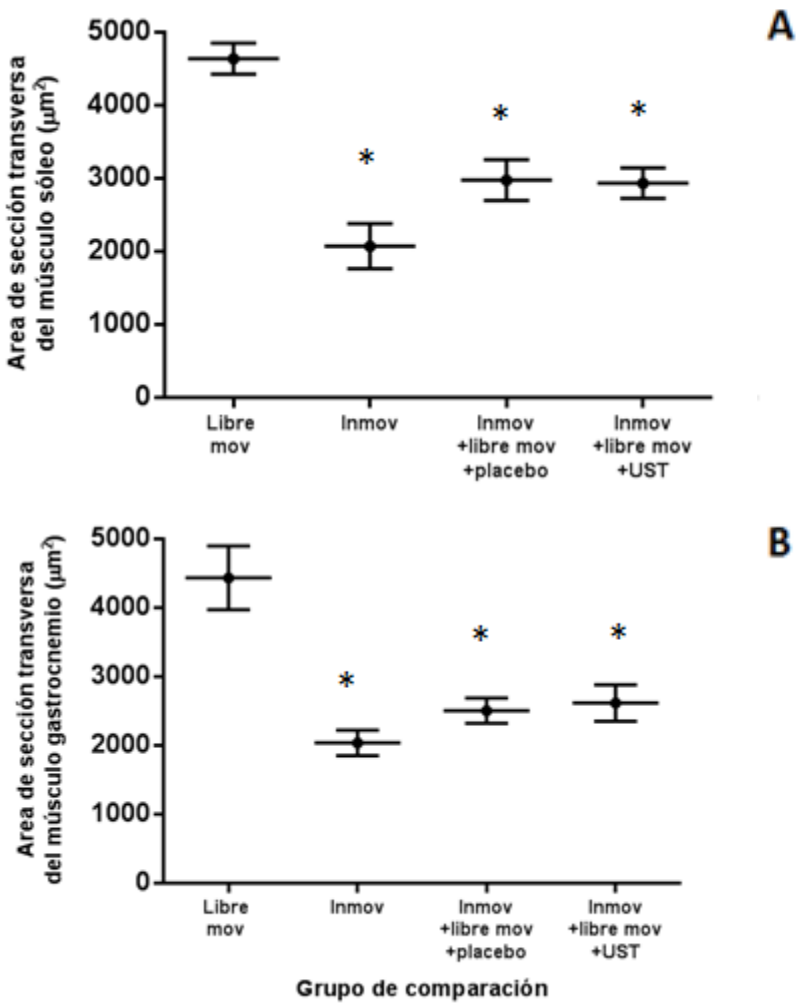
Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización 10 días + libre movimiento por 7 días + ultrasonido placebo; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días y libre movimiento+aplicación de UST por 7 días. No hay diferencias entre los grupos de comparación. Los valores representan $\bar{x}$±EE.

Figura 23. Áreas de sección transversa y mionúcleos de los músculos sóleo (A: Fila izquierda) y gastrocnemio (B: fila derecha) según grupo de comparación



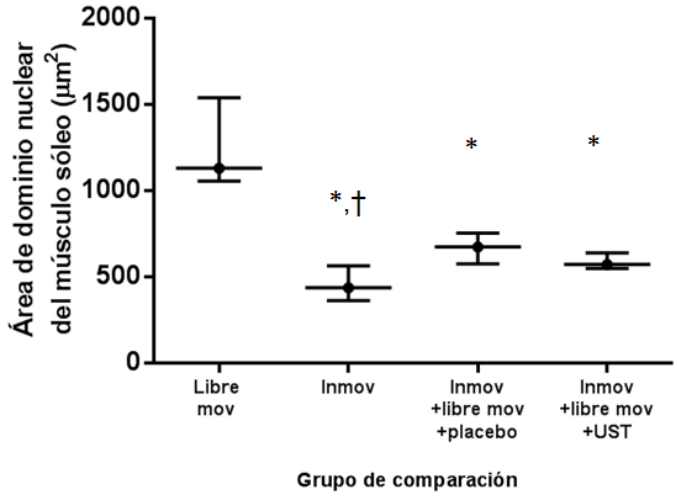
1: Libre mov; 2: Inmov; 3: Inmov+libre mov+placebo y 4: Inmov+libre mov+UST. Barra de calibración = 100 µm

Figura 24. Análisis del área de sección transversa del músculo sóleo (A) y del músculo gastrocnemio (B), por grupo de comparación



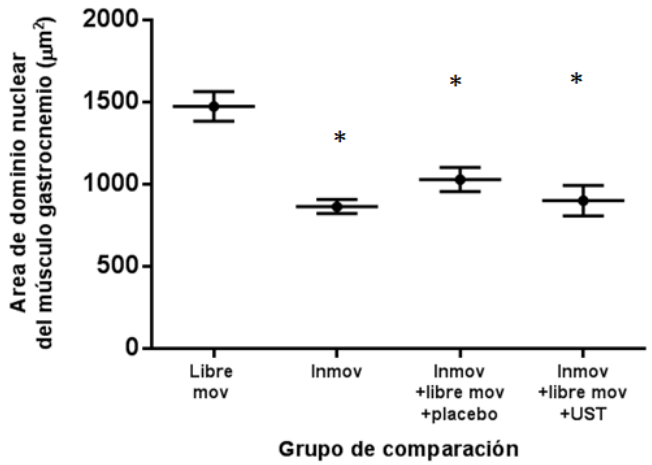
Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización 10 días + libre movimiento por 7 días + ultrasonido placebo; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días y libre movimiento+aplicación de UST por 7 días. *p<0.05: Diferencias con el grupo de Libre mov. Los valores representan $\bar{x}$±EE.

Figura 25. Análisis del área de dominio nuclear del músculo sóleo (μm^2), por grupo de comparación



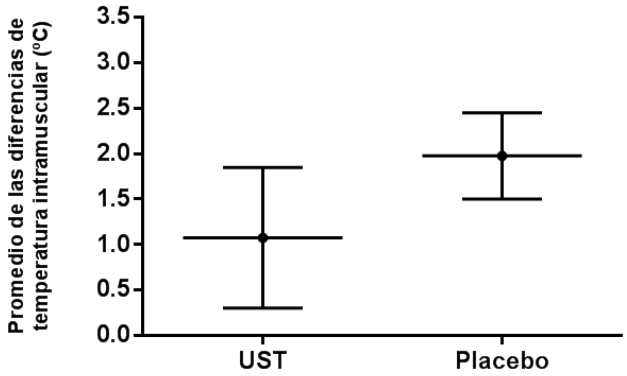
Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización 10 días + libre movimiento por 7 días + ultrasonido placebo; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días y libre movimiento+aplicación de UST por 7 días. *p<0.05: Diferencias con el grupo de Libre mov; † Diferencias con el grupo de Inmov+libre mov+placebo. Los valores representan Me[RIS:RII].

Figura 26. Análisis del área de dominio nuclear del músculo gastrocnemio (µm²), por grupo de comparación



Libre mov: Libre movimiento; Inmov: Inmovilización 10 días; Inmov+libre mov+placebo: Inmovilización 10 días + libre movimiento por 7 días + ultrasonido placebo; Inmov+libre mov+UST: Inmovilización 10 días y libre movimiento+aplicación de UST por 7 días. *p<0.05: Diferencias con el grupo de Libre mov. Los valores representan x̄±EE.

Figura 27. Análisis de las diferencias de la medición de temperatura intramuscular en el grupo de tratamiento con UST y en el grupo de tratamiento con ultrasonido placebo



No hay diferencias entre los grupos de comparación. Los valores representan x̄±EE.

6. DISCUSIÓN

El UST es una forma de energía mecánica que es transmitida a través de ondas acústicas que generan efectos fisiológicos térmicos y no térmicos sobre los diferentes tejidos[134,186]. El UST como modalidad electrofísica ha sido ampliamente utilizado en diferentes situaciones clínicas[24,25,26,27,28], aunque la evidencia científica que soporta su aplicación es escasa[24,26,33,132-135].

El tratamiento convencional después de un periodo de inmovilización, generalmente incluye el uso del UST, sin embargo, su efecto sobre el tejido muscular se encuentra recientemente en investigación[35,36,187]. Con el mismo modelo de inmovilización utilizado en este estudio, Cunha y col.[35] encontraron una atenuación de la progresión de la atrofia muscular cuando se aplicó UST junto con estiramiento mantenido como protocolo de removilización de 2 semanas, posterior a un periodo de inmovilización de 15 días. Sakamoto y col.[36] encontraron que el UST puede inhibir la progresión de la atrofia inducida por disminución de uso en el músculo gastrocnemio, a través del incremento de las proteínas de shock térmico HSP70 con un posible efecto sobre la aceleración en la síntesis de proteínas e inhibición de la proteólisis. El último estudio señala que el UST aplicado durante un periodo de 4 semanas de inmovilización unilateral, inhibe de forma parcial el desarrollo de la atrofia muscular a través de la activación de las células satélite[187].

Para nuestro conocimiento, ningún estudio ha explorado los efectos del UST como única modalidad terapéutica una vez finalizada la inmovilización, lo cual es el protocolo tradicional de atención en Fisioterapia. Por tanto, el objetivo del presente

[186] MONTALTI, Camila; SOUZA, Natália; RODRIGUES, Natália; FERNANDES, Kelly; TOMA, Renata; RENNO, Ana. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on injured skeletal muscle. En: Brazilian Journal of Physical Therapy. Julio-Agosto, 2013. vol. 17, no.4,343-350.
[187] MATSUMOTO, Yoko, et al. The non-thermal effects of pulsed ultrasound irradiation on the development of disuse muscle atrophy in rat gastrocnemius muscle. En: Ultrasound In Medicine & Biology. Julio, 2014. vol.40, no.7, p.1578-1586.

estudio fue determinar el efecto de siete sesiones diarias consecutivas de UST a una dosis energética específica de 300 joules, sobre la capacidad funcional y la morfología del músculo esquelético después de 10 días de inmovilización.

El modelo de inmovilización utilizado en este estudio, propuesto por Coutinho y col. en el año 2002, es un dispositivo que permite mantener en acortamiento los músculos soleo y gastrocnemio[106,130]. Entre las ventajas de este modelo se encuentran el bajo peso de los materiales utilizados y su fácil fijación en el animal. El peso del modelo descrito por Coutinho y col.[130] es de 12 gramos y corresponde aproximadamente al 4% del peso corporal (ratas Wistar de 291±35 gr). Así mismo, Benedini y col.[154] reportan un peso del modelo de 20 gr, correspondiente a aproximadamente el 35% del peso del animal (ratas Wistar de 54.1±3.2 gr. En el presente estudio, aunque el peso del modelo fue ligeramente mayor (35±3.9 gr), correspondió solamente al 11.4 % del peso corporal del animal (ratas Wistar de 306±38.3 gr), logrando un menor peso relativo del dispositivo con respecto a los estudios que previamente utilizaron este mismo modelo.

Los animales que fueron sometidos a inmovilización, presentaron una disminución significativa del peso corporal durante los primeros 4 días; en este periodo de adaptación, los animales disminuyeron el movimiento libre por la jaula y la frecuencia de alimentación y consumo de agua. Adicionalmente, los resultados en este estudio muestran una disminución del peso corporal entre 6.5 y 15.5% al final de los 10 días de inmovilización. Estudios publicados anteriormente con este modelo reportan que el peso corporal de los animales se redujo en 12±6% después de 21 días consecutivos de inmovilización[106,130]. Estos resultados sugieren que el dispositivo de inmovilización induce un periodo de hipocinesia e hipodinamia mientras los animales se adaptan al modelo utilizado, que ocurrió en este estudio a partir del 5º día, momento en el cual el peso corporal aumentó paulatinamente de forma proporcional a los días de inmovilización.

Aunque en este estudio se observó un aumento progresivo del peso corporal, el incremento del peso en los animales en los grupos que incluyeron inmovilización no alcanzó el peso logrado en el grupo de animales que permaneció durante los 18 días con libre movimiento. Utilizando el mismo modelo, Benedini y col.[154] reportaron que con 31 días de seguimiento, el peso obtenido en los animales del grupo inmovilizado (78±5,8 gr), correspondió solo al 40% del total de ganancia de peso obtenida en los animales del grupo control (119±5.1 gr). Así mismo, otros estudios han demostrado que con la suspensión de las patas posteriores, hay una tasa de crecimiento más lenta durante los primeros 3 a 4 días del experimento y posteriormente, se da de forma similar a los animales no inmovilizados[76,188]. En este estudio, el comportamiento del peso corporal para los animales de los grupos de comparación que fueron inmovilizados fue similar; de esta forma, se confirmó que la aplicación del UST no tuvo en efecto sistémico que generara cambios en el peso corporal, justamente por su efecto localizado en el segmento que fue intervenido.

Se ha descrito desde estudios previos y por observación en la clínica, que los modelos de inmovilización generan cambios en la funcionalidad del músculo esquelético[101], sin embargo, la evidencia científica revisada con relación a la evaluación del desempeño motor y de la fuerza máxima en modelos animales en condiciones de inmovilización es escasa[189].

La evaluación en un dispositivo como el Rotarod ha sido utilizada ampliamente para evaluar el desempeño motor en roedores, principalmente ante efectos

[188] THOMASON, D; BOOTH, Frank. Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. En: Journal of applied physiology. Enero, 1990. vol. 68, 1, p. 1-12.
[189] LANG, G BALDWIN, Kenneth; HERRICK, Robert; ILYINA-KAKUEVA, Eli; OGANOV, Victor. Effects of zero gravity on myofibril content and isomyosin distribution in rodent skeletal muscle. En; The Faseb Journal. Enero, 1990. vol.4, no.1,p.1479–1483.Guillaume; DERNONCOURT, Valerie; BISSON, Jean. Negative effect of clenbuterol on physical capacities and neuromuscular control of muscle atrophy in adult rats. En: Muscle & Nerve. 2014. doi: 10.1002/mus.24273.

farmacológicos (relajantes del músculo esquelético, anticonvulsivantes y antidepresivos)[190,191]. También es considerada como evaluación indirecta del balance, la fuerza muscular, el patrón de marcha y la retroalimentación sensorial[160]. En el presente estudio, la evaluación del desempeño motor fue realizada antes de la ubicación del modelo y posterior a su retiro. De acuerdo con los resultados encontrados, hubo una disminución del desempeño motor de los animales de todos los grupos de comparación. Sin embargo, esta diferencia se hizo más evidente en el grupo que incluyó solamente la inmovilización por 10 días, observándose una disminución de aproximadamente 90% del desempeño motor de los animales en comparación con su evaluación inicial. De igual forma, en este mismo grupo se encontró una disminución del 83% del desempeño motor final normalizado por el desempeño motor inicial con respecto al grupo de libre movimiento. Un estudio realizado por Lang y col.[189] demostró que utilizando un modelo de inmovilización unilateral por 20 días, el desempeño motor disminuyó aproximadamente 45% en comparación con el grupo no inmovilizado. Estos resultados sugieren que el modelo utilizado en este estudio, causó una alteración representativa sobre el desempeño motor de los animales, posiblemente relacionada con el tipo de inmovilización, lo que pudo influir negativamente en el desempeño frente a la tarea y por tanto, reducir la posibilidad de un efecto positivo del UST sobre el desempeño motor.

Lang y col.[189] demostraron también que con dos semanas de removilización, después de 20 días de inmovilización, no se encontraron diferencias en el desempeño motor con el grupo no inmovilizado. En el presente estudio, el desempeño motor de los grupos de animales que tuvieron libre movimiento por 7

[190] MIZOGUCHI, Kazushige; YUZURIHARA, Mitsutoshi; ISHIGE, Atsushi, SASAKI, Hiroshi; TABIRA, Takeshi. Chronic stress impairs rotarod performance in rats: Implications for depressive state. En: Pharmacology Biochemistry and Behavior. Enero-Febrero, 2002. vol. 71, p.79–84.
[191] BOHLEN, Martin; CAMERON, Andy; METTEN, Pamela; CRABBE, John; WAHLSTEN, Douglas. Calibration of rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination. En: Journal of neuroscience methods. Marzo, 2009. vol.178, no.1, p.10–14.

días y por 18 días fue de aproximadamente 50% con respecto a su evaluación inicial. Algunos autores sugieren que los cambios en el desempeño motor pueden darse probablemente a una condición de estrés, por alteración del sistema serotoninérgico a nivel del SNC[190,191,192]. Sin embargo, el estrés del animal frente a una tarea depende en gran medida de la habilidad del evaluador en la manipulación continua de los animales durante el seguimiento. En este estudio, esta condición fue controlada a través del entrenamiento previo de la investigadora principal en la manipulación, administración de sustancias y cuidado del bienestar de los animales durante el desarrollo del proyecto.

Adicionalmente, se ha descrito en la literatura que la evaluación del desempeño motor requiere una sesión inicial de entrenamiento repetitiva con periodos de reposo para realizar los ajustes para la ejecución de la tarea. Así mismo, se ha encontrado que los roedores tienen la capacidad de desarrollar los requerimientos necesarios para un óptimo desempeño con solo un día de entrenamiento y no necesitan re-entrenamiento debido a que recuerdan la tarea por largos periodos de tiempo[192,193,194]. De acuerdo con ello, en este estudio se realizó la sesión de entrenamiento tal como está descrita en la literatura, dado que el objetivo no era un entrenamiento en un proceso de aprendizaje o un cambio en el comportamiento, por tanto, no constituye una razón que explique la disminución del desempeño motor.

En este estudio, se incluyó la medición del desempeño motor a través de una aceleración constante (1cm/seg^2) debido a que se incrementa la complejidad de la

[192] ROZAS, Grey; GUERRA, María; LABANDEIRA-GARCÍA, José.. An automated rotarod method for quantitative drug-free evaluation of overall motor deficits in rat models of parkinsonism. En: Brain Research Protocols. Diciembre, 1997. vol.2, no.1 p.75–84.
[193] BUITRAGO, Manuel; SCHULZ, Jörg; DICHGANS, Johannes; LUFT, Andreas. Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm. En: Neurobiology of Learning and Memory. Mayo, 2004. vol.81, p.211–216.
[194] JANG, Young, et al. Dietary restriction attenuates age-associated muscle atrophy by lowering oxidative stress in mice even in complete absence of CuZnSOD. En: Aging Cell. Agosto, 2012. vol,11, no.5, p.770–782.

tarea y los animales requieren adaptarse continuamente a los cambios en la velocidad y deben realizar diferentes estrategias de agarre a medida que la velocidad del cilindro aumenta[160]. Para que los animales realicen adecuadamente la marcha, deben posicionar acertadamente las cuatro patas para mantener el balance y la velocidad[194]. En este estudio se observó que posterior al retiro de la inmovilización, los animales inclinan su cuerpo hacia delante y hacia abajo durante la rotación del cilindro. Estas adaptaciones fueron realizadas debido posiblemente a que si la inmovilización conlleva a la disminución de la masa muscular se genera un descenso en el número de fibras que pueden activarse para la contracción muscular y de esta manera se altera el patrón de marcha para la ejecución de la tarea.

Como se explicó anteriormente, la disminución del uso a través de un modelo de inmovilización del músculo esquelético, genera una disminución de la capacidad funcional, debido a un efecto negativo sobre la relación contracción/relajación que afecta el desempeño motor[100]. Así mismo, se produce una alteración en el reclutamiento de las unidades motoras y en la tasa de disparo de las motoneuronas, que altera las propiedades elásticas de los músculos e impacta negativamente y de manera directa en la producción de fuerza[82,194]. En el presente estudio, las propiedades mecánicas de los músculos sóleo y gastrocnemio fueron medidas a través del pico máximo de tensión en una contracción. Sin embargo, el análisis de estos resultados no detectó diferencias entre el grupo de libre movimiento y el grupo de inmovilización por 10 días más libre movimiento por la jaula durante 7 días con o sin aplicación de ultrasonido placebo. Estos datos fueron consistentes con el estudio realizado por Carvalho y col.[196] quienes demostraron que con un periodo de 14 días de inmovilización y luego 10 días de removilización, el músculo gastrocnemio regresó a sus propiedades elásticas pre-existentes.

Los músculos sóleo y gastrocnemio fueron seleccionados para la medición del pico máximo de tensión debido a que trabajan generalmente en condiciones físicas extremas con gran riesgo de sufrir lesiones o rupturas y por lo tanto, están propensos a requerir periodos de inmovilización[195]. La técnica utilizada en este estudio representó una ventaja debido a la posibilidad que tiene de conservar el origen e inserción ósea de los músculos y facilitar su fijación. Sin embargo, los resultados de este estudio mostraron que aunque todos los grupos fueron evaluados bajo las mismas condiciones, el grupo que incluyó la intervención con UST mostró una menor capacidad de generar tensión. El pico máximo de tensión en una contracción que puede alcanzar un músculo se da principalmente a partir de una contracción sincronizada de la mayor cantidad de unidades motoras. Lima y col[195], describen que una carga mecánica impuesta a un músculo en condición de disminución de uso, puede conducir a lesiones musculares transitorias con incapacidad para desarrollar una fuerza isométrica máxima. Debido a que el UST funciona como estímulo mecánico sobre el músculo esquelético, es probable que esta modalidad contrarrestara el efecto generado por el libre movimiento. Así mismo, esta respuesta puede estar relacionada con la posición de acortamiento en la cual se mantuvo la pata durante la inmovilización[195]. Jarvinen y col.[11] establecen que hay un aumento en el tejido conectivo cuando el músculo es inmovilizado en posición de acortamiento y por lo tanto puede ser menos elástico.

Aunque en el presente estudio no se realizó una medición directa del tejido conectivo, se observó un incremento de éste en los músculos inmovilizados. La proliferación del tejido conectivo intramuscular después de la inmovilización se ha relacionado con la disminución de la actividad contráctil, ya que el incremento de la densidad del área del tejido ocurre rápidamente con 2 días de inmovilización,

[195] LIMA, Silvia, et al. Short-term immobilization causes morphometric and mechanical alterations on rat muscles. En: Brazilian Journal of Physical Therapy. Julio, 2007. vol. 11, no. 4, p.261-266.

precediendo las adaptaciones que ocurren en las sarcómeras[11,195]. Adicionalmente, se reduce también la carga mecánica que afecta la proliferación del tejido muscular una vez que regula la producción de factores de crecimiento y síntesis de colágeno. En este sentido, los fibroblastos, sujetos de la tensión muscular pasiva y activa, tienen su metabolismo alterado con la disminución de la tensión causada por la inmovilización, la cual incurre en un incremento en la densidad del área de tejido conectivo intramuscular[195]. De esta forma, posterior a un periodo de inmovilización, puede encontrarse una pobre organización del tejido y así, una reducción en la capacidad de soportar una carga específica[195]. Si el efecto biológico del UST fue dado a partir de un efecto mecánico, es posible que se haya generado un incremento desorganizado de la actividad fibroblástica debido al periodo de inmovilización y de esta manera, generar un impacto negativo en la producción de la tensión en una contracción.

Similar a los resultados encontrados en la evaluación del desempeño motor, la evaluación del pico máximo de tensión en el grupo que incluyó UST, presentó una menor variabilidad en los datos. De acuerdo con Carvalho y col.[196] podría deducirse que una demanda específica como la inmovilización junto con la aplicación del UST proporciona al músculo un comportamiento más homogéneo en comparación con los otros grupos.

El modelo utilizado en este estudio indujo una disminución significativa de la masa muscular medida a través del peso húmedo y del área de sección transversa de los músculos sóleo y gastrocnemio. Estas adaptaciones dependen de la posición de la articulación, el tipo de músculo involucrado y el tiempo de permanencia con el modelo[106,197].

[196] CARVALHO, Claudia; SHIMANO, Antonio; VOLPON, José. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algunas propriedades mecânicas do músculo esquelético. En: Annual Review of Biomedical Engineering. Mayo-Agosto, 2002, vol.18, p.65-73.
[197] REICH, Kimberly. Molecular Changes Following Skeletal Muscle Disuse in Humans. Trabajo de grado Doctor en Fisiología. Massachusetts: Universidad de Massachusetts. Programa de Kinesiología; 2009.

En este estudio, se demostró una disminución significativa del peso húmedo de los músculos sóleo y gastrocnemio al ser mantenidos en posición acortada. En el músculo sóleo, se encontró una pérdida del 59.5% de la masa muscular en los animales inmovilizados por 10 días en comparación con animales con libre movimiento por la jaula. En el caso del músculo gastrocnemio, la disminución del peso húmedo fue de 44.5%. Previos estudios han mostrado resultados similares; Fitts y col.[83] reportaron que en condiciones de disminución de gravedad, el peso húmedo del sóleo en los animales presentó un rápido descenso que correspondió al 37% con tan sólo 4 a 7 días de inmovilización. Bialek[198] también encontró que en ratones C57Bl/6 de 8 semanas de edad con inmovilización unilateral de la pata posterior, la masa muscular del gastrocnemio disminuyó aproximadamente un 58% en comparación con la pata contralateral, con 14 días de inmovilización. De acuerdo con Reich[197], la pérdida de masa muscular en la pata posterior de los animales puede estar entre 35 – 45% en menos de 2 semanas de inmovilización. Así, se concluye que la posición de acortamiento logra mayores adaptaciones en el tejido muscular en respuesta a la inmovilización, cuando se compara con las posiciones neutra o alargada[82,95,195,197].

Cabe resaltar que en el presente estudio, 10 días de inmovilización lograron efectos negativos en la masa de los dos músculos evaluados. Un estudio previo realizado por Gomes y col.[106] encontró cambios morfológicos de las fibras musculares más pronunciados cuando los músculos fueron inmovilizados por 21 días que cuando fueron inmovilizados por 28 días. Por tanto, podría deducirse que no hay una relación proporcional entre el grado de disminución del peso húmedo con el tiempo de inmovilización.

[198] BIALEK, Peter, et al. Distinct protein degradation profiles are induced by different disuse models of skeletal muscle atrophy. En: Physiological Genomics. Octubre, 2011. vol.43, no.19, p.1075–1086.

Los cambios en el área de sección transversa parecen estar explicados por la composición y ubicación espacial de los músculos sóleo y gastrocnemio en la pata del animal. El músculo sóleo de las ratas está compuesto por fibras lentas oxidativas y su disposición es monoarticular; el músculo gastrocnemio está compuesto por fibras predominantemente rápidas y su disposición es biarticular[76]. En modelos de suspensión de las patas posteriores de los animales, se ha encontrado que la disminución de la masa muscular es inducida en mayor proporción en los músculos donde predominan las fibras musculares lentas oxidativas que tienen un papel importante postural y antigravitatorio[76]. No obstante, los resultados encontrados en este estudio, no están de acuerdo con el planteamiento realizado por estos autores, debido posiblemente a las diferencias en el modelo utilizado; Guillot y col.[76] usaron un modelo de suspensión de las patas posteriores que depende directamente de la fuerza de gravedad, a diferencia del modelo de Coutinho y col.[130] donde la inmovilización se da través del mantenimiento de la pata en una posición acortada sin tener en cuenta el efecto generado por la gravedad.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que solo el músculo sóleo de los animales del grupo que fue intervenido con UST, no presentó diferencias con el grupo de libre movimiento. Aunque los efectos fisiológicos del UST no han sido probados en modelos de atrofia muscular, si se ha encontrado que puede estimular la proliferación de células miogénicas en el tejido muscular[31]. Así mismo, se le atribuyen efectos sobre la regeneración del tejido e incremento en la síntesis de proteínas[132,134,137,186]. Estudios previos que también han evaluado la inmovilización en posición acortada, han encontrado una reducción en la longitud de la fibra muscular y atrofia muscular, asociados a un incremento en la proteólisis más que con una disminución en la síntesis de proteínas[199]. En este estudio, la medición del contenido proteico total de los músculos sóleo y gastrocnemio no mostró diferencias

[199] GOMES, Anna; CORNACHIONE, Anabelle; SALVINI, Tania; MATTIELO, Ana. Morphological effects of two protocols of passive stretch over the immobilized rat soleus muscle. En: Journal of Anatomy. Marzo, 2007. vol.210, no.3, p.328 –335.

entre los grupos de comparación. Estos hallazgos son comparables con el estudio realizado por Thomason y col.[188] quienes encontraron que en animales con suspensión de las patas posteriores, la concentración total de proteína del sóleo no cambió después de 6 a 7 días de descarga de peso; con 14 días de descarga disminuyó el 30% y con 6 semanas de descarga incrementó un 35%.

La proteína miofibrilar representa más del 50% de la proteína muscular total. En condiciones de atrofia muscular, la pérdida más rápida se da en esta proteína en comparación con las otras proteínas musculares[200]. Posiblemente, en el presente estudio no se detectaron cambios en el contenido proteico de ambos músculos debido a la no diferenciación de la proteína miofibrilar. Thomason y col.[188] encontraron que después de 28 días de suspensión de las patas posteriores, la pérdida de proteína miofibrilar en el músculo sóleo fue de 80% en ratas hembra adultas y del 63% después de 42 días de suspensión en ratas hembra jóvenes, ocurriendo una pérdida preferencial de proteína miofibrilar relativa a la proteína total. Así mismo, encontró que con 6 días de suspensión de las patas posteriores, la proteína de la fracción sarcoplásmica no cambió mientras que la proteína miofibrilar del sóleo disminuyó un 20%. De acuerdo con esto, algunos autores establecen que la fracción miofibrilar puede ser un punto objetivo del proceso de degradación de proteínas y por tanto, en este estudio no fueron encontradas diferencias en ambos músculos entre los grupos de comparación al realizar una medición de contenido proteico total[199-200].

Dentro de la literatura revisada solo fue encontrado un estudio que evaluó el efecto del UST sobre la producción de proteína, sin embargo, este fue en condiciones de lesión muscular[29]. Los autores demostraron que el UST estimula una producción

[200] BALDWIN, Kenneth; HERRICK, Robert; ILYINA-KAKUEVA, Eli; OGANOV, Victor. Effects of zero gravity on myofibril content and isomyosin distribution in rodent skeletal muscle. En; The Faseb Journal. Enero, 1990. vol.4, no.1,p.1479–1483.

significativa de proteína contráctil; dentro de las primeras 48 horas seguidas al trauma, el proceso inflamatorio permite que las células inflamatorias remuevan el tejido dañado, a expensas de la proteólisis lisosomal asociada a los macrófagos. Después de esto, el músculo puede producir nuevas proteínas. Los autores se remiten a estudios que han demostrado que el incremento en la proteína miofibrilar está asociado a la producción de células satélite de las miofibrillas, la cual podría ser incrementada con la aplicación de UST.

Dependiendo del modo de aplicación del UST, se presentan efectos térmicos y no térmicos que pueden generar un grado de calentamiento en el tejido acompañado del estímulo mecánico[143]. El incremento de la temperatura producido por la absorción del UST varía en función del tejido sobre el cual se aplique, la frecuencia, la intensidad y la duración del tratamiento[201],[202]. Por esta razón, el incremento en la temperatura puede ocurrir tanto con la aplicación de UST en modo continuo como en modo pulsado[27]. En este estudio, bajo los parámetros establecidos previamente, no se encontraron diferencias en la temperatura intramuscular cuando fue aplicado el UST y el ultrasonido en modo placebo, determinando posiblemente que el efecto que predominó bajo la dosis energética utilizada en el UST fue de carácter mecánico.

Los efectos no térmicos incluyen la cavitación y la transmisión mecánica y/o acústica[24, 26, 27,137]. Dyson y col. reportados por Fisher y col.[29] encontraron que los efectos benéficos del UST se dan por la cavitación estable puesto que se mantiene la integridad de las ondas acústicas; así mismo, los efectos no térmicos están relacionados directamente con la estimulación de la síntesis de proteínas debido a

[201] CAMERON, Michelle H. Ultrasound. En: Physical Agents in Rehabilitation: From Research to Practice. 4 edición. Filadelfia: WB. Saunders, 1999. p. 173-198.
[202] DRAPER, David; CASTEL, Chris; CASTEL, Dawn. Rate of temperature increase in human muscle during 1 MHz and 3 MHz continuous ultrasound. En: Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy. Octubre,1995. vol.22, no.4, p.142-150.

los cambios producidos en la membrana celular por la presión mecánica. De esta manera, el efecto vibratorio de alta frecuencia que se genera sobre el tejido puede producir un efecto de micromasaje que estimule los mioblastos para donar o producir células satélite, que bajo la influencia de varios factores de crecimiento, pueden ser activadas por el estímulo mecánico generado por el UST y entrar en la fase de replicación del ciclo celular[53,54,55,58].

Ante la inmovilización, el músculo esquelético también soporta diferentes transformaciones como la disminución de las propiedades contráctiles (potencia y capacidad de trabajo), rigidez del músculo y de las miofibrillas y una significativa disminución del número de mionúcleos así como también del tamaño del músculo representado en el área de sección transversa[17,85,203].

En el presente estudio, se observó que el AST de los músculos sóleo y gastrocnemio en los grupos de animales que incluyeron inmovilización por 10 días mostraron diferencias con el grupo de libre movimiento. Estos resultados son comparables con los encontrados por Gomes y col.[199], quienes utilizando el modelo de inmovilización descrito por Coutinho y col.[130] que fue empleado también este estudio, encontraron una disminución del AST de los diferentes tipos de fibras musculares (I, II y C) de todos los grupos en comparación con respecto al grupo control. Así mismo, observaron segmentos de miofilamentos dañados, cambios focales degenerativos y anormalidades ultraestructurales en las miofibrillas con tan solo 5 días de inmovilización[199]. Aunque estas estructuras no fueron evaluadas en el presente estudio, si se observó un incremento en el espacio intersticial.

[203] SHENKMAN, Barry; TURTIKOVA, Orlich; NEMIROVSKAYA, Terry; GRIGORIEV, Andrew.Skeletal Muscle Activity and the Fate of Myonuclei. En: Acta Naturae. Julio, 2010. vol.2, no.2, p.59-65.

La función que realiza cada músculo para efectuar un movimiento también está relacionada con el grado de atrofia muscular. Phillips y col.[204] demostraron que en los músculos sóleo y gastrocnemio cuya función principal es la plantiflexión, la masa muscular disminuye más rápidamente que en los músculos extensores como el tibial anterior y el extensor longo de los dedos. Estos datos soportan los resultados encontrados en el presente estudio, debido a que no se encontró una respuesta diferencial en el AST de los músculos sóleo y gastrocnemio entre los grupos de comparación que incluyeron inmovilización.

En condiciones de atrofia muscular, se han reportado cambios en el número de mionúcleos bajo diferentes modelos de disminución de la actividad muscular[205,206]. La teoría del área de dominio nuclear establece que cada núcleo del músculo esquelético gobierna un área alrededor del citoplasma y produce suficiente proteína para soportar el área limitada de citoplasma y proteínas estructurales dentro del dominio local[203,205]. Debido a que los mionúcleos son post-mitóticos e incapaces de dividirse y replicarse, estos permanecen esenciales para la homeóstasis, mantenimiento y respuestas adaptativas del músculo esquelético[205]. Así mismo, los mionúcleos contienen también el núcleo de los fibroblastos, células endoteliales y las células satélite. En teoría, como resultado de disminución de uso o sobrecarga, la masa del músculo esquelético puede modificarse debido a un cambio en el número de mionúcleos o alteraciones en las tasas de transcripción, translación y proteólisis[203]. Con el modelo de inmovilización utilizado en el presente estudio, se observó una disminución del área de dominio nuclear en los músculos sóleo y

[204] PHILLIPS, Stuart; GLOVER, Elisa; RENNIE, Michael. Alterations of protein turnover underlying disuse atrophy in human skeletal muscle. En: Journal of Applied Physiology. Septiembre, 2009. vol.107, no.3, p.645–654.
[205] BROOKS, Naomi; MYBURGH, Kathryn. Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: The response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways. En: Frontiers in physiology. Marzo, 2014, vol.5, p.1-14.
[206] ALLEN, David; ROY, Roland: EDGERTON, Reggie. Myonuclear Domains In Muscle Adaptation And Disease. En: Muscle Nerve. Octubre, 1999. vol.22, p.1350–1360.

gastrocnemio en los grupos con inmovilización en comparación con el grupo de libre movimiento.

Un estudio realizado por Wang y col.[57] describió una reducción de aproximadamente el 25% del área de dominio nuclear de las fibras musculares del sóleo después de 16 días de suspensión de las patas posteriores, en comparación con el grupo control. Así mismo, Hikida y col.[207] plantearon que la atrofia muscular se da debido a una disminución en el número de mionúcleos por miofibra acompañado del desarrollo de un proceso apoptósico en el mionúcleo. Sin embargo, el mecanismo fisiológico bajo el cual se presenta la pérdida de mionúcleos en las miofibrillas aún no es totalmente claro precisamente por la selectividad de los mionúcleos para eliminarse sin la destrucción de todos los núcleos o de toda la fibra muscular[208]. No obstante, estos resultados son controversiales puesto que aunque algunos autores establecen que ocurre una disminución del número de mionúcleos para mantener el balance homeostático del área de dominio mionuclear[57,208], un estudio realizado por Bruusgaard y col.[109] encontró que el número de mionúcleos persiste aunque ocurra una reducción de la masa muscular. La cantidad de mionúcleos es muy importante dado que ésta determina el contenido de ADN para la transcripción genética. La interacción entre el tamaño de la fibra y el número de mionúcleos describe el mecanismo de plasticidad muscular y la disminución del área de dominio nuclear puede resultar en una alteración en el balance entre la síntesis y degradación de proteínas[57,203]. Sin embargo, en el presente estudio no fueron observados efectos positivos sobre el AST de los músculos sóleo y gastrocnemio en el grupo que recibió la intervención con UST. Posiblemente, el estímulo

[207] HIKIDA, Robert; VAN NOSTRAN, Sharon; MURRAY, Jerry; STARON, Robert; GORDON, Scott; KRAEMER, William. Myonuclear Loss in Atrophied Soleus Muscle Fibers. En: The Anatomical Record. Marzo, 1997. vol.247, no.3, p.350-354.
[208] FERREIRA, Rita; NEUPARTH, Maria; VITORINO, Rui; APPELL, Hans; AMADO, Francisco; DUARTE, José. Evidences of Apoptosis during the Early Phases of Soleus Muscle Atrophy in Hindlimb Suspended Mice. En: Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca, Julio,2008. vol.57, no.4,p.601-611.

producido por el UST no fue suficiente para generar un cambio en el área de dominio nuclear que depende directamente de la reducción en paralelo del AST y del número de mionúcleos por fibra muscular[57].

En el presente estudio, el modelo de inmovilización indujo una disminución de la masa muscular del sóleo y del gastrocnemio con efectos negativos sobre sus variaciones histológicas y sobre la capacidad funcional del músculo esquelético de los animales evaluados. La aplicación de una modalidad terapéutica como el UST a una dosis de 300 joules no tuvo diferencias representativas en comparación con la aplicación del ultrasonido placebo puesto el estímulo mecánico no fue suficiente para generar cambios sobre el músculo esquelético que pudieran contrarrestar las alteraciones generadas por la inmovilización sobre el desempeño motor, el pico máximo de tensión, contenido proteico total y áreas de sección transversa y dominio nuclear de los músculos sóleo y gastrocnemio. Es posible que la dosis del UST aplicada posterior al retiro de la inmovilización no tenga efectos cuando ya se encuentran instauradas las alteraciones fisiológicas y funcionales.

Dentro de las limitaciones y delimitaciones de este proyecto de investigación se encuentra que su ejecución fue un estudio experimental realizado en una cepa de ratas Wistar obtenidas del Bioterio de la Facultad de Salud de la UIS por lo cual no se recomienda extrapolar los resultados encontrados a otros animales de experimentación ni a modelos utilizados en seres humanos. Así mismo, los resultados de este estudio solo aplican para los parámetros de UST con una única dosis con sus parámetros mencionados anteriormente debido a que el objetivo de este estudio estuvo delimitado a examinar el efecto del UST más no de diferentes dosis aplicadas. Una limitación a considerar dentro de esta investigación fue la no asignación aleatoria del grupo de inmovilización por 10 días más libre movimiento y aplicación de UST por 7 días, debido a dificultades técnicas presentadas durante la ejecución del proyecto. Sin embargo, este inconveniente fue controlado a través del

mantenimiento de los animales bajo las mismas condiciones estandarizadas inicialmente.

En condiciones de atrofia muscular inducida por inmovilización, la evidencia científica es escasa y por tanto, las propiedades psicométricas de los instrumentos utilizados para la medición de desempeño motor, pico máximo de tensión en una contracción tetánica y determinación de contenido proteico no han sido evaluadas.

Una fortaleza importante del presente proyecto de investigación, es que en comparación con la literatura revisada, es el primer estudio que plantea determinar cuál es el efecto del UST como única modalidad utilizada durante 7 días consecutivos posterior a un periodo de inmovilización, lo cual fue realizado teniendo en cuenta que en condiciones clínicas, la intervención terapéutica inicia cuando es retirada la inmovilización.

Se propone que futuras investigaciones en esta área incluyan en la evaluación de la función muscular, el análisis del patrón de reclutamiento muscular a través de la electromiografía, con el fin de evaluar el efecto del UST en condiciones de inmovilización y su repercusión sobre la capacidad funcional del músculo esquelético. Así mismo, es prioritario establecer la dosis efectiva del UST en condiciones de plasticidad musculares inducida por estímulos mecánicos, tales como el UST, así como sus posibles mecanismos moleculares de acción, examinando inicialmente su efecto sobre la activación y proliferación de las células satélite, y cambios en el tejido conectivo. Estos estudios deben realizarse en modelos animales y humanos, para así proponer ensayos clínicos controlados que permitan fundamentar la aplicación o no del UST durante y/o después del retiro de inmovilización. El presente estudio, así como la propuesta de futuras investigaciones constituyen un avance científico hacia el fortalecimiento de la práctica basada en la evidencia en Fisioterapia, específicamente en el uso de las modalidades físicas.

7. CRONOGRAMA

Tabla 4. Cronograma de actividades del proyecto

ACTIVIDAD	2012-II	2013-I	2013-II	2014-I	2014-II	2015-I
Desarrollo Propuesta de Investigación						
Entrenamiento en manejo de animales de laboratorio						
Pruebas Piloto						
➢ Estandarización modelo						
➢ Pico máximo de tensión						
➢ Desempeño motor						
➢ Aplicación de UST						
➢ Control de temperatura ambiental						
Estudio reproducibilidad						
➢ Análisis morfométrico						
Aval del comité de ética						
Recolección de Datos						
Procesamiento y análisis de Datos						
Discusión						
Preparación del documento final del trabajo de grado						
Entrega del documento final a la Coordinación del Programa						
Elaboración Articulo Publicación						
Defensa						

8. RESULTADOS ESPERADOS DEL DESARROLLO DEL PROYECTO

De acuerdo con los objetivos y metodología propuesta para el desarrollo del proyecto, los resultados esperados son:

RESULTADOS	DOCUMENTACIÒN DE SOPORTE
Sustentación previa, defensa y un (1) documento del desarrollo de la tesis de Maestría titulada “Efectos del ultrasonido terapéutico sobre la capacidad funcional del músculo esquelético y la atrofia inducida por inmovilización”	Documento final en versión digital entregado a la Coordinación de la Maestría en Fisioterapia
Una (1) publicación científica en revista nacional o internacional indexada	En elaboración
Una (1) ponencia nacional o internacional de los resultados del proyecto.	Memorias en versión digital del poster elaborado para el *2014 Annual Meeting of Southeast Chapter of the American College of Sports Medicine (SEACSM),*
Consolidación de la línea de investigación “Modalidades físicas de rehabilitación y su interacción con los tejidos y plasticidad del sistema músculo-esquelético”, que pertenece al Grupo de Estudio del Dolor, de la Escuela de Fisioterapia de la Universidad Industrial de Santander	CvLac de la investigadora principal y GrupLac actualizado del Grupo de Estudio del Dolor

9. IMPACTO ESPERADO

Tabla 5. Indicadores del impacto esperado con el desarrollo del proyecto.

Impacto esperado	Plazo (años) después de finalizado el proyecto	Indicador verificable	Objetivos
Establecimiento del laboratorio de investigación experimental en modelos animales en la Escuela de Fisioterapia de la UIS.	Corto (1-4 años)	Estandarización de protocolos de manipulación y medición en modelos animales. Alianzas entre grupos de investigación (Grupo de Neurociencias)	Adquisición de equipos requeridos para biología molecular
Generación de nuevos proyectos de investigación en modelos animales	Corto (1-4 años)	Proyectos de investigación aprobados como tesis de Maestría en Fisioterapia y/o aprobados para financiación interna	Fortalecimiento de la Maestría en Fisioterapia

Contribución en la oferta de la Maestría en Fisioterapia	Corto (1-4años)	Desarrollo de una tesis de Maestría	Consolidación de la Maestría en Fisioterapia
Divulgación del conocimiento derivado de la investigación	Corto (1 – 4 años)	Publicación de artículos y ponencias internacionales	Mejoramiento de la visibilidad del programa de maestría. Aporte en la fundamentación científica de la Fisioterapia
Determinación de parámetros de aplicación del UST en condiciones clínicas	Mediano (5-9 años)	Propuesta y desarrollo de ensayos clínicos	Aprobación de proyectos de investigación con financiación
Posicionamiento del Grupo de Estudio de Dolor	Corto (1 – 4 años)	Sostenimiento de la categoría del Grupo y visibilidad internacional	Ampliación de la productividad académica

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

.

ADAMS, Gregory. Satellite cell proliferation and skeletal muscle hypertrophy. En: Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. Diciembre, 2006. vol.31, p.782-790.

ALLEN, David; ROY, Roland: EDGERTON, Reggie. Myonuclear Domains In Muscle Adaptation And Disease. En: Muscle Nerve. Octubre, 1999. vol.22, p.1350–1360.

ALVAREZ, Belém; QUINN, Lebris; BUSQUETS Silvia; LÓPEZ Francisco; ARGILÉS Josep. Direct effects of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) on murine skeletal muscle cell lines. Bimodal effects on protein metabolism. En; European Cytokine Network. Julio – Septiembre, 2001, vol.12, p.399-410.

ÁLVAREZ, Marilyn Evaluación del efecto de la cicloheximida sobre la memoria emocional y la expresión de proteínas en el hipocampo dorsal de ratas wistar expuestas al laberinto en cruz elevado. Trabajo de grado Química. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química, 2012. 114 p.

ANDERSON, Judy. The satellite cell as a companion in skeletal muscle plasticity: currency, conveyance, clue, connector and colander. En: The Journal of Experimental Biology. Enero, 2006.vol.209, p.2276-2292.

ARTIFON, Elisangela; FERRARI, Delsi; MARTINS, Daniela; MERIGO, Cassiane; CHASKO, Lucinéla; FLOR Gladson. Efeitos do ultrassom terapêutico asociados ao alongamento estático sobre parámetros histomorfométricos longitudinais de sóleos imobilizados de ratos. En: Revista Brasileira de Medicina do Esporte. Octubre, 2012.vol.18, p.341-344.

ATES, Kenan, et al. The IGF-I splice variant MGF increases progenitor cells in ALS, dystrophic, and normal muscle. En: FEBS Letters. Mayo,2007.vol.581,p, 2727–2732.

BAKER, Kerry; ROBERTSON, Valma y DUCK, Francis. A Review of Therapeutic Ultrasound: Biophysical Effects. En: Physical Therapy. Julio, 2001, vol. 81 No. 7, p. 1351-1358.

BALDWIN, Kenneth; HERRICK, Robert; ILYINA-KAKUEVA, Eli; OGANOV, Victor. Effects of zero gravity on myofibril content and isomyosin distribution in rodent skeletal muscle. En; The Faseb Journal. Enero, 1990. vol.4, no.1,p.1479–1483.

BASILE, Ugo. Instruction Manual. Via G. Borghi 4321025 COMERIO - Varese, ITALY.2008.

BASTIDE, Bruno: CONTI, Antonio; SORRENTINO, Vincenzo; MOUNIER, Yvone. Properties of ryanodine receptor in rat muscles submitted to unloaded conditions. En: Biochemical and biophysical research communications. Abril, 2000. vol. 270, no.2, p.442-447.

BEEHLER, Blake; SLEPH, Paul; BENMASSAOUD, Latifa; GROVER, Gary. Reduction of Skeletal Muscle Atrophy by a Proteasome Inhibitor in a Rat Model of Denervation. En: Experimental biology and medicine. Marzo, 2006. vol.231, no.3,p.335–341.

BENEDINI, Priscila; CALVENTE, Mariana; SILVEIRA, Anna; MATTIELO, Ana. Changes in postnatal skeletal muscle development induced by alternative immobilization model in female rat. En: Anatomical Science International. Septiembre, 2009.vol.84,no.3, p.218–225.

BIALEK, Peter, et al. Distinct protein degradation profiles are induced by different disuse models of skeletal muscle atrophy. En: Physiological Genomics. Octubre, 2011. vol.43, no.19, p.1075–1086.

BLACK, Kennard; HALVERSON, Judith; MAJERUS, Kimberly: SODERBERG, Gary. Alterations in Ankle Dorsiflexion Torque as a Result of Continuous Ultrasound to the Anterior Tibial Compartment. En: Physical Therapy. Enero,1984. vol.64, p,910- 913.

BOHLEN, Martin; CAMERON, Andy; METTEN, Pamela; CRABBE, John; WAHLSTEN, Douglas. Calibration of rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination. En: Journal of neuroscience methods. Marzo, 2009. vol.178, no.1, p.10–14.

BONALDO, Paolo; SANDRI, Marco. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. En: Disease Models & Mechanisms. Enero, 2013. vol.6, no. 1, p.25-39.

BORGES, Fabrizio: SHIMANO, António; FERRAZ, Celso. Ultra-som terapêutico e imobilização na Reparação do trauma muscular. En: Acta Ortopédica Brasileira. Enero, 2009. vol.17, no.3, p.167-170.

BRITO, Vitor; OLIVEIRA, Belisa; MORAES, Silvia. Effects of immobilization on rat skeletal muscle tissue. En: Journal of Morphological Sciences. Enero, 2011. vol. 28, no. 4, p. 217-221.

BROOKS, Naomi; MYBURGH, Kathryn. Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: The response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways. En: Frontiers in physiology. Marzo, 2014, vol.5, p.1-14.

BRUUSGAARD, Jo; JOHANSEN, Inger; EGNER, Ignacio; RANA, Zoe; GUNDERSEN, Kristian. Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. PNAS. Agosto, 2010. vol.107, no. 34, p.15111-15116.

BUCKINGHAM, Margaret; MONTARRAS, Didier. The origin and genetic regulation of myogenic cells: From the embryo to the adult. En: Skeletal muscle repair and regeneration. 1° Ed. The Netherlands: Springer, 2008. p.19-44.

BUITRAGO, Manuel; SCHULZ, Jörg; DICHGANS, Johannes; LUFT, Andreas. Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm. En: Neurobiology of Learning and Memory. Mayo, 2004. vol.81, p.211–216.

CABRAL, António; MACHADO, Vanessa; FARINHA, Rodrigo; CABRITA, António. Skeletal muscle regeneration: A brief review. En; Experimental Pathology and Health Sciences. Enero, 2008. vol. 2, no. 2, p.9-17.

CAMERON, Michelle H. Ultrasound. En: Physical Agents in Rehabilitation: From Research to Practice. 4 edición. Filadelfia: WB. Saunders, 1999. p. 173-198.

CANADA.CCPA. Responsabilidad para el cuidado y uso de los animales de experimentación: Ottawa; 1968.

CARLSON Bruce. Sistemas tegumentario, esquelético y muscular. En: Embriología humana y biología del desarrollo. 3 ed. Barcelona: Elservier, 2009 .p. 175-212.

CARTER, Rebeca; MORTON, Jennifer; DUNNETT, Stephen. Motor coordination and balance in rodents. En: Current Protocols in Neuroscience. [En línea]. [Agosto 1 de 2001]. Disponible en: doi: 10.1002/0471142301.ns0812s15.

CARVALHO, Claudia; SHIMANO, Antonio; VOLPON, José. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algunas propriedades mecânicas do músculo esquelético. En: Annual Review of Biomedical Engineering. Mayo-Agosto, 2002, vol.18, p.65-73.

CANADA.CCPA. Responsabilidad para el cuidado y uso de los animales de experimentación: Ottawa; 1968.

CHARGÉ, Sophie; RUDNICKI Michael. Cellular and Molecular Regulation of Muscle Regeneration. En: Physiological Reviews. Enero, 2004, vol.84, no.1, p.:209–238.

CHRISTENSEN, Britt, et al. Effects of long-term immobilization and recovery on human triceps surae and collagen turnover in the Achilles tendon in patients with healing ankle fracture. En: Journal of Applied Physiology. Abril, 2008, vol.105, p. 420–426.

CHRISTENSEN, Britt; DYRBERG, Eva; AAGAARD, Per; KJAER, Michael; LANGBERG, Henning. Short-term immobilization and recovery affect skeletal muscle but not collagen tissue turnover in humans. En: Journal of Applied Physiology. Octubre, 2008, vol.105, p.1845–1851.

CHOPARD, Angéle; HILLOCK, Steven; JASMIN, Bernard. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. En: Journal of Cellular and Molecular Medicine. Julio, 2009. vol.13, p.3032-3050.

CLARK, Brian; ISSAC, Lailah: LANE, Jason; DAMRON, Leatha; HOFFMAN, Damron. Neuromuscular plasticity during and following 3 wk of human forearm cast immobilization. En: Journal of Applied Physiology. Julio, 2008. vol.105, p.:868-878.

COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley 84 de 1989. Por la cual se adopta el Estatuto Nacional de Protección de los Animales y se crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia. Bogotá D.C.: El Congreso, 1989. 19 p.

COLOMBIA. Universidad Industrial de Santander. Consejo superior, acuerdo No 047 de 2004: Bucaramanga; 2004.

COLOMBIA. Universidad industrial de Santander. Reglamento para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Bioterio central, departamento de ciencias básicas: Bucaramanga; 2004.

COUTINHO, Eliane; GOMES, Anna; FRANÇA, Carolina; OISHI John; Salvini Tania. Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. En: Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Septiembre, 2004. vol.37,p.1853-1861.

COUTINHO, Eliane; GOMES, Anna; FRANÇA, Carolina; SALVINI, Tania. A new model for the immobilization of the rat hind limb. En: Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Agosto, 2002. vol.35, p.1329-1332.

CRAIG, Jason; BRADLEY, Judith; WALSH, Deirdre; BAXTER, David; ALLEN, James. Delayed onset muscle soreness: lack of effect of therapeutic ultrasound in humans. En: Archives of Physical Medicine and Rehabilitation. Marzo, 1999. vol.80, no.3, p.318-323.

CROS, Nathalie, et al. Upregulation of M-creatine kinase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: two markers of muscle disuse. En: American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 1999, vol.276, p.R308–R316.

CUNHA, Daniela et al. Evaluation of rats' soleus muscle submitted to remobilization protocol with therapeutic ultrasound associated with static stretching. En: Journal of Morphological Science, Enero, 2012.vol.29,p. 53-57.

DA SILVA, Claudia; GUIRRO, Rinaldo; POLACOW, María, Cancelliero Karina, Durigan Joao. Rat hindlimb joint immobilization with acrylic resin orthoses. En: Brazilian journal of medical and biological research. Julio, 2006, vol.39, no.7, p.979-985.

DANTUMA, Nico; LINDSTEN, Kristina. Stressing the ubiquitin-proteasome system. En: Cardiovascular Research. Enero, 2010, vol.85, no.2, p.263–271.

DELGADO-DÍAZ, Diana, et al. Therapeutic ultrasound affects IGF-1 splice variant expression in human skeletal muscle. En:The American Journal of Sports Medicine. Octubre, 2011. vol.10, p.2233-2241.

DESCHENES, Michael; GILES, Jennifer; McCOY, Raymond; VOLEK, Jeff; GOMEZ, Ana; KRAEMER, William. Neural factors account for strength decrements observed after short-term muscle unloading. En. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 2002. vol.282, no.2, p.R578–R583.

DIMOV, Desanka; DIMOV, Irena. Muscle fiber types and fiber morphometry in the soleus muscle of the rat. En: Medicine and Biology. Enero, 2007. vol.14, p.121 – 127.

DITTMER, Douglas; TEASELL, Robert. Complications of Immobilization and bed rest Part 1: Músculoskeletal and cardiovascular complications. En: (anadian Family Physician. Junio,1993. vol. 39;p.1428-1437.

DOMHOLDT, Elizabeth. Statistical Analysis of Differences: The Basics. En: Rehabilitation Research. Principles and Applications. Indianapolis, Indiana: ElSevier Saunders, 3º Ed. 2004.p.303-327.

DOMHOLDT, Elizabeth. Statistical Analysis of Relationships: The Basics. En: Rehabilitation Research. Principles and Applications. Indianapolis, Indiana: ElSevier Saunders, 3º Ed. 2004.p.351-363.

DOMHOLDT, Elizabeth. Statistical Reasoning. En: Rehabilitation Research. Principles and Applications. Indianapolis, Indiana: ElSevier Saunders, 3º Ed. 2004p.277-302.

DRAPER, David and PRENTICE, William. Therapeutic Ultrasound. En: PRENTICE, William. Therapeutic modalities in rehabilitation. Fourth Edition. Bogotá: McGrawHill, 2011. p.360-406.

DRAPER, David; CASTEL, Chris; CASTEL, Dawn. Rate of temperature increase in human muscle during 1 MHz and 3 MHz continuous ultrasound. En: Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy. Octubre,1995. vol.22, no.4, p.142-150.

DUPONT, Esther. Apoptosis in skeletal muscle and its relevance to atrophy. En: World Journal of Gastroenterology. Diciembre, 2006. vol.12, no.46, p.7463-7466.

DUPONT, Esther; HOULÉ, John; GURLEY, Cathy; PETERSON, Charlotte. Early changes in muscle fiber size and gene expression in response to spinal cord transection and exercise. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Octubre, 1998. vol.275, p.C1124–C1133.

ENG, Carolyn; SMALLWOOD, Laura; RAINIERO, María; LAHEY, Michele; WARD, Samuel; LIEBER, Richard. Scaling of muscle architecture and fiber types in the rat hindlimb. En: The Journal of Experimental Biology. Abril, 2008, vol. 211, p.2336-2345.

ESTADOS UNIDOS. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, DC: The National Academies Press; 1996. [acceso 24 mayo 2013]. Disponible en: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=5140.

FERRANTE, María; KIFF, Rebecka; GOULDING, David; STEMPLE, Derek. Troponin T is essential for sarcomere assembly in zebrafish skeletal muscle. Journal of Cell Science. Febrero, 2011. vol.124, p.565-577.

FERREIRA, Rita; NEUPARTH, Maria; VITORINO, Rui; APPELL, Hans; AMADO, Francisco; DUARTE, José. Evidences of Apoptosis during the Early Phases of

Soleus Muscle Atrophy in Hindlimb Suspended Mice. En: Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca, Julio,2008. vol.57, no.4,p.601-611.

FISCHER, Steven; BRENNEMAN, Elora; WELLS, Richard; DICKERSON, Clark. Relationships between psychophysically acceptable and maximum voluntary hand force capacity in the context of underlying biomechanical limitations. En: Applied Ergonomics. Septiembre, 2012.vol,43, no.5, p.813-20.

FISHER, Brian; HILLER, Chad; RENNIE, Sandy. A comparison of continuous ultrasound and pulsed ultrasound on soft tissue injury markers in the rat. En: Journal of Physical Therapy Science. Abril, 2003. vol.15, p.65-70.

FITTS, Robert; RILEY, Danny; WIDRICK, Jeffrey. Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2000. vol.89, no. 2, p.823–839.

FORTIN, Maryse; BATTIÉ, Michele. Quantitative Paraspinal Muscle Measurements: Inter-software reliability and agreement using OsiriX and ImageJ. En: Physical Therapy. Junio, 2012. vol.92, no.6, p.853-864.

FOURNIER, Mario; ROY, Roland; PERHAM, Heidi; SIMARD, Clermont; EDGERTON, Reggie. Is limb immobilization a model of muscle disuse? Experimental neurology. Abril,1983. vol.80, no.1, p.147-156.

FRANCIA. Council of Europe. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Estrasburgo: Council of Europe, 1986. 13 p.

FRANCIA. EL PARLAMENTO EUROPEO Y EL CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA, Directiva 2010/63/Ue del Parlamento Europeo Y del Consejo. Relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. Estrasburgo: Diario oficial de la unión europea, 2010. 47 p.

FRANCIA. GUIDELINES FOR ACCOMMODATION AND CARE OF ANIMALS. Of the european convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS 123), apendix A: Estrasburgo, Strasbourg: Guidelines for accommodation and care of animals, 2006. 109 p.

FRANCIA. UNESCO. Declaración universal de los derechos de los animales. Considerando que todo animal posee derechos París: 1978. 1p.

FREITAS, Luciana; FREITAS, Tiago; SILVEIRA, Paulo, ROCHA, Luís; PINHO, Ricardo; STRECK, Emilio. Effect of therapeutic pulsed ultrasound on parameters of

oxidative stress in skeletal muscle after injury. En: Cell Biology International. Mayo, 2007. vol.31, no.5, p.482-488.

GARCÍA, Raimundo. Coloraciones histopatológicas rutinarias de mayor interés. En: Manual de laboratorio clínico diagnóstico. Colombia: McGraw-Hill, 1°Ed,1993. p.89-118.

GARCÍA, Raimundo. Coloraciones histopatológicas rutinarias de mayor interés. En: Manual de laboratorio clínico diagnóstico. Colombia: McGraw-Hill, 1°Ed,1993. p.155-174.

GERSTNER, Juan. Nueva técnica asistida por artroscopia para la inestabilidad de tobillo. En: Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología. Enero: 2004. vol.18, p.68-76.

GLASS, David. Signaling pathways perturbing muscle mass. En: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. Mayo, 2010, vol.13, no.3, p.225-229.

GOMES, Anna; CORNACHIONE, Anabelle; SALVINI, Tania; MATTIELO, Ana. Morphological effects of two protocols of passive stretch over the immobilized rat soleus muscle. En: Journal of Anatomy. Marzo, 2007. vol.210, no.3, p.328 –335.

GOMES, Anna; COUTINHO, Eliane; FRANÇA, Carolina, POLONIO John; SALVINI, Tania. Effect of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. En. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Diciembre, 2004, vol.37, no.12, p.1473-1480.

GORZA, Luisa. Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. En: The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Febrero, 1990. vol.38, no.2, p.:257-265.

GRAU, Ameilia; GUERRA, Borja; LÓPEZ, José. Papel de las células satélite en la hipertrofia y regeneración muscular en respuesta al ejercicio. En: Archivos de Medicina del Deporte. Enero, 2007. vol.24, no. 119, p.187-196.

GUILLOT, Chantal; STEINBERG, Jean: DELLIAUX, Stephane: KIPSON, Nathalie; JAMMES, Yves; BADIER, Monique. Physiological, histological and biochemical properties of rat skeletal muscles in response to hindlimb suspensión. En: Journal of electromyography and kinesiology. Abril, 2008. vol.18, no.2, p.276–283.

HADDAD, Fadia; ROY Roland; ZHONG, Hu; EDGERTON, Reggie; BALDWIN Kenneth. Atrophy responses to muscle inactivity. I. Cellular markers of protein deficits. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2003. vol.95, no.2, p.781–790.

HAMMED, Meera; ORRELL, Richard; COBBOLD, Matthew; GOLDSPINK Geoffrey; HARRIDGE, Stephen. En: Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. The Journal of Physiology. Febrero, 2003. vol.547, no. 1, p.247–254.

HAWKE, Thomas, GARRY, Daniel. Myogenic satellite cells: Physiology to molecular biology. En: Journal of Applied Physiology. Agosto, 2001. vol, 191, no.2, p:534–551.

HENDY, Ashlee; SPITTLE, Michael; KIDGELL, Dawson. Cross education and immobilisation: Mechanisms and implications for injury rehabilitation. En; Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia. Marzo, 2012, vol.15, no. 2, p.94–101.

HERNÁNDEZ, Mauricio; GARRIDO, Francisco; SALAZAR, Eduardo. Sesgos en estudios epidemiológicos. En: Salud Pública de México. Septiembre-Octubre 2000. vol.42, no.5, p.438-446.

HIKIDA, Robert; VAN NOSTRAN, Sharon; MURRAY, Jerry; STARON, Robert; GORDON, Scott; KRAEMER, William. Myonuclear Loss in Atrophied Soleus Muscle Fibers. En: The Anatomical Record. Marzo, 1997. vol.247, no.3, p.350-354.

HORTOBÁGYI, Tibor, et al. Changes in muscle strength, muscle fibre size and myofibrillar gene expression after immobilization and retraining in humans. En: The Journal of Physiology. Abril, 2000. vol.524, p.293-304.

HOYOS, Harol, HERNÁNDEZ, Rubén; ECHANDIA, Carlos; FUERTES, Darío. Fractura bilateral de tibia en el Hospital Universitario del Valle. Serie de casos. En: Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología. Mayo, 2009. vol.23, p.120-126.

HUARD, Johnny, LI, Young; FU, Freddie. Current Concepts Review Muscle Injuries and Repair: Current Trends in Research. En: The Journal of Bone and Joint Surgery. Mayo, 2002. vol.84, no.5, p.822-832.

HUDSON, Nicholas; FRANKLIN, Craig. Maintaining muscle mass during extended disuse: aestivating frogs as a model species. En: Journal of Experimental Biology. Agosto, 2002. vol.205, p.2297–2303.

HUNTER Gary. Fisiología del músculo. En: Principios del entrenamiento de la fuerza y del acondicionamiento físico. 2º Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2009.p.3-14.

HURST, Jim, FITTS, Robert. Hindlimb unloading-induced muscle atrophy and loss of function: protective effect of isometric exercise. En: Journal of Applied Physiology. Octubre, 2003. vol.95, no.4, p.1405–1417.

HVID, Lars; SUETTA, Charlotte; AAGAARD, Per; KJAER, Michael; FRANDSEN, Ulrik; ØRTENBLAD, Niels. Four days of muscle disuse impairs single fiber contractile function in young and old healthy men. En: Experimental Gerontology. Febrero, 2013. vol.;48, no.2, p.154-161.

IGLESIAS, Beatriz. Fisiología del músculo. En: Bases de la fisiología. 2º Ed. Madrid: Editorial Tebar, 2007. p.57-82.

JACKMAN, Robert; KANDARIAN, Susan. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Octubre, 2004. vol.287, no.4, p.C834–C843.

JACKSON, Alley; DISHMAN, Rod. Perceived submaximal force production in young adult males and females. En: Medicine & Science in Sports & Exercise. Febrero, 2000. vol.32, no.2, p.448–451.

JANG, Young, et al. Dietary restriction attenuates age-associated muscle atrophy by lowering oxidative stress in mice even in complete absence of CuZnSOD. En: Aging Cell. Agosto, 2012. vol,11, no.5, p.770–782.

JÄRVINEN, Tero; JÓZSA, Lázló; KANNUS, Pekka; JÄRVINEN, Teppo; JÄRVINEN Markku. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. En: Journal of Muscle Research and Cell Motility. Enero, 2002. vol.23, p.245–254.

JOHNS, Lennart. Nonthermal Effects of Therapeutic Ultrasound: The Frequency Resonance Hypothesis. En: Journal of Athletic Training. Julio, 2002, vol. 37 no. 3, p. 293-299.

KAI, Li; SHUNG, Ming; BIN, Tzer; LIANG, Wu; LI, Hung. Establishing a standardized therapeutic testing protocol for spinal muscular atrophy. En: Neurobiology of Disease. Noviembre, 2006. vol.24, no.2, p.286–295.

KAMENS, Helen; PHILLIPS, Tamara; HOLSTEIN, Sarah, CRABBE, John. Characterization of the parallel rod floor apparatus to test motor incoordination in mice. En: Genes, Brain and Behavior. Junio, 2005. vol.4, no.4, p.253–266.

KANNUS, Pekka, et al. Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. En: Journal of Applied Physiology. Abril, 1998. vol.84, no. 4, p.1418–1424.

KARNES, James; BURTON, Harold. Continuous therapeutic ultrasound accelerates repair of contraction-induced skeletal muscle damage in rats. En: Archives of physical medicine and rehabilitation. Enero, 2002, vol.83, no.1,p.1-4.

KAWANO, Fuminori, et al. Essential role of satellite cells in the growth of rat soleus muscle fibers. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Agosto, 2008. vol.295, no.2, p.C458–C467.

KAWASHIMA, Shino; AKIMA, Hiroshi; KUNO, Shin-ya; GUNJI, Atsuaki; FUKUNAGA, Tetsuo. Human adductor muscles atrophy after short duration of unweighting. En: European Journal of Applied Physiology. Agosto, 2004. vol.92, no.4, p.602–605.

KENNEY, Larry; WILMORE, Jack; COSTILL, David. Structure and function of exercising muscle. En: Physiology of sports and medicine. 5º Ed. Champaign IL:Human Kinetics. 2012.p. 27-48.

KHOLKIN, Andrey; PERTSEV, Nail; GOLTSEV, Arket. Piezoelectricity and crystal symmetry. En: Piezoelectric and acoustic materials for transducer applications. New York. Springer. 2008.p.17-38.

KISNER, Carolyn; COLBY, Lynn. Lesión, reparación y manejo de los tejidos blandos. En: Ejercicio terapéutico. Fundamentos y Técnicas. 5º Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2007. p. 295-308.

KITCHEN, Sheila and PARTRIDGE, Cecily. A review of therapeutic ultrasound. En: Physiotherapy. Octubre, 1990, vol. 76 no 10, p:593-599.

KODAMA, Fabio; TRINDADE, Regina; JOB, Aldo; TAMURA, Guilherme; KOIKE Tatiana; SILVA, José. Muscle mechanical properties of adult and older rats submitted to exercise after immobilization. En: Acta Ortopédica Brasileira. Enero, 2012; vol.20, no. 4, p.218-222.

KRUGER, Nicholas. The Bradford Method for Protein Quantitation. The Protein Protocols Handbook. Springer. Enero, 2002. p. 15-21.

KUMAR, Prashanth; GOLDSPINK, Geoffrey; BUTLER, Gillian; MOULY, Vicent. Mechano Growth Factor E peptide (MGF-E), derived from an isoform of IGF-1, activates human muscle progenitor cells and induces an increase in their fusion potential at different ages. En: Mechanisms of ageing and development. Abril, 2001. vol. 132, no. 4, p.154–162.

LANG, Charles; FROST, Robert; NAIRN, Angus; MACLEAN David; VARY, Thomas. TNF- α impairs heart and skeletal muscle protein synthesis by altering translation initiation. En: American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism. Febrero, 2002. vol.282, no. 2, p.E336–E347.

LANG, Guillaume; DERNONCOURT, Valerie; BISSON, Jean. Negative effect of clenbuterol on physical capacities and neuromuscular control of muscle atrophy in adult rats. En: Muscle & Nerve. 2014. doi: 10.1002/mus.24273.

LECKER, Stewart; GOLDBERG, Alfred; MITCH, William. Protein Degradation by the Ubiquitin–Proteasome Pathway in Normal and Disease States. En: Journal of the American Society of Nephrology. Julio, 2006. vol.17, no. 7,p.1807-1819.

LI, Hong; MALHOTRA, Shweta; KUMAR, Ashok. Nuclear Factor-kappa B Signaling in Skeletal Muscle Atrophy. En: Journal of Molecular Medicine. Octubre, 2008. vol.86, no.10, p.1113–1126.

LIANTONIO, Antonella, et al. The hindlimb unloading model of microgravity differently affects skeletal muscle properties of young and adult mice. En: Basic Applied Myology. Enero, 2009. vol.19, p.107-112.

LIEBER, Richard. Skeletal muscle anatomy. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.1–40.

LIEBER, Richard. Skeletal muscle adaptation to decreased use. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.183-228.

LIEBER, Richard. Skeletal muscle physiology. En: Skeletal Muscle Structure and Function and Plasticity. 3ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 2010. p.41–92.

LIEBER, Richard; FRIDÉN Jan; HARGENS, Alan; FERINGA, Earl. Long-term effects of spinal cord transection on fast and slow rat skeletal muscle. En: Experimental Neurology. Marzo,1986. vol.91, no.3, p.435-448.

LIMA, Silvia, et al. Short-term immobilization causes morphometric and mechanical alterations on rat muscles. En: Brazilian Journal of Physical Therapy. Julio, 2007. vol. 11, no. 4, p.261-266.

LOPEZ, José; FERNANDEZ, Almudena. Control muscular del movimiento. En: Fisiologia del ejercicio. 3º ed. España: Editorial médica panamericana. 2006. p.81-182.

MACHIDA, Shuichi; BOOTH, Frank. Regrowth of Skeletal Muscle Atrophied from Inactivity. En: Medicine & Science in Sports & Exercise. Enero, 2004. vol. 36, no.1, p.52–59.

MADARO, Luca; SMERIGLIO, Piera; MOLINARO, Mario; BOUCHÉ, Marina. Unilateral immobilization: a simple model of limb atrophy in mice. En: Basic Applied Myology. Enero, 2008. vol.18, no.5, p.149-153.

MALLINSON, Joanne; MURTON, Andrew. Mechanisms responsible for disuse muscle atrophy: Potential role of protein provision and exercise as countermeasures. En: Nutrition. 2012. doi:10.1016/j.nut.2012.04.012.

MANDILLO, Silvia, et al. Reliability, robustness, and reproducibility in mouse behavioral phenotyping: a cross-laboratory study. En: Physiological Genomics. Agosto, 2008. vol.34, no, 3, p.243-255.

MARIMUTHU, Kanagaraj; MURTON, Andrew; GREENHALF, Paul. Mechanisms regulating muscle mass during disuse atrophy and rehabilitation in humans. En: Journal of Applied Physiology. Febrero, 2011, vol.110, no.2, p.555–560.

MARKERT, Chad; MERRICK, Mark; KIRBY, Timothy; DEVOR, Steven. Nonthermal ultrasound and exercise in skeletal muscle regeneration. En: Archives of physical medicine and rehabilitation. Julio, 2005. vol.86, no.7, p.1304-1310.

MARTÍNEZ, Alfredo; SÁNCHEZ, Carolina; PORTILLO, Isabel; ORTEGÓN, Katherin. Evaluación de los procesos en el tratamiento inicial de las fracturas de cadera. En: Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología. Septiembre, 2005. vol.19, no. 3, p.19-26.

MATSUMOTO, Yoko, et al. The non-thermal effects of pulsed ultrasound irradiation on the development of disuse muscle atrophy in rat gastrocnemius muscle. En: Ultrasound In Medicine & Biology. Julio, 2014. vol.40, no.7, p.1578-1586.

MATTIELLO, Ana; CARVALHO, Leonardo; CORNACHIONE, Anabelle; NAGASHIMA Michio; NEDER Luciano; SHIMANO, Antonio. Morphological effects

of electrical stimulation and intermittent muscle stretch after immobilization in soleus muscle. En: Histology and histopathology. Septiembre, 2006. vol.21, no. 9, p.957-964.

McBRIER Nicole; LEKAN, Jaimy; DRUHAN, Lawrence; DEVOR, Steven; Merrick, Mark. Therapeutic Ultrasound Decreases Mechano-Growth Factor Messenger Ribonucleic Acid Expression After Muscle Contusion Injury. En: Archives of physical medicine and rehabilitation. Julio, 2007. vol.88, no. 7, p.936-940.

McCARTHY, John, et al. Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. En: Development and Stem Cells. Septiembre, 2011. vol.138, no. 17, p.3657-3666.

McDIARMID, Terry; ZISKIN, Marie; MICHLOVITZ, Susan. Therapeutic ultrasound. En: Thermal Agents in Rehabilitation. 3ª Ed. Philadelphia: F.A. Davis Company.1996.p.168-212.

MEIJER, Kenneth. History dependence of force production in submaximal stimulated rat medial gastrocnemius muscle. En: Journal of electromyography and kinesiology. Diciembre, 2002. vol.12, no. 6, p.463-70.

MÉXICO. CICUAL. Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio: México; 1999. 129p.

MILLER, Michale; LONGORIA, Janae; CHEATHAM, Christopher; BAKER, Robert; MICHAEL, Timothy. Intramuscular temperature differences between the mid-point and peripheral effective radiating area with ultrasound. En: Journal of Sports Science and Medicine. Junio, 2008. vol.7, no.2, p.:286-291.

MINISTERIO DE SALUD DE COLOMBIA. Resolución 008430 de 1993, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. 1993.

MIZOGUCHI, Kazushige; YUZURIHARA, Mitsutoshi; ISHIGE, Atsushi, SASAKI, Hiroshi; TABIRA, Takeshi. Chronic stress impairs rotarod performance in rats: Implications for depressive state. En: Pharmacology Biochemistry and Behavior. Enero-Febrero, 2002. vol. 71, p.79–84.

MOFFAT, Marilyn; ROSEN, Elaine; RUSNAK, Sandra. En: Musculoskeletal Essentials applying the preferred Physical Therapist practice patterns. 1ª Ed. Thorofare NJ: Slack Incorporated. 2006.

MONTALTI, Camila; SOUZA, Natália; RODRIGUES, Natália; FERNANDES, Kelly; TOMA, Renata; RENNO, Ana. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on injured skeletal muscle. En: Brazilian Journal of Physical Therapy. Julio-Agosto, 2013. vol. 17, no.4,343-350.

MORRISON, Karen. Waves, sound and light. En: Physical Science Level 3. South Africa: Pearson Education. 2008.p.138-166.

MUJIKA, Iñigo; PADILLA, Sabino. Muscular characteristics of detraining in humans. En: Medicine & Science in Sports & Exercise. Agosto, 2001. vol.33, no.8, p.297–1303.

NAKANO, Jiro; KATAOKA, Hideki; SAKAMOTO, Jyunya; ORIGUCHI, Tomiki; OKITA, Minoru; YOSHIMURA, Toshiro. Low-level laser irradiation promotes the recovery of atrophied gastrocnemius skeletal muscle in rats. En: Experimental Physiology. Septiembre, 2009. vol.94, no.9, p.1005-1015.

NEYMOTIN, Arie, et al. Neuroprotective effect of Nrf2/ARE activators, CDDO ethylamide and CDDO trifluoroethylamide, in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. En: Free Radical Biology & Medicine. 2011;51: 88–96.

OHIRA, Yoshinobu, et al. Myonuclear domain and myosin phenotype in human soleus after bed rest with or without loading. En: Journal of Applied Physiology. Noviembre, 1999. vol.;87, no.5, p.1776–1785.

OHIRA, Yoshinobu, et al. Ontogenetic, gravity-dependent development of rat soleus muscle. En: American Journal of Physiology. Cell Physiology. Abril, 2001. vol.;280, no.4, p.C1008–C1016.

ORLICH, Dánitza. Fracturas expuestas: Una urgencia en ortopedia. En: Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. Enero, 2005. vol. 62, no. 572, p.141-144

OROZCO, Luis Carlos. Validez de los estudios de validez o de los sesgos, cómo evitarlos y algo más. En: Medición en salud. Diagnóstico y evaluación de los resultados. Un manual crítico más allá de lo básico. 1ª Ed. Bucaramanga, Colombia: División de publicaciones UIS,2010. p.159-169.

OSPINA, Jorge. Paciente Politraumatizado: Evaluación y manejo inicial. En: Médicas UIS. Enero 1997, vol.11, p.228-233.

PACHECO, Maia; CESPEDES, Luis; FRANCHINI, Emerson; TAKITO, Mónica. Functional vs. Strength training in adults: specific needs define the best intervention.

En: International Journal of Sports Physical Therapy. Febrero, 2013. vol.8, no.1, p.34-43.

PALIWAL, Sumit; MITRAGOTRI, Samir. Therapeutic opportunities in biological responses of ultrasound. En: Ultrasonics. Agosto, 2008. vol.48, no.4, p.271–278.

PHILIPPOU, Anastassios; MARIDAKI, María; HALAPAS, Antonis; KOUTSILIERIS, Michael. The Role of the Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) in Skeletal Muscle Physiology. En: In Vivo. Enero, 2007. vol.21, p. 45-54.

PHILLIPS, Stuart; GLOVER, Elisa; RENNIE, Michael. Alterations of protein turnover underlying disuse atrophy in human skeletal muscle. En: Journal of Applied Physiology. Septiembre, 2009. vol.107, no.3, p.645–654.

PIEDADE, María; SANCHES, Milene; NAVES, Claudia; ALVES, Marcelo; GARCÍA, Elia; SZYMANSKI, Olga. En: Effect of ultrasound therapy on the repair of Gastrocnemius muscle injury in rats. Ultrasonics. Septiembre, 2008. vol.48, no.5, p.403–411.

PLANT, Pamela; BAIN, James; CORREA, Judy, WOO, Minna; BATT, Jane. Absence of caspase-3 protects against denervation-induced skeletal muscle atrophy. En: Journal of Applied Physiology. Julio, 2009. vol.107, no.1, p.224 –234.

POTTIER Pierre; HARDOUIN, Jean; LEJEUNE, Silvia; JOLLIET, Pascale; GILLET, Bernard; PLANCHON, Beyle. Immobilization and the risk of venous thromboembolism. A meta-analysis on epidemiological studies. En: Thrombosis Research. Septiembre, 2009. vol.124, no. 4, p.468-476.

POWERS, Scott; KAVAZIS, Andreas. Inactivity-induced skeletal muscle atrophy: A brief review. En: Revista Portuguesa de Ciências do Desporto. Enero, 2008. vol.8, no.2, p.299–307.

POWERS, Scott; KAVAZIS, Andreas; DERUISSEAU, Keith. Mechanisms of disuse muscle atrophy: Role of oxidative stress. En: merican Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 2005. vol.288, no. 2, R337–R344.

PRADO, Teófilo; MUÑOZ, Diego. Politraumatismo. Accidentes de tránsito. En: Revista de la Asociación Argentina de Ortopedia y Traumatología. Enero- Marzo 2009. vol.74, no.1, p.6-12.

RAJ, Mohan; LEACH, Matthew; MORTON, David. Carbon Dioxide for Euthanasia of Laboratory Animals. Comparative Medicine. Octubre, 2004. vol.54, no. 5, p.470-471.

RAMIREZ, Carolina, et al. Joint Inflammation Alters Gene and Protein Expression and Leads to Atrophy in the Tibialis Anterior Muscle in Rats. En; American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation. Noviembre, 2011. vol.90, no. 11, p.930-939.

RANTANEN, Jussi; THORSSON, Ola; WOLLMER, Per; HURME, Timo, KALIMO, Hannu. Effects of therapeutic ultrasound on the regeneration of skeletal myofibers after experimental muscle injury. En: The American Journal of Sports Medicine. Enero-Febrero, 1999, vol.27, no. 1, p.54-59.

.

RAYMENT, Ivan, et al. Structure of the Actin-Myosin Complex and Its Implications for Muscle Contraction. En: Science. Julio,1993, vol.262, 58-65.

REICH, Kimberly. Molecular Changes Following Skeletal Muscle Disuse in Humans. Trabajo de grado Doctor en Fisiología. Massachusetts: Universidad de Massachusetts. Programa de Kinesiología; 2009.

REID, Dorian; CUMMINGS, George. Factors in selecting the dosage of ultrasound: With particular reference to the use of various coupling agents. En: Physiotherapy Canada. Enero, 1973, vol.25, p.5-9.

ROBERTSON, Valma. Dosage and treatment response in randomized clinical trials of therapeutic ultrasound. En: Physical Therapy in Sport. Agosto, 2002, vol. 3 no. 3, p. 124-133.

ROBERTSON, Valma; BAKER, Kerry. A Review of therapeutic ultrasound: Effectiveness studies. En: Physical Therapy. Julio, 2001. vol.81, no.7, p.1339-1350.

ROZAS, Grey; GUERRA, María; LABANDEIRA-GARCÍA, José.. An automated rotarod method for quantitative drug-free evaluation of overall motor deficits in rat models of parkinsonism. En: Brain Research Protocols. Diciembre, 1997. vol.2, no.1 p.75–84.

RUSTAY, Nathan; WAHLSTEN, Douglas, CRABBE, John, Influence of task parameters on rotarod performance and sensitivity to ethanol in mice. En: Behavioural Brain Research. Mayo, 2003, vol.141, no.2, p. 237–249.

SACHECK Jennifer, et al. Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases. En: The FASEB Journal. Enero, 2007. vol.21, no.1, p.140–155.

SADLER, Thomas. Langman´s Essential medical embriology. USA. Williams & Wilkins. 2005.

SAKAKIMA, Harutoshi. Effects of immobilization and subsequent low and high frecuency treadmill running on rat soleus muscle and ankle joint movement. En: Journal of Physical Therapy Science. Enero, 2004. vol.16, no.1, p.43-48.

SAKAMOTO, Junya; NAKANO, Jiro; KATAOKA, Hideki; ORIGUCHI, Tomoki; YOSHIMURA, Toshiro; OKITA, Minoru. Continuous therapeutic ultrasound inhibits progresssion of disuse atrophy in rat gastrocnemius muscles. En: Journal of Physical Therapy Science. Junio, 2012. vol.24, p.443-447.

SAKAMOTO, Kei; ASCHENBACH, William; HIRSHMAN, Michael; GOODYEAR, Laurie. Akt signaling in skeletal muscle: regulation by exercise and passive stretch. En: American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism. Noviembre, 2003. vol.285, no.5, p.E1081–E1088.

SAVERIO, Francisco; DELLAVALLE, Arianna; DIAZ-MANERA, Jordi; MESSINA, Graziella, COSSU, Giulio. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. En: The Journal of clinical investigation. Enero, 2010. vol.120, no.1, p.11–19.

SCHIAFFINO, Stefano; MAMMUCARI, Cristina. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: Insights from genetic models. En: Skeletal Muscle. Enero, 2011. vol.1, p.1-14.

SCHIAFFINO, Stefano; REGGIANI, Carlo. Fiber types in mammalian skeletal muscles. En: Physiological Reviews. Octubre, 2011. vol.91, no.4, p.1447–1531.

SCOTT, Wayne; STEVENS, Jennifer; BINDER, Stuart. Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications. En: Physical Therapy. Noviembre, 2001. vol.81, no.11, p.1810-1816.

SEKI, Kazuhiko; KIZUKA, Tomohiro; YAMADA, Hiroshi. Reduction in maximal firing rate of motoneurons after 1-week immobilization of finger muscle in human subjects. En: Journal of Electromyography and Kinesiology. Abril, 2007. vol.17, no. 2, p.113–120.

SEMMLER, John; KUTZSCHER, Devin; ENOKA, Roger. Limb immobilization alters muscle activation patterns during a fatiguing isometric contraction. En: Muscle Nerve. Septiembre, 2000. vol.23, no.9, p.1381-1392.

SENGUPTA, Pallav. A Scientific Review of Age Determination for a Laboratory Rat: How Old is it in Comparison with Human Age?. En: Biomedicine International Journal. Enero, 2011. vol. 2, no.2, p.81-89.

SHAFFER, Margaret, et al. Effects of immobilization on plantar-flexion torque, fatigue resistance, and functional ability following an ankle fracture. En: Physical Therapy. Agosto, 2000. vol.80, no. 8, p.769-780.

SHARMA, Mridula; LANGLEY, Brett, BASS, John; KAMBADUR, Ravi. Myostatin in Muscle Growth and Repair. En: Exercise & Sport Sciences Reviews. Octubre, 2001, vol.29, no.4, p.155–158.

SHAVLAKADZE, Thea; WHITE, Jason; DAVIES, Marilyn; HOH, Joseph; GROUNDS, Miranda. Insulin-like growth factor I slows the rate of denervation induced skeletal muscle atrophy. En: Neuromuscular Disorders. Febrero, 2005. vol.15, no.2, p.139–146.

SHENKMAN, Barry; TURTIKOVA, Orlich; NEMIROVSKAYA, Terry; GRIGORIEV, Andrew.Skeletal Muscle Activity and the Fate of Myonuclei. En: Acta Naturae. Julio, 2010. vol.2, no.2, p.59-65.

SILVA, Anabelle; BENEDINI, Priscila; POLIZELLO, Juliana; CARVALHO, Leonardo; MATTIELLO, Ana. Characterization of Fiber Types in Different Muscles of the Hindlimb in Female Weanling and Adult Wistar Rats. En: Acta Histochemica et Cytochemica. Abril, 2011. vol.44, no.2, p.43–50.

SILVERTHORN, Dee. Muscles. En: Human Physiology, an integrated approach.. 5º Ed. San Francisco: Pearson.2010. p.406-445.

SMITH, Timothy; BLOCK, Nancy; RHODES, Simon; KONIECZNY, Stephen; BOONE, Jeffrey. A unique pattern of expression of the four muscle regulatory factor proteins distinguishes somitic from embryonic, fetal and newborn mouse myogenic cells. Development. Marzo, 1993. vol.117, no.3, p.125-1133.

SOUSA, Ana; LEONEL, Endrigo; VITA, Aline; DIAS, José; VASCONCELOS, Anilton. Padronização da técnica de imobilização do membro pélvico para estudo da atrofia muscular esquelética em ratos. En: Jornal Brasileiro de Ciência Animal. Enero, 2011. vol.4, no.7, p.274-291.

SPEED, Cathy. Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions. En: Rheumatology. Diciembre, 2011. vol.40, no.12, p.1331-1336.

StataCorp. 2011. Stata Statistical Software: Release 12. College Station, TX: StataCorp LP.

STEVENS, Jennifer, et al. Muscle Adaptations with Immobilization and Rehabilitation after Ankle Fracture. En: Medicine and Science in Sports and Exercise. Octubre, 2004. vol.36, no. 10, p.1695–1701.

STEWART, Claire; RITTWEGER, Jörn. Adaptive processes in skeletal muscle: Molecular regulators and genetic influences. En: Journal of musculoskeletal & neuronal interactions. Enero-Marzo, 2006. vol.6. no. 1, p.73-86.

SUIZA. CIOMS. Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que Implique el Uso de Animales. Ginebra: Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, 1985. 2 p.

SUIZA. OMS. Clasificación internacional del funcionamiento, de la discapacidad y la salud. Ginebra: OMS.2001. 258 p.

TALMADGE, Robert; ROY, Roland; EDGERTON, Reggie. Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. En: Journal of Applied Physiology. Diciembre,1996. vol.81, no. 6, p. 2540–2546.

TAYLOR, Wayne, et al. Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C_2C_{12} muscle cells. En: American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism. Febrero, 2001. vol. 280, no. 2, p.E221–E228.

TEIXEIRA, Carlos; DUARTE, José. Myonuclear domain in skeletal muscle fibers. A critical review. En: Archives of Exercise in Health and Disease. Enero, 2011. vol. 2, no.2, p.92-101.

TER HAAR, Gail. Therapeutic applications of ultrasound. En: Progress in Biophysics and Molecular Biology. Enero - Abril, 2007. vol.93, p.111–129.

TER HAAR, Gail. Therapeutic ultrasound. En: European Journal of Ultrasound. Marzo,1999. vol.9, no.1, p.3–9.

THOMASON, D; BOOTH, Frank. Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. En: Journal of applied physiology. Enero, 1990. vol. 68, 1, p. 1-12.

TIDBALL, James. Inflammatory processes in muscle injury and repair. En: American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. Febrero, 2005. vol.288, no. 2, p. R345–R353.

VANDENBORNE, Krista, et al. Longitudinal study of skeletal muscle adaptations during immobilization and rehabilitation. En: Muscle Nerve. Agosto, 1998. vol.21, no. 8, p.1006–1012.

VAN DER WINDT, Daniëlle, et al. Ultrasound therapy for musculoskeletal disorders: a systematic review. En: Pain. Junio, 1999, vol. 81 no. 3, p. 257-271.

WANG, Jingsong; MALDONADO, Michael. The Ubiquitin-Proteasome System and Its Role in Inflammatory and Autoimmune Diseases. En: Cellular & Molecular Immunology. Agosto, 2006. vol.3, no.4, p.255-261.

WANG, XiaoDong, et al. Mechanical load-dependent regulation of satellite cell and fiber size in rat soleus muscle. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Noviembre, 2006. vol. 290, no. C981–C989.

WATANABE, Shogo; KITAWAKI, Tomoki; OKA, Hisao. Mathematical equation of fusion index of tetanic contraction of skeletal muscles. En: Journal of Electromyography and Kinesiology. Abril, 2010. vol.20, no. 2, p.284-299.

WATSON, Tim. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. En: Ultrasonics. Agosto, 2008, vol. 48 no. 4, p. 321-329.

WILMORE, Jack; COSTILL, David. Control Muscular del Movimiento. En: Fisiología del esfuerzo y del deporte. 6º Ed. Barcelona: Human Kinetics. 2007. p.34-61.

Xunta de Galicia-Consellería de Sanidade-Servizo Galego de Saúde [online]. Galicia: Servizo Galego de Saúde; 2006 [acceso 4 de abril de 2013]. Epidat 3.1. España.

YABLONKA, Zipora. The Skeletal Muscle Satellite Cell: Still Young and Fascinating at 50. En: Journal of Histochemistry & Cytochemistry. Diciembre, 2011. vol. 59, no.12, p. 1041–1059.

YANG, Shi; GOLDSPINK, Geoffrey. Different roles of the IGF-I Ec peptide (MGF) and mature IGF-I in myoblast proliferation and differentiation. En: FEBS Letters. Julio, 2002. vol. 522, no. 1-3, p.156-160.

ZHANG, Bao, et al. The effects of low frequency electrical stimulation on satellite cell activity in rat skeletal muscle during hindlimb suspension. En: BMC Cell Biology. Noviembre, 2010. vol. 11, p.1-9.

ZHANG, Peng; CHEN, Xiaoping; FAN, Ming. Signaling mechanisms involved in disuse muscle atrophy. En: Medical Hypotheses. Marzo, 2007. vol.69, no. 2, p.310–321.

Anexo A. Presupuesto para el desarrollo del proyecto

Ítem	RUBRO	RECURSOS UIS		TOTAL
		EFECTIVO	ESPECIE	
1	PERSONAL (Investigador principal 25h/semana, director de tesis 5h/semana)	$ 12´000.000	36´168.000	$ 48´168.000
2	COMPRA DE EQUIPOS (Cabezal del UST)	$ 1.460.000	-	$ 1.460.000
3	COMPRA DE LIBROS	-	-	
4	LICENCIA DE SOFTWARES	-	-	-
5	MATERIALES Y REACTIVOS QUIMICOS	$ 2.300.000	-	$ 2.300.000
6	SERVICIOS TECNICOS (Calibración de equipo de ultrasonido)	$ 1.500.000	-	$ 1.500.000
7	SALIDAS DE CAMPO (PARTICIPACIÓN EN EVENTO ACADÉMICO)	$ 3.600.000	-	$ 3.600.000
8	PAPELERÍA	$ 1.500.000	-	$ 1.500.000
9	ALQUILER DE EQUIPOS	-	-	-
10	PUBLICACIÓN Y DIVULGACIÓN	$ 500.000	-	$ 500.000
11	OTROS	No financiable	-	-
TOTAL		**$ 22.860.000**	**$ 36.168.000**	**$ 59.028.000**

Anexo B. Modelos de disminución de la actividad muscular

a) Modelo de suspensión

La suspensión de las patas posteriores ha sido empleada para imitar el vuelo en el espacio al eliminar las fuerzas de reacción del suelo mientras permite a los músculos permanecer funcionalmente activos[80,81]. Sin embargo, los músculos sin apoyo de peso pero en posición de descarga, permiten las contracciones isotónicas del músculo. Como consecuencia de ello, la electromiografía de los músculos de las patas posteriores es suprimida transitoriamente durante la suspensión, volviendo hacia los valores de control por el 7º día de la suspensión[81]. Por otro lado, Liantonio y col.[209] demostraron que con 14 días de suspensión, el peso húmedo del músculo sóleo disminuyó en un 17%.

El análisis morfológico del músculo muestra que existe una pérdida en el área de la fibra es 2 a 3 veces mayor en las fibras tipo I que las tipo II. En contraste, el promedio del AST es de 16 a 36 % menos después de 11 días de vuelo con un efecto relativo siendo tipo IIb, IIa y I, lo cual es efecto a la suspensión. De esta manera, este modelo no sería un modelo preferido de atrofia muscular[81].

b) Modelo de denervación

El modelo de denervación es establecido para interrumpir las conexiones del músculo con el nervio, la actividad de soporte de peso y cualquier influencia trófica de la motoneurona o nervio sobre el músculo[80].

[209] LIANTONIO, Antonella, et al. The hindlimb unloading model of microgravity differently affects skeletal muscle properties of young and adult mice. En: Basic Applied Myology. Enero, 2009. vol.19, p.107-112.

La denervación resulta en la pérdida de masa muscular y de la fuerza contráctil con alteraciones en la morfología, ultraestructura, patrón de expresión génica y bioquímica en las miofibras y tejido circundante. La atrofia de las fibras musculares es más severa durante los estados tempranos de denervación y las fibras rápidas son más susceptibles a la atrofia inducida por denervación que las fibras lentas[68]. La atrofia inducida por denervación es asociada con un incremento en la actividad de las caspasas 3 y 8, indicando que la activación de las caspasas puede tener un rol diferente en los modelos de atrofia muscular o que el modo por el cual la atrofia ocurre determina la participación de diferentes vías moleculares[210,211].

El modelo consiste en realizar un corte inmediatamente proximal a la división en ramas peroneal y tibial sobre el músculo glúteo sin alterar la vasculatura y seccionar el nervio ciático. Para evitar la reinervación, un segmento de nervio de aproximadamente 5-7 mm es retirado y posteriormente, se sutura la piel[68,212].

Estudios realizados con denervación han demostrado que al día 28 después del procedimiento, se observa una atrofia significativa de las miofibras. La disminución en el promedio del AST es de 59% y de las fibras tipo IIx corresponde a un 61%[68].

Sacheck y col.[213] determinaron que ocurre una pérdida rápida en el peso del músculo en los primeros 14 días de denervación seguido de una pérdida más lenta sobre las siguientes 2 semanas. En un estudio realizado con un inhibidor de la vía de proteosoma, se observó que la denervación causó una disminución del peso

[210] DUPONT, Esther. Apoptosis in skeletal muscle and its relevance to atrophy. En: World Journal of Gastroenterology. Diciembre, 2006. vol.12, no.46, p.7463-7466.
[211] PLANT, Pamela; BAIN, James; CORREA, Judy, WOO, Minna; BATT, Jane. Absence of caspase-3 protects against denervation-induced skeletal muscle atrophy. En: Journal of Applied Physiology. Julio, 2009. vol.107, no.1, p.224 –234.
[212] BEEHLER, Blake; SLEPH, Paul; BENMASSAOUD, Latifa; GROVER, Gary. Reduction of Skeletal Muscle Atrophy by a Proteasome Inhibitor in a Rat Model of Denervation. En: Experimental biology and medicine. Marzo, 2006. vol.231, no.3,p.335–341.
[213] SACHECK Jennifer, et al. Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases. En: The FASEB Journal. Enero, 2007. vol.21, no.1, p.140–155.

húmedo del soleo en 33.5±2.8% y en el extensor largo de los dedos 16.2 ± 2.7% después de 7 días del procedimiento en comparación con el contralateral.

c) Modelo de sección de la médula espinal

En este modelo, la medula espinal es cortada a un nivel estratégico para eliminar el control de los centros altos sobre los centros bajos de control neuromotor espinal por debajo de la lesión[80].

En un seguimiento realizado por 1 año por Lieber y col.[214] se encontró que el promedio del área de las fibras tipo I en el sóleo disminuyen cerca del 50% y por lo tanto, aumenta el porcentaje de fibras tipo II también observado en el extensor longo de los dedos (EDL). Así mismo, se ha demostrado que el corte de la médula a nivel de T10 causa una rápida y progresiva disminución en el AST de las fibras del soleo y del extensor largo de los dedos. Se encuentra una disminución del 40% en el sóleo y del 53% en el EDL después de 10 días del procedimiento. Aunque ambos tipos de fibra presentaron atrofia, se observa una disminución significativa de las fibras tipo I después de 10 días[215].

d) Modelo de inmovilización

La inmovilización de la extremidad en la cual los músculos objetivo son inmovilizados en una posición fija en una posición neutral, acortada o alargada[80].

[214] LIEBER, Richard; FRIDÉN Jan; HARGENS, Alan; FERINGA, Earl. Long-term effects of spinal cord transection on fast and slow rat skeletal muscle. En: Experimental Neurology. Marzo,1986. vol.91, no.3, p.435-448.
[215] DUPONT, Esther; HOULÉ, John; GURLEY, Cathy; PETERSON, Charlotte. Early changes in muscle fiber size and gene expression in response to spinal cord transection and exercise. En: American Journal of Physiology - Cell Physiology. Octubre, 1998. vol.275, p.C1124–C1133.

La inmovilización de la pata posterior de las ratas ha sido frecuentemente usada para el estudio de la adaptación del músculo esquelético a la disminución del uso para evaluar el efecto de la posición del músculo durante este periodo[151].

Uno de los métodos más usados ha sido la inmovilización con yeso pero es demasiado pesado para el uso del animal correspondiendo cerca del 40-60% del peso corporal de la rata. Además solo es efectivo cuando se inmovilizada también la articulación de la cadera. De igual forma, se ha observado ulceración en la piel debido probablemente a la retención de la orina por el yeso. Así mismo, no se puede observar el área restringida para detectar la posible presencia de ulceras o edema[151].

El modelo de inmovilización propuesto por Coutinho y col.[130] fue establecido como una alternativa para realizar la inmovilización y eliminar las dificultades causadas por el modelo con yeso. El dispositivo está compuesto de malla de acero y materiales de algodón y tiene algunas ventajas con respecto al modelo de yeso, debido a que es económico y liviano y la misma unidad puede ser fácilmente ajustada y usada varias veces por la misma unidad o por animales de similar peso corporal.

En el estudio inicial, el peso corporal de las unidades experimentales disminuyó 12 ± 6% al permanecer 21 días con el dispositivo de inmovilización. Para mantener el sóleo en una posición acortada completamente, la articulación del tobillo es fijada en plantiflexión completa. El peso del músculo soleo durante el mismo periodo de tiempo fue reducido en 44 ± 6% en comparación al músculo contralateral. Para garantizar la posición acortada, la inmovilización debe ser ajustada diariamente[130].

Utilizando el mismo modelo durante 21 días, Gomes y col.[106] demostraron una disminución significativa del peso corporal de 12±6% correspondiente a un

promedio de peso inicial de 291±33 gramos y al peso final de 256±29 gramos. Los autores reportan un descenso de 44 ± 6% del peso del soleo comparado con el músculo contralateral y del AST en comparación a las fibras contralaterales (1179 ± 416 μm^2 vs 2084 ± 728 μm^2, respectivamente. De igual forma, no se observó ulceración de la piel o edema en las patas en los animales durante el periodo de inmovilización.

Similares hallazgos fueron encontraron por Gomes y col.[199], al observar un descenso en el AST de las fibras tipo I, II y C del músculo sóleo. De igual forma, encuentran en análisis ultraestructurales, la disrupción de la sarcómera y la pérdida de miofilamentos que varía de acuerdo con la fibra observada.

Benedini y col.[154] realizaron el mismo procedimiento utilizando ratas de 21 días de vida y redujeron el tiempo de inmovilización a 10 días. El peso corporal de las ratas inmovilizadas después de este periodo fue de 78±5.8 gramos en comparación con el peso promedio de las ratas del grupo control que fue de 119 ±5.1 gramos. El AST del sóleo en el grupo inmovilizado fue de 266 vs. 886 um^2 en el grupo control.

El estudio de Ramirez y col. en el 2011[151], determinó que la atrofia puede aparecer desde el día 2 posterior a la inmovilización. El promedio de AST en el grupo inmovilizado fue de 697 ± 220 um^2 en comparación al grupo control que fue de 1702 ± 110 um^2.

Anexo C. Revisión de la literatura de efectos del ust en el musculo esquelético

MODELOS ANIMALES

a) REVISIÓN DE LA LITERATURA DE EFECTOS DEL UST EN EL MUSCULO ESQUELÉTICO EN LESIÓN

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DIARIA DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
Rantanen y cols 1999	60 ratas Sprague-Dawley Lesión por contusión con un martillo sobre la pata posterior derecha	G1: UST con inicio 3 días después de la lesión (n=12) G2: Control sin lesión con UST con inicio 3 días después de la lesión (n=12) G3: UST con inicio 6 horas después de la lesión(n=16) G4: Control sin lesión con UST con inicio 6 horas después de la lesión (n=16) G5: Control no lesionado no tratado (n=4)	Ciclo de trabajo: 20% Frecuencia: 3-MHz Intensidad: 1.5 W/cm^2 ERA: 1 cm^2 Tiempo: 6 minutos	Dosis: 540 Joules	Cuantificación de mioblastos y miotubos Proliferación de células satélite Proliferación de fibroblastos Densidad capilar	La proliferación de CS se incrementa de forma significativa con la aplicación del UST en estados tempranos de regeneración pero no tiene efecto sobre la producción de miotubos. La proliferación de fibroblastos se mantuvo hasta los 10 días de observación. La densidad capilar no fue afectada con el modelo de lesión
		G1: UST 3 días (n=7)			Fuerza tetánica	

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DIARIA DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
Karnes y cols. 2002	39 ratas Sprague-Dawley Lesión bajo estimulación eléctrica para producir contracciones excéntricas bilaterales del músculo extensor longo de los dedos	G2: UST 5 días (n=8) G3: UST 7 días (n=7) G4: Control sin lesión (n=7) G5: Control con lesión	Inicio: A 1 día post-lesión Frecuencia: 1 MHz Intensidad: 0.5 w/cm2 Modo: Continuo Tiempo: 5 minutos Duración Tx: 3, 5, 7 días ERA: Se asume que es de 1 cm^2	Dosis: 150 Joules	Longitud de la fibra muscular Área de sección transversa: Masa muscular/Longitud de la fibra * densidad muscular	7 días de tratamiento con UST mejoran significativamente la producción de fuerza tetánica
Fisher y cols. 2003	Ratas Sprague-Dawley Lesión por trauma con un cilindro de aluminio sólido con una fuerza de 0,57 N-m/cm2	G1: Control sin lesión G2: Control con lesión G3: Sin lesión + UST modo continuo a 1 w/cm^2 G4: Lesión + UST modo continuo a 1 w/cm^2 G5: Sin lesión + UST modo pulsado a 1 w/cm^2 G6: Lesión + UST modo pulsado a 1 w/cm^2 Sacrificio de los animales a los días 1, 3 y 7.	Inicio: No se especifica Intensidad: 1 w/cm2 Tiempo: 5 minutos Modo: Continuo o pulsado Duración Tx: 2 a 7 días ERA: Se asume que es de 1 cm^2	Dosis: 300 Joules	Contenido de proteína	El UST en modo pulsado produce mayor cantidad de proteína contráctil con 7 días de tratamiento.
McBrier y cols. 2007	36 ratas Wistar	G1: Control (n=4)	Inicio: 24 horas post-lesión	Dosis: 90 Joules	MGF	EL UST disminuye la expresión del MGF y

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DIARIA DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
	Contusión bilateral de gastrocnemio	G2: Lesión + UST (n=36)	Frecuencia: 3 MHz Intensidad: 0,3 w/cm^2 Modo: Continuo Duración de tx: 4 días ERA: 1 cm2 BNR: 5,5:1 Tiempo: 5 minutos Área del músculo: 2 cm^2		Peso húmedo del músculo	no general cambios en el peso húmedo del músculo
Piedade y cols. 2008	30 ratas Wistar Lesión por laceración en gastrocnemio	G1: Control 4 días G2: Control 7 días G3: Control 14 días G4: UST 4 días (2 sesiones) G5: UST 7 días (5 sesiones) G6: UST 14 días (12 sesiones)	Inicio: 2 días post-lesión BNR: 6:1 ERA:3,5 cm2 Ciclo de trabajo: 50% Intensidad: 0,57 w/cm2 Frecuencia: 1 MHz Tiempo: 5 minutos	Dosis: 598,5 joules	Colágeno fibrilar Regeneración de las fibras musculares	Beneficio directo del UST pulsado en tratamiento temprano post-lesión porque estimula la deposición temprana de colágeno en el músculo en proceso de reparación.
Borges y cols. 2008	70 ratas Wistar Lesión por contusión		Inicio: 24 horas post-lesión Tasa frecuencia: 100 Hz	Dosis: 225 Joules	Límite proporcional de estiramiento Límite proporcional de carga	Temprana inmovilización y por corto periodo de tiempo podría favorecer la

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DIARIA DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
			Ciclo de trabajo: 20% (1:5) Frecuencia: 1 MHz SATA: 0,5 w/cm2 Duración tx: 6 sesiones consecutivas Tiempo: 5 mimutos ERA: 1,5 w/cm2		Estiramiento máximo Carga máxima Rigidez Resilencia	recuperación de la resistencia mecánica cuando se asocia el UST

b) REVISIÓN DE LA LITERATURA DE EFECTOS DEL UST EN EL MUSCULO ESQUELÉTICO EN ATROFIA

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
Cunha y cols. 2012	28 ratas Wistar Inmovilización por 15 días	G1: Inmovilización + estiramiento por 10 días con 2 días de reposo (n=7) G2: Inmovilización + UST por 10 días no consecutivos con dosis de 1 w/cm2 (n=7) G3: Inmovilización + UST por 10 días no consecutivos con dosis de 0,5 w/cm2 (n=7)	Frecuencia; 1 MHz ERA: 1 cm2 Tiempo: 3 minutos Duración tx: 10 sesiones Intensidad G2: 1 w/cm2 G3: 0,5 w/cm2 G4: 0,2 w/cm2 (Estiramiento:	Dosis: G2: 90 joules G3: 45 joules G4: 18 joules	Área de sección transversa Peso húmedo del músculo	El UST a una dosis media podría tener un efecto protector sobre el tamaño muscular.

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
		G4: Inmovilización + UST por 10 días no consecutivos con dosis de 0,2 w/cm2 (n=7)	3 series de 30 segundos)			
Sakamoto y cols. 2012	15 ratas Wistar SPF Inmovilización con molde de yeso con pata en plantiflexión	G1: US terapéutico (n=5) G2: US placebo (n=5) G2: Control (n=5)	Frecuencia: 1 MHz Modo: Continuo Intensidad: 1,0 w/cm2 Tiempo: 15 minutos BNR. 5:1 ERA: 0,7 w/cm2 Duración de tx: 5 días / semana durante 2 semanas	Dosis: 630 Joules	Niveles de proteína HSP70 proteína bFGF proteínas IGF-1 Área de sección transversa de fibras tipo I, tipo IIa y tipo IIb	El diámetro de las fibras musculares con UST fueron mayores que en el grupo placebo- El UST continuo puede inhibir la progresión de la atrofia inducida por disminución de uso.

MODELOS HUMANOS

a) REVISIÓN DE LA LITERATURA DE EFECTOS DEL UST EN EL MUSCULO ESQUELÉTICO

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
Black y cols, 1984	17 participantes sanos	Grupo 1 Aplicación de UST Grupo 2:	Intensidad: 1.5 W/cm^2 Tiempo: 15 minutos.	No se puede establecer al no tener la ERA	Pico de torque	La aplicación de UST antes de la ejecución de un ejercicio isométrico

AUTORES	MODELO	GRUPOS	PARAMETROS DE UST	DOSIS DE UST	VARIABLES	RESULTADOS
	Ejecución de 4 series de dorsiflexión de tobillo antes, 30 minutos y 60 minutos después del UST	Aplicación de ultrasonido placebo				o isotónico no altera el pico de torque.
Delgado-Díaz y cols 2011	16 hombres sanos físicamente activos Daño muscular mediante 200 contracciones excéntricas del cuádriceps bilateral	EXP (Experimental): Lesión + UST en un miembro inferior (n=8) CON (Control): Sin lesión + UST en un miembro inferior (n=8)	Inicio: 48 horas después de la lesión Frecuencia; 1 MHz ERA: 5 cm2 Tiempo: 10 minutos Intensidad; 1,5 w/cm^2	Dosis: 4500 Joules	Variante del IGF-1 Porcentaje de contracción voluntaria máxima	La expresión de IGF-1Eb incrementa con una aplicación de UST
Craig y cols. 2012	48 voluntarios saludables Modelo con 3 días consecutivos de inducción de dolor posterior al ejercicio	G1: Control G2: UST a baja intensidad G3: UST a alta intensidad G4: Ultrasonido placebo	Frecuencia: 1 MHz Modo: pulsado Tiempo: 15 minutos	Dosis: G2: 172,8 joules G3: 345,6 joules	Angulo de extensión y flexión Umbral del dolor	El UST no presenta efectos sobre el dolor generado posterior al ejercicio bajo los parámetros de tratamiento establecidos

Anexo D. Formato de seguimiento por unidad experimental

PROYECTO: EFECTOS DEL ULTRASONIDO TERAPÉUTICO SOBRE LA CAPACIDAD FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO Y LA ATROFIA INDUCIDA POR INMOVILIZACIÓN

FORMATO DE SEGUIMIENTO POR UNIDAD EXPERIMENTAL

CODIGO UNIDAD EXPERIMENTAL			
Periodo intervención	1	2	3
Fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa)			

1. REGISTRO PRUEBA ROTAROD

	REGISTRO 1		**REGISTRO 2**		**REGISTRO 3**	
PRUEBA INICIAL (DIA 0)	**LATENCIA A LA FALLA (SEG):**	**RPM A LA FALLA:**	**LATENCIA A LA FALLA (SEG):**	**RPM A LA FALLA:**	**LATENCIA A LA FALLA (SEG):**	**RPM A LA FALLA:**
PRUEBA FINAL (DIA 18)	**LATENCIA A LA FALLA (SEG):**	**RPM A LA FALLA:**	**LATENCIA A LA FALLA (SEG):**	**RPM A LA FALLA:**	**LATENCIA A LA FALLA (SEG):**	**RPM A LA FALLA:**

2. REGISTRO PESO CORPORAL

DIA	**PESO CORPORAL**	**OBSERVACIONES**
1		
2		
3		

4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		

Anexo E. Formato de registro temperatura ambiental

PROYECTO: EFECTOS DEL ULTRASONIDO TERAPÉUTICO SOBRE LA CAPACIDAD FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO Y LA ATROFIA INDUCIDA POR INMOVILIZACIÓN

FORMATO DE REGISTRO TEMPERATURA AMBIENTAL

DIA	07:00 horas	OBSERVACIONES	19:00 horas	OBSERVACIONES
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				

Anexo F. Procedimiento para inmovilización

a) Procedimiento previo

- Se realizó el corte de la malla en las medidas correspondientes a la figura 1-A y se ubicó esparadrapo en los bordes.
- Se envolvió con gasa la malla reforzando los extremos y fijando con esparadrapo
- Se realizó el molde de la camiseta según las medidas correspondientes, en una sola pieza dejando la apertura para la cabeza. (Figura 1-B).

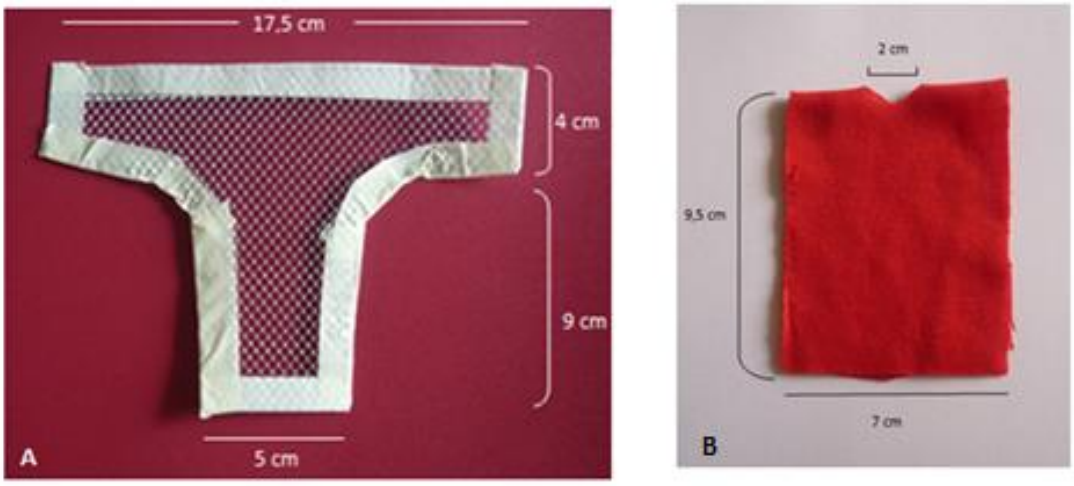


Figura 1. Modelo de procedimiento previo para protocolo de inmovilización.

b) Proceso de inmovilización

- La manipulación de las unidades experimentales para esto proceso fue realizada sin anestésicos.

- Los animales fueron ubicados en posición prona para incorporar la camisa desde la cabeza. (Figura 2A).

- Se inició la costura en el lado derecho revisando periódicamente el movimiento de la pata anterior para su respectivo ajuste. Luego se procedió a coser el lado izquierdo haciendo las mismas observaciones (Figura 2B).

- Se ubicó una cinta delgada de esparadrapo bajo las patas anteriores para evitar que el animal las retirara por las mangas de la camisa (Figura 2C).

- La articulación tibiotarsal fue ubicada en máxima flexión plantar y se colocó micropore desde la parte distal hacia la parte proximal de la pata derecha para mantener la posición. (Figura 2D).

- Se instaló la malla alrededor de la rata y se fijó con esparadrapo a nivel de la mitad del tronco (Figura 2E).

- Se ubicó el modelo sobre la pata posterior formando un cilindro y se fijó con esparadrapo dejando los dedos de la pata por fuera de la malla (Figura 2F).

- Se colocó esparadrapo en forma de cruz desde la malla en la parte posterior, cruzando alrededor de la cabeza hacia la malla en la parte anterior para sujetarla a la camisa (Figura 2G).

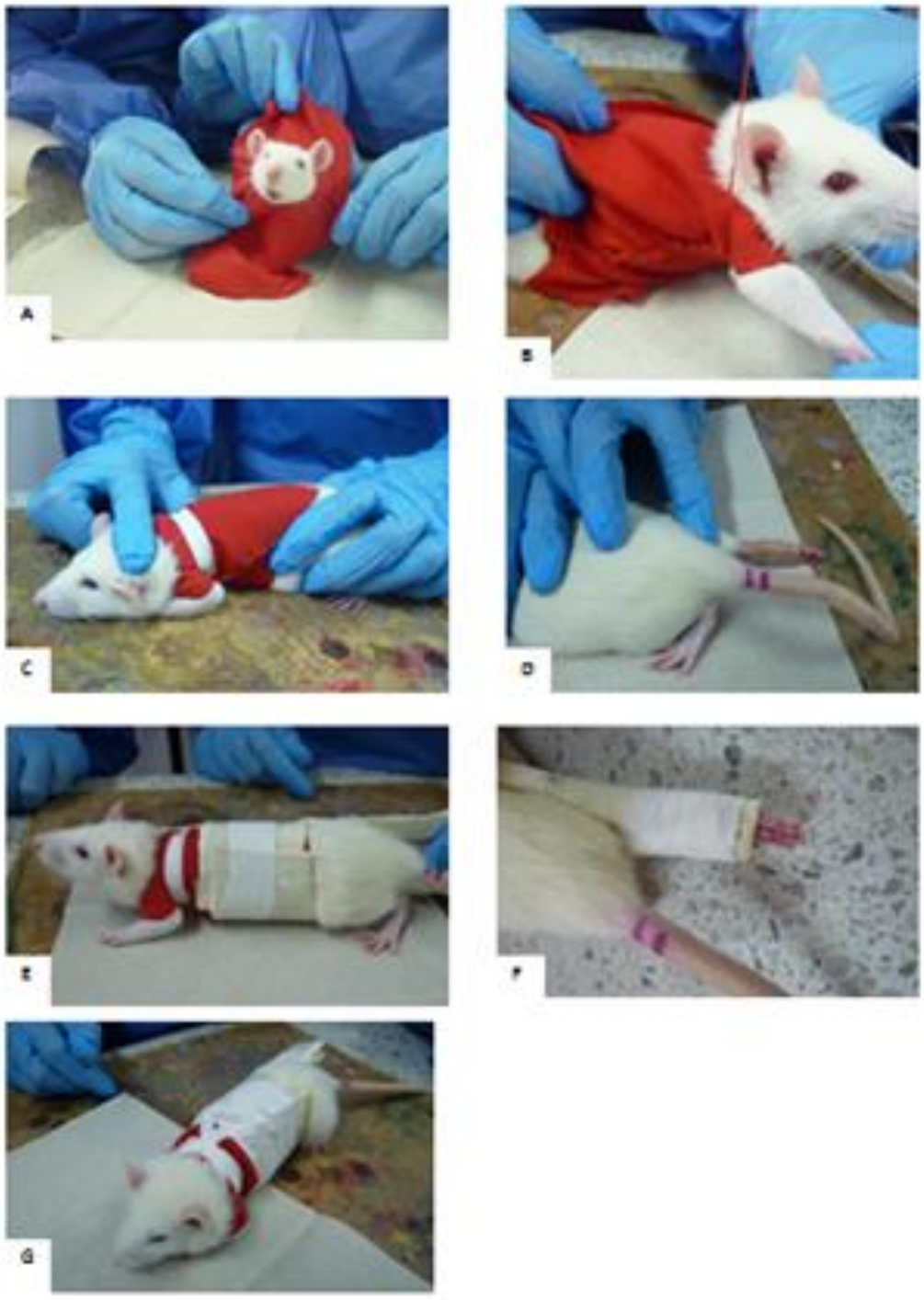
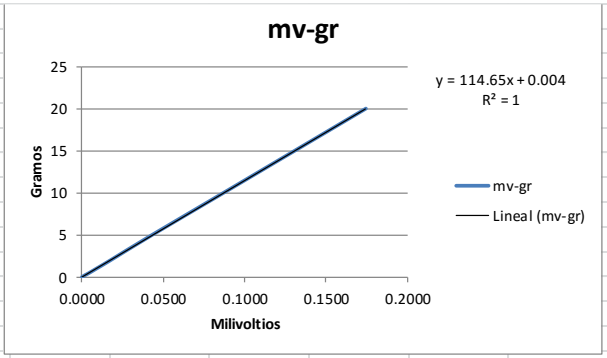


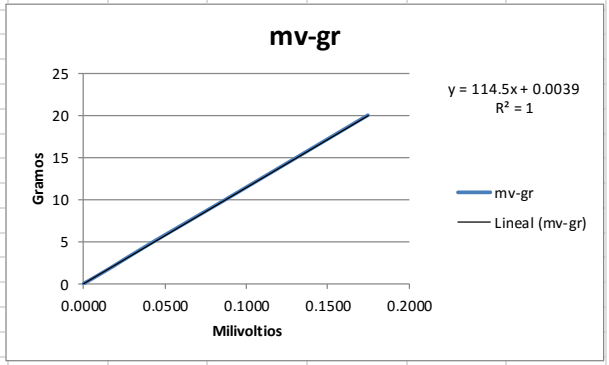
Figura 2. Proceso de inmovilización descrito en el ítem b. (proceso de inmovilización.

Anexo G. Curva estándar para determinación de tensión en gramos

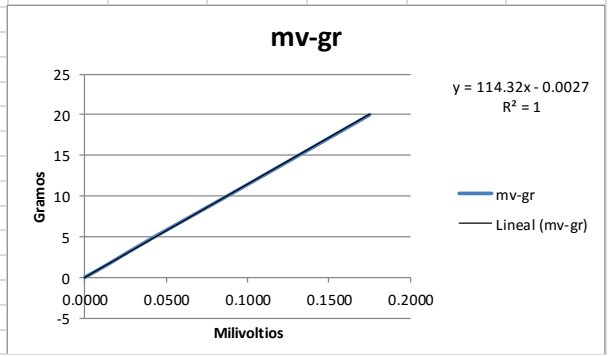
VERSION 1	Mv1	mv2	mv3	mvprom	CV	microvolt	Gramos	mv-gr
	0.0122	0.0123	0.0124	0.0123	0.0000	12.300	0	0.0040
	0.0133	0.013	0.013	0.0131	0.0008	13.100	0.1	0.0041
	0.0139	0.0139	0.014	0.0139	0.0016	13.933	0.2	0.0042
	0.0149	0.0148	0.015	0.0149	0.0026	14.900	0.3	0.0043
	0.0168	0.0167	0.0169	0.0168	0.0045	16.800	0.5	0.0045
	0.0211	0.0213	0.0211	0.0212	0.0089	21.167	1	0.0050
	0.03	0.0297	0.0299	0.0299	0.0176	29.867	2	0.0060
	0.0555	0.0551	0.0556	0.0554	0.0431	55.400	5	0.0089
	0.099	0.0995	0.0996	0.0994	0.0871	99.367	10	0.0140
	0.1875	0.1873	0.1858	0.1869	0.1746	186.867	20	0.0240



VERSION 2	Mv1	mv2	mv3	Promedio	CV	microvolt	Gramos	mv-gr
	0.0123	0.0124	0.0122	0.0123	0.0000	0.000	0	0.0039
	0.0132	0.0132	0.0131	0.0132	0.0009	0.867	0.1	0.1031
	0.0138	0.014	0.0139	0.0139	0.0016	1.600	0.2	0.1871
	0.015	0.0148	0.015	0.0149	0.0026	2.633	0.3	0.3054
	0.0169	0.0166	0.0168	0.0168	0.0045	4.467	0.5	0.5153
	0.021	0.0212	0.0213	0.0212	0.0089	8.867	1	1.0191
	0.0299	0.0298	0.03	0.0299	0.0176	17.600	2	2.0191
	0.0554	0.0551	0.0555	0.0553	0.0430	43.033	5	4.9312
	0.0998	0.0996	0.0995	0.0996	0.0873	87.333	10	10.0036
	0.1874	0.1873	0.1864	0.1870	0.1747	174.733	20	20.0109



VERSION 3	Mv1	mv2	mv3	Promedio	CV	microvolt	Gramos	mv-gr
	0.0122	0.0123	0.0121	0.0122	0.0000	0.000	0	-0.0027
	0.0133	0.0133	0.0131	0.0132	0.0010	1.033	0.1	0.1154
	0.014	0.0139	0.014	0.0140	0.0018	1.767	0.2	0.1993
	0.015	0.0148	0.015	0.0149	0.0027	2.733	0.3	0.3098
	0.0168	0.0167	0.0167	0.0167	0.0045	4.533	0.5	0.5156
	0.021	0.0211	0.0213	0.0211	0.0089	8.933	1	1.0186
	0.0298	0.0296	0.03	0.0298	0.0176	17.600	2	2.0093
	0.0553	0.055	0.0552	0.0552	0.0430	42.967	5	4.9092
	0.0999	0.0997	0.0998	0.0998	0.0876	87.600	10	10.0117
	0.1875	0.187	0.1874	0.1873	0.1751	175.100	20	20.0147



Anexo H. Base de datos de variables de control

1. Peso corporal

RATA	GRUPO	PESO1	PESO2	PESO3	PESO4	PESO5	PESO6	PESO7	PESO8	PESO9	PESO10	PESO11	PESO12	PESO13	PESO14	PESO15	PESO16	PESO17	PESO18
42	G1	333.8	306.7	288.8	278.7	272.8	273	273.4	280.5	275.3	278.6	275.8	283.8	291	291.6	303.5	308	312.6	317
43	G1	360	337.8	321	308.3	295	308.1	311.6	316.8	313.4	307.8	305.1	321.4	328.2	326.8	322.9	342.2	346.5	355.2
44	G1	349.2	329.9	313.3	300.5	305	304.2	305	306.5	305.6	299.1	287.5	298.4	301.5	302.8	311	317.9	320	326.3
45	G1	364.4	331.8	320.6	312.5	312.7	313.5	307.5	310.1	304.2	306.9	303.2	313.7	315.8	338	328	330.5	335.4	340
46	G1	346	322.1	319	309.5	311	309.8	323.2	302.7	298.4	262.3	298.4	301.3	303.5	309.5	309.6	318.2	321	322.3
47	G1	380.5	346.5	331	338	343	344.1	342.6	338	333	298	333	337	340.3	350.6	354.6	357.5	361.2	368
27	G2	224.4	212.3	200	189	193.5	199.4	205.5	214.1	218.2	218.7	223.8	225.2	229.4	243	249.7	259.4	271	281
30	G2	244.7	225.4	213.1	215.1	217.4	221.1	225.2	225.3	231	236.7	236.5	241.9	255.3	261.8	268.9	282.4	284.5	291.6
34	G2	315	288	268.4	277.9	278.7	269	267.7	272.8	277.3	280.2	277.9	280	285.7	289.8	294.9	297.7	309	305.6
40	G2	344.8	313.2	299.5	297	293	296	301.7	311.3	314.8	318.5	316.6	313.8	329.1	333.8	339.5	346.1	352.4	360.7
16	G3	290.9	255.9	241.9	246.5	251	259	260.2	260.2	277.6	275.6	283.1							
17	G3	295.7	261.8	246	257.4	260	259.7	261	261	275.7	275.8	284.1							
18	G3	295.1	266.4	252	258	263.8	265.8	268.8	268.8	287.4	285.5	288.5							
19	G3	293	259.3	248	251.2	253.5	253.5	255.1	255.1	266.2	266.1	249.9							
20	G3	326.1	289.7	270.6	258.1	246.5	254.8	254.8	256.1	261.3	261.3	243.7							
21	G3	288	246.4	249.6	246.4	251	249.7	249.7	253.4	260.3	260.3	243.2							
29	G4	236	211.5	197.9	188.9	201.2	204.5	210.3	219.6	221	226	261.9	243.8	243.5	256.9	264.6	270.6	287.8	294.4
32	G4	250	225.3	222.4	224.4	230.1	228.9	237.2	241	243	243.8	285.5	250.7	264.5	274.4	280.9	292.6	299.1	296.3
37	G4	291.4	265.3	252.3	254.4	252.6	253.4	244.8	248.9	257.3	265.9	296.6	276.3	279.1	279.9	289.1	290.5	299.5	305.4
41	G4	330.5	301.7	287	293.8	290.7	286.9	290.4	300.5	306.1	308.3	335.9	321.3	321.3	329.9	329.8	345.1	352	363.3
26	G5	223.4	238	245.9	253.4	264.2	269	281	290	296.2	303.5	306.8	312.4	314.2	329.2	335	341.4	350	364
33	G5	241.6	249.3	260.5	271.7	279.5	288.1	297.7	305.2	312.8	317.5	326.8	326.3	338.2	345.6	351.8	360	359.5	356.5
35	G5	296	297.7	301.7	311.5	317.2	313.3	322.4	304.8	332.3	341.5	344.2	346.1	352.5	353.8	358.3	364.8	371.6	373.4
38	G5	284.3	293.3	307.2	304.2	303.3	312.1	292.2	322.7	327.6	329.5	333.5	338.4	340.9	343.4	350.6	354.5	359.6	362.7

2. PESO HÚMEDO DE LOS MÚSCULOS SÓLEO Y GASTROCNEMIO

RATA	GRUPO	PESOSOL (gr)	PESOSOL(mg)	PESOGA (gr)	PESOGA(mg)
42	**G1**	0.0883	88.3	1.329	1329.4
43	**G1**	0.1096	109.6	1.471	1470.8
44	**G1**	0.1430	143.0	1.476	1475.7
45	**G1**	0.0849	84.9	1.183	1182.5
46	**G1**	0.1498	149.8	1.725	1725.3
47	**G1**	0.1089	108.9	1.591	1591.1
27	**G2**	0.0632	63.2	1.222	1221.6
30	**G2**	0.0790	79.0	1.178	1178.2
34	**G2**	0.0689	68.9	1.264	1264.4
40	**G2**	0.1068	106.8	1.585	1584.7
16	**G3**	0.0464	46.4	1.100	1100.0
17	**G3**	0.0567	56.7	1.010	1010.0
18	**G3**	0.0470	47.0	1.090	1090.0
19	**G3**	0.0557	55.7	1.034	1034.0
20	**G3**	0.0480	48.0	0.944	943.8
21	**G3**	0.0483	48.3	1.060	1060.0
29	**G4**	0.0901	90.1	1.331	1331.4
32	**G4**	0.0707	70.7	1.260	1259.6
37	**G4**	0.0653	65.3	1.156	1156.0
41	**G4**	0.0803	80.3	1.369	1369.3
26	**G5**	0.1182	118.2	1.982	1981.8
33	**G5**	0.1217	121.7	1.727	1726.6
35	**G5**	0.1388	138.8	1.891	1890.5
38	**G5**	0.1152	115.2	1.893	1892.7

Anexo I. Base de datos de variables de salida

1. DESEMPEÑO MOTOR

RATA	GRUPO	PESO1	PESO18	REG 1	REG 2	REG 3	PRE	refu/Pesopr	REG 1F	REG 2F	REG 3F	POST	osfu/Pesopo	possopre
42	G1	333.8	317	17	17	28	28	0.084	17	17	18	18	0.057	0.643
43	G1	360	355.2	16	26	27	27	0.075	16	9	16	16	0.045	0.593
44	G1	349.2	326.3	9	20	0	20	0.057	21	14	16	21	0.064	1.050
45	G1	364.4	340	19	30	11	30	0.082	19	12	11	19	0.056	0.633
46	G1	346	322.3	13	21	12	21	0.061	8	12	18	18	0.056	0.857
47	G1	380.5	368	19	13	25	25	0.066	19	14	16	19	0.052	0.760
27	G2	224.4	281	32	27	22	32	0.143	16	9	2	16	0.057	0.500
30	G2	244.7	291.6	32	22	19	32	0.131	10	8	23	23	0.079	0.719
34	G2	315	305.6	31	4	28	31	0.098	23	15	3	23	0.075	0.742
40	G2	344.8	360.7	17	17	20	20	0.058	18	17	18	18	0.050	0.900
16	G3	290.9	283.1	27	36	34	36	0.124	4	2	1	4	0.014	0.111
17	G3	295.7	284.1	31	21	33	33	0.112	3	2	2	3	0.011	0.091
18	G3	295.1	288.5	12	14	8	14	0.047	2	1	2	2	0.007	0.143
19	G3	293	249.9	19	26	11	26	0.089	2	1	1	2	0.008	0.077
20	G3	326.1	243.7	23	24	23	24	0.074	2	2	2	2	0.008	0.083
21	G3	288	243.2	16	12	19	19	0.066	1	2	3	3	0.012	0.158
29	G4	236	294.4	34	26	16	34	0.144	15	16	20	20	0.068	0.588
32	G4	250	296.3	37	32	19	37	0.148	5	8	17	17	0.057	0.459
37	G4	291.4	305.4	26	27	14	27	0.093	6	6	6	6	0.020	0.222
41	G4	330.5	363.3	29	27	28	29	0.088	2	10	2	10	0.028	0.345
26	G5	223.4	364	23	50	50	50	0.224	31	11	10	31	0.085	0.620
33	G5	241.6	356.5	21	20	15	21	0.087	8	16	12	16	0.045	0.762
35	G5	296	373.4	27	40	67	67	0.226	26	9	3	26	0.070	0.388
38	G5	284.3	362.7	34	26	59	59	0.208	40	24	17	40	0.110	0.678

2. PICO MÁXIMO DE TENSIÓN EN UNA CONTRACCIÓN

RATA	GRUPO	PICOMIN	PICOMAX	PICOFUERZA	Picomaxgr
42	**G1**	-0.363	0.1365	0.4995	53.56
43	**G1**	-0.3649	0.1173	0.4822	51.69
44	**G1**	-0.3624	0.2319	0.5943	63.79
45	**G1**	-0.0576	0.0204	0.078	8.06
46	**G1**	0.0009	0.0686	0.0677	6.95
47	**G1**	-0.0549	0.4114	0.4663	50.05
27	**G2**	-0.4216	0.2116	0.6332	72.51
30	**G2**	-0.5353	0.15	0.6853	78.47
34	**G2**	-0.3977	0.3196	0.7173	82.00
40	**G2**	-0.5023	0.3255	0.8278	94.63
29	**G4**	-0.4477	0.3554	0.8031	91.96
32	**G4**	-0.484	0.0238	0.5078	58.15
37	**G4**	-0.4029	0.5365	0.9394	107.39
41	**G4**	-0.3794	0.1181	0.4975	56.87
26	**G5**	-0.4249	0.3418	0.7667	87.79
33	**G5**	-0.5326	0.2815	0.8141	93.22
35	**G5**	-0.4033	0.5655	0.9688	110.75
38	**G5**	-0.374	0.2351	0.6091	69.63

3. CONTENIDO PROTEICO TOTAL

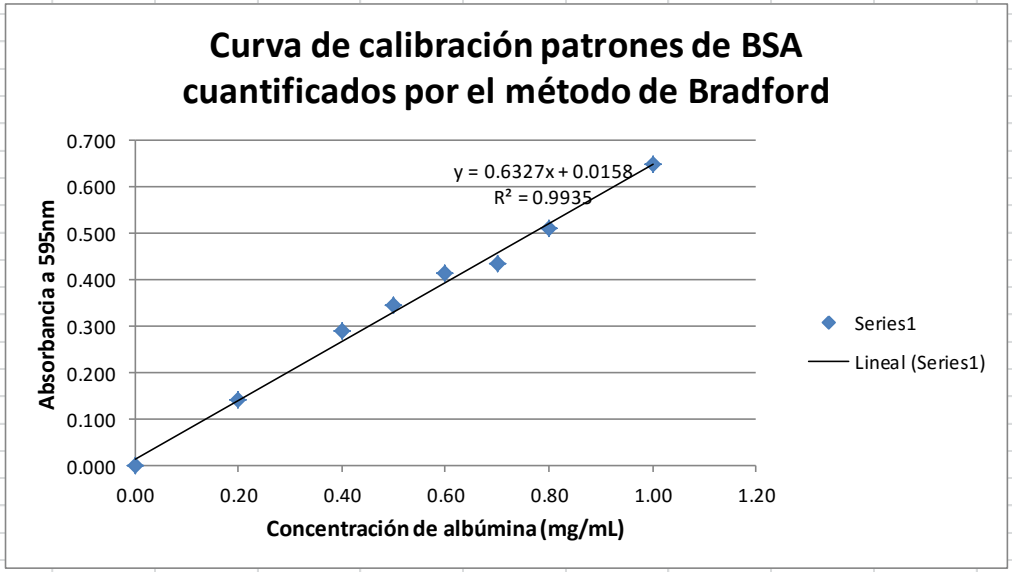
3.1 Curva de calibración con método bradford

Result Data

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.000	0.000	0.000	0.527	0.522	0.484	-0.909	-0.905	-0.909	-0.909	-0.909	-0.910	
B	0.155	0.114	0.105	0.567	0.543	0.565	-0.909	-0.909	-0.903	-0.910	-0.909	-0.910	
C	0.144	0.154	0.126	0.590	0.690	0.669	-0.901	-0.903	-0.901	-0.902	-0.903	-0.901	
D	0.294	0.327	0.249	-0.911	-0.911	-0.911	-0.911	-0.911	-0.910	-0.911	-0.910	-0.911	Pozos vacíos
E	0.236	0.268	0.220	-0.909	-0.910	-0.910	-0.909	-0.910	-0.908	-0.909	-0.909	-0.910	
F	0.340	0.369	0.331	-0.910	-0.910	-0.910	-0.909	-0.908	-0.909	-0.909	-0.911	-0.909	
G	0.390	0.425	0.424	-0.908	-0.909	-0.909	-0.909	-0.906	-0.909	-0.909	-0.909	-0.909	
H	0.432	0.447	0.423	-0.909	-0.909	-0.909	-0.909	-0.909	-0.910	-0.910	-0.910	-0.908	

Patrón de albúmina (BSA)

mg/mL	A (prom)
0.00	0.000
0.10	
0.20	0.141
0.30	
0.40	0.290
0.50	0.346
0.60	0.413
0.70	0.434
0.80	0.511
0.90	
1.00	0.649



y=absorbancia (A)
x=concentración (C)

A=0,6327C+0,0158
C=(A-0,0158)/0,6327

3. CONTENIDO PROTEICO TOTAL

3.2 Base de datos contenido proteico total del músculo sóleo

CODIGO	GRUPO	Tuboeps	Tuboumsol	Pesosolgr	Pestotalsol	Pesoproxsol	Pesodissol	ABS1	ABS2	PROM	DE	CV	conc1sol	Concefactor	Conteprot	EE
42	G1	3.104	3.119	0.015	0.0883	0.0436	0.0447	0.137	0.149	0.143	0.008	0.06	0.202	0.010	0.672	0.003
43	G1	3.124	3.143	0.019	0.1096	0.0583	0.0513	0.174	0.168	0.171	0.004	0.02	0.246	0.012	0.647	0.002
44	G1	3.139	3.163	0.024	0.1430	0.0770	0.066	0.115	0.117	0.116	0.001	0.01	0.158	0.008	0.330	0.001
45	G1	3.124	3.14	0.016	0.0849	0.0440	0.0409	0.185	0.203	0.194	0.013	0.07	0.282	0.014	0.882	0.005
46	G1	3.117	3.13	0.013	0.1498	0.0869	0.0629	0.246	0.246	0.246	0.000	0.00	0.364	0.018	1.401	0.000
47	G1	3.101	3.12	0.019	0.1089	0.0504	0.0585	0.199	0.182	0.191	0.012	0.06	0.277	0.006	0.291	0.005
27	G2	3.136	3.156	0.020	0.0632	0.0328	0.0304	0.095	0.103	0.099	0.006	0.06	0.131	0.007	0.329	0.003
30	G2	3.123	3.143	0.020	0.0790	0.0382	0.0408	0.074	0.066	0.070	0.006	0.08	0.086	0.004	0.214	0.003
34	G2	3.136	3.147	0.011	0.0689	0.0390	0.0299	0.178	0.179	0.179	0.001	0.00	0.258	0.013	1.171	0.000
40	G2	3.123	3.167	0.044	0.1068	0.0653	0.0415	0.401	0.411	0.406	0.007	0.02	0.617	0.031	0.701	0.004
16	G3	3.143	3.155	0.012	0.0464	0.0300	0.0164	0.149	0.150	0.150	0.001	0.00	0.212	0.011	0.883	0.000
17	G3	3.122	3.132	0.010	0.0567	0.0279	0.0288	0.043	0.039	0.041	0.003	0.07	0.040	0.002	0.199	0.001
18	G3	3.105	3.116	0.011	0.0470	0.0212	0.0258	0.158	0.165	0.162	0.005	0.03	0.231	0.012	1.049	0.002
19	G3	3.124	3.128	0.004	0.0557	0.0306	0.0251	0.035	0.047	0.041	0.008	0.21	0.040	0.002	0.498	0.003
20	G3	3.121	3.129	0.008	0.0480	0.0309	0.0171	0.088	0.076	0.082	0.008	0.10	0.105	0.005	0.654	0.003
21	G3	3.111	3.129	0.018	0.0483	0.0348	0.0135	0.105	0.107	0.106	0.001	0.01	0.143	0.007	0.396	0.001
29	G4	3.124	3.135	0.011	0.0901	0.0404	0.0497	0.185	0.186	0.186	0.001	0.00	0.269	0.013	1.222	0.000
32	G4	3.108	3.12	0.012	0.0707	0.0403	0.0304	0.053	0.058	0.056	0.004	0.06	0.063	0.003	0.261	0.002
37	G4	3.123	3.139	0.016	0.0653	0.0393	0.026	0.240	0.214	0.227	0.018	0.08	0.334	0.017	1.045	0.009
41	G4	3.108	3.118	0.010	0.0803	0.0502	0.0301	0.214	0.211	0.213	0.002	0.01	0.311	0.016	1.557	0.001
26	G5	3.102	3.114	0.012	0.1182	0.0600	0.0582	0.138	0.145	0.142	0.005	0.03	0.199	0.010	0.830	0.002
33	G5	3.113	3.14	0.027	0.1217	0.0817	0.04	0.221	0.224	0.223	0.002	0.01	0.327	0.016	0.606	0.001
35	G5	3.105	3.131	0.026	0.1388	0.0818	0.057	0.180	0.145	0.163	0.025	0.15	0.232	0.012	0.446	0.012
38	G5	3.112	3.128	0.016	0.1152	0.0708	0.0444	0.188	0.209	0.199	0.015	0.07	0.289	0.014	0.904	0.007

3. CONTENIDO PROTEICO TOTAL

3.3 Base de datos contenido proteico total del músculo gastrocnemio

CODIGO	GRUPO	Tuboepg	Tuboumgas	Pesogasgr	Pestotalgas	Pesoproxgas	Pesodisgas	ABS1	ABS2	PROM	DE	CV	concgas	Concefactorg	Conteprotg	EE
42	G1	3.124	3.154	0.030	1.3294	0.7019	0.6275	0.378	0.376	0.377	0.001	0.00	0.571	0.029	0.951	0.001
43	G1	3.118	3.159	0.041	1.4708	0.8530	0.6178	0.281	0.290	0.286	0.006	0.02	0.426	0.021	0.520	0.003
44	G1	3.11	3.131	0.021	1.4757	0.7645	0.7112	0.131	0.122	0.127	0.006	0.05	0.175	0.009	0.417	0.003
45	G1	3.124	3.134	0.010	1.1825	0.7065	0.476	0.048	0.052	0.050	0.003	0.06	0.054	0.003	0.270	0.001
46	G1	3.121	3.157	0.036	1.7253	0.8637	0.8616	0.502	0.507	0.505	0.004	0.01	0.772	0.039	1.073	0.001
47	G1	3.109	3.129	0.020	1.5911	0.6923	0.8988	0.318	0.301	0.310	0.012	0.04	0.464	0.023	1.161	0.005
27	G2	3.117	3.17	0.053	1.2216	0.7457	0.4759	0.344	0.327	0.336	0.012	0.04	0.506	0.025	0.477	0.006
30	G2	3.121	3.157	0.036	1.1782	0.6770	0.5012	0.293	0.296	0.295	0.002	0.01	0.440	0.022	0.612	0.001
34	G2	3.111	3.158	0.047	1.2644	0.6869	0.5775	0.311	0.316	0.314	0.004	0.01	0.471	0.024	0.501	0.002
40	G2	3.119	3.139	0.020	1.5847	0.9027	0.682	0.281	0.269	0.275	0.008	0.03	0.410	0.021	1.025	0.004
16	G3	3.111	3.148	0.037	1.1	0.4300	0.6700	0.379	0.386	0.383	0.005	0.01	0.580	0.029	0.784	0.002
17	G3	3.134	3.152	0.018	1.01	0.4680	0.5420	0.321	0.318	0.320	0.002	0.01	0.480	0.024	1.333	0.001
18	G3	3.104	3.143	0.039	1.09	0.5570	0.5330	0.426	0.455	0.441	0.021	0.05	0.671	0.034	0.861	0.008
19	G3	3.124	3.132	0.008	1.034	0.4770	0.5570	0.145	0.144	0.145	0.001	0.00	0.204	0.010	1.275	0.000
20	G3	3.104	3.148	0.044	0.9438	0.4686	0.4752	0.565	0.577	0.571	0.008	0.01	0.878	0.044	0.997	0.003
21	G3	3.111	3.168	0.057	1.06	0.3521	0.7079	0.490	0.485	0.488	0.004	0.01	0.746	0.037	0.654	0.001
29	G4	3.11	3.173	0.063	1.3314	0.7408	0.5906	0.259	0.266	0.263	0.005	0.02	0.390	0.019	0.309	0.002
32	G4	3.117	3.127	0.010	1.2596	0.6727	0.5869	0.155	0.130	0.143	0.018	0.12	0.201	0.010	1.004	0.009
37	G4	3.109	3.136	0.027	1.156	0.6270	0.529	0.101	0.104	0.103	0.002	0.02	0.137	0.007	0.254	0.001
41	G4	3.121	3.132	0.011	1.3693	0.7308	0.6385	0.205	0.214	0.210	0.006	0.03	0.307	0.015	1.394	0.003
26	G5	3.117	3.128	0.011	1.9818	1.0214	0.9604	0.079	0.076	0.078	0.002	0.03	0.098	0.005	0.443	0.001
33	G5	3.121	3.136	0.015	1.7266	0.7541	0.9725	0.230	0.229	0.230	0.001	0.00	0.338	0.017	1.128	0.000
35	G5	3.121	3.192	0.071	1.8905	0.9339	0.9566	0.342	0.351	0.347	0.006	0.02	0.523	0.010	0.147	0.003
38	G5	3.117	3.131	0.014	1.8927	0.9436	0.9491	0.146	0.150	0.148	0.003	0.02	0.209	0.010	0.748	0.001

4. ÁREA DE SECCIÓN TRANSVERSA Y ÁREA DE DOMINIO NUCLEAR DEL MÙSCULO SÓLEO

	G1: Inmov + UST						G2: Inmov+placebo				G3: Inmovilización						G4: Inmov+Libre mov				G5: Libre movimiento			
	42	43	44	45	46	47	27	30	34	40	16	17	18	19	20	21	29	32	37	41	26	33	35	38
1	3171.60	2333.10	4116.98	1666.90	1933.74	3130.59	1989.11	2026.84	3104.45	3712.61	1416.08	1201.95	3687.57	3097.88	1543.34	1063.79	5182.65	3081.30	3683.91	4329.61	6098.23	6474.40	3052.44	7256.07
2	3548.04	2736.01	3430.51	1908.66	2432.38	2494.37	3054.19	2394.27	3810.66	3691.03	1692.30	1331.95	5355.61	2606.09	1647.27	1358.42	3723.92	2854.40	1948.50	2398.12	5570.79	4974.50	6936.69	5657.56
3	2820.60	1879.59	4760.11	2117.49	1835.47	3919.04	2346.68	2295.53	2606.60	3878.88	1603.22	1842.34	4294.08	2254.80	1641.83	1920.34	4492.62	3579.78	1784.90	4087.86	5982.36	6201.54	4821.18	4860.52
4	5136.85	2493.15	4474.91	2501.75	2105.86	2739.02	2443.45	1624.19	4237.31	2897.76	2531.26	1495.40	3424.20	2861.57	1195.91	1048.14	3474.23	3023.00	3361.93	4201.48	6194.95	3698.24	4021.84	5377.52
5	4355.37	2757.60	3581.90	2258.96	1935.08	3245.09	893.75	2357.68	3597.25	3440.51	2924.03	1960.54	5939.03	1243.68	1224.33	2049.08	5584.35	2763.92	2612.70	2253.99	4417.14	6427.72	5753.77	6148.09
6	1988.05	2061.95	3922.80	2329.89	2184.15	3096.92	1536.12	1949.69	2805.68	4560.56	961.55	2081.73	4074.69	1861.48	1169.35	1648.63	5167.19	2007.36	3795.56	2821.67	4831.25	7311.75	3000.51	5670.46
7	2552.52	1949.39	2939.99	2767.02	2008.98	2811.34	2443.32	1297.66	3705.21	4750.45	2734.27	1686.90	4418.33	1801.57	2222.56	1479.20	3710.13	3666.14	2154.85	2316.69	2955.48	3698.13	3369.21	4682.20
8	4216.88	2124.53	5135.47	3610.26	1943.96	2969.45	3188.79	3045.47	2862.04	4697.27	2958.35	1375.84	3428.20	2526.22	1417.38	2152.72	5062.95	2723.79	2463.22	3050.91	4106.72	4177.62	3580.94	6288.66
9	2517.29	2286.15	3623.05	2608.80	2877.59	2618.14	2312.25	3476.56	3365.99	4298.98	3866.67	1552.32	3864.48	3500.89	1086.62	1105.39	3372.08	3367.38	3745.48	2252.67	2906.16	3951.02	6449.37	4695.08
10	2202.99	2206.01	2905.38	2321.67	3353.56	3197.29	2235.28	2495.37	3801.16	3523.47	1316.55	1998.66	2607.52	2159.80	1645.05	1607.53	3062.07	2960.73	2067.34	4662.63	5852.56	6481.26	2944.24	4859.69
11	2932.15	2014.74	3501.77	2820.42	2938.60	2877.97	3749.08	2717.61	4194.56	3847.27	2314.25	1379.73	2390.74	1407.42	976.83	998.80	5272.21	1761.15	1796.72	3941.80	4301.59	4300.47	2943.39	5142.00
12	3684.28	2822.08	2938.66	2297.15	2872.98	2709.73	1839.12	2156.03	2503.55	2706.41	2457.47	1843.36	3806.51	2232.45	2253.49	1895.78	6298.42	1996.50	1820.80	4122.87	5862.90	4964.32	5875.68	4115.80
13	2455.35	2246.62	4528.52	2242.53	3281.38	2601.92	3298.77	3580.80	2501.97	2966.73	1641.65	1074.92	1901.64	1853.49	1812.61	2077.96	5005.15	2611.64	1167.76	5053.44	5366.07	2973.82	5386.58	7528.10
14	2081.92	2280.59	3116.16	2254.74	3100.37	4106.87	2672.10	2792.43	3937.36	3313.50	2231.46	1542.18	2398.95	2061.73	1913.48	2043.95	4718.34	2844.35	2653.03	4448.39	4524.38	4640.84	5672.28	4635.33
15	3796.41	2145.22	6364.90	2111.27	2851.71	3528.36	3128.88	2996.93	2802.63	3816.99	1833.83	1404.92	2236.67	1831.63	1028.95	1790.67	5729.84	2674.83	1581.67	2840.97	4107.33	6840.08	2633.74	6196.82
16	4717.71	2300.54	5589.60	2946.66	2995.77	3605.56	2793.70	2633.42	2371.84	5057.63	3344.60	1839.65	4145.51	1823.29	1082.57	2187.58	6476.03	1988.83	1465.05	2845.92	4923.84	4851.41	4928.52	5550.15
17	3328.06	2271.79	3728.79	2721.65	2902.58	2696.07	2042.78	2335.94	2394.52	5095.74	4595.75	1837.49	3434.95	2416.89	907.42	2236.48	4482.51	2760.89	2152.16	2315.07	5054.70	3325.64	6450.90	4343.15
18	2974.32	2106.25	4477.59	2786.28	3702.24	4347.48	3300.16	1823.58	2624.74	3947.55	2348.11	1268.43	4361.19	2281.29	1538.14	1617.58	3565.35	2661.58	2065.77	2824.79	3163.03	5662.76	4699.15	5182.15
19	3656.09	2869.40	4116.04	3196.39	3308.31	2856.01	2518.22	2078.77	3235.19	5018.58	1593.19	1567.84	3903.97	3005.29	1231.68	1745.78	3365.26	1914.23	2458.46	3103.15	4553.92	3126.34	1917.03	3730.32
20	2315.78	2503.40	3992.49	2048.08	3701.52	2745.41	2718.41	1837.34	3866.43	3341.40	1088.48	1369.06	5232.15	2015.86	1618.64	2269.88	3539.85	2294.95	2842.79	3790.62	2957.52	6346.11	6454.15	4762.22
21	2133.67	5113.20	2673.24	2292.25	3053.46	1237.69	5090.68	1564.82	2196.36	3791.61	1951.87	1960.62	3210.14	1992.77	946.16	1815.15	3777.30	2251.35	1963.39	3120.91	3991.33	2520.04	2885.22	5336.92
22	4014.60	2874.84	4726.80	2460.17	3339.49	2722.79	2590.45	1970.85	3264.34	4791.67	1236.07	2285.56	4020.49	2392.31	1243.00	2019.77	3612.47	1330.87	2931.91	3286.84	2662.65	3727.81	3281.27	3492.92
23	2212.90	3935.29	2746.26	2392.06	3543.06	2501.85	2074.74	2288.18	1870.27	4077.03	2158.75	2467.96	2258.77	2666.67	2083.30	2341.25	2151.39	1723.91	1486.99	4657.52	4652.58	3857.11	2707.26	4383.14
24	2981.72	3645.26	4915.81	2421.44	3026.67	2901.01	2031.67	2128.22	3099.20	4728.71	1915.85	1453.21	4192.09	2282.07	1793.10	1885.67	3146.64	2011.09	2395.17	3661.27	3339.47	5705.82	3636.92	3406.18
25	3031.39	2954.77	5378.12	2011.65	3538.83	3367.00	2019.05	1624.15	2704.44	4180.53	1318.58	2622.50	3524.20	2294.32	1189.71	1880.64	3051.90	3334.16	1630.28	4923.39	3126.87	4389.61	4795.97	4838.79
26	2357.95	3186.00	4429.43	1955.94	3972.83	2632.78	2870.15	2107.40	2115.46	4243.35	1941.14	2591.39	4225.27	2652.06	1493.22	2209.17	4176.69	1832.84	1743.02	2026.23	3940.84	4621.33	3214.33	5470.75
27	2665.90	2929.94	3344.42	1617.30	3500.93	1877.67	2356.62	1529.91	2228.08	4955.63	2045.03	2162.19	3714.00	2054.80	1358.92	2160.16	3015.44	1163.98	2312.65	3705.04	6387.33	5965.64	4547.62	4484.82
28	3151.27	4485.07	2690.83	1299.70	3793.76	2497.44	1398.53	901.94	3050.11	4729.60	1472.57	1965.12	3778.51	1910.23	1044.85	1263.47	3124.74	1797.53	1891.87	2920.62	6267.86	3792.01	4981.47	4957.03
29	1033.32	2671.01	5326.69	2727.02	3020.60	2822.14	3969.88	992.53	3432.66	3573.60	2059.24	2268.43	5316.31	1683.80	2077.96	1724.99	3587.22	2226.87	2112.14	5570.06	7452.86	7032.42	3636.03	5330.60
30	2691.05	3501.84	4091.93	1694.85	2628.07	3723.97	1671.48	1375.53	2439.71	2013.94	1177.70	2883.30	5930.88	1636.16	1660.87	2510.64	3369.26	2179.62	1885.95	3502.55	8332.79	3443.37	2511.73	7320.98
31	2828.04	3145.16	4554.42	1550.93	3204.74	3002.45	2200.22	1524.77	2144.86	4401.29	1045.35	1309.18	3620.72	2562.38	1072.03	2041.35	2759.71	1487.97	1009.27	4115.58	5843.14	4959.50	6226.87	3564.47
32	2315.97	3201.40	4414.15	2292.83	3433.18	3851.92	2175.37	2123.24	3671.31	3991.30	1054.04	2390.22	5132.92	2217.63	1257.12	1463.32	4326.34	2301.08	2095.56	4829.08	3949.00	3257.38	3193.08	4853.91
33	2578.35	4089.15	3002.51	1921.10	3287.02	3217.68	2202.95	2706.09	2586.31	2850.24	1475.07	1719.10	2837.22	3276.05	1955.43	1125.12	3309.35	2136.08	1702.37	4180.21	3784.12	4446.25	5072.85	7161.49
34	2416.98	3911.22	3043.84	1865.23	4447.33	4769.92	2799.31	2055.30	2226.98	2633.00	1176.55	1181.17	4879.98	1717.14	1777.44	2115.76	2965.88	2080.74	2778.62	2577.98	5306.10	3599.98	5618.74	5517.40
35	4005.70	3716.28	3116.17	1575.60	4293.84	3894.81	3498.67	1959.40	3238.52	4543.55	1649.91	1230.86	4214.59	2017.37	1042.96	1751.38	3436.97	1593.07	2824.49	3000.89	3492.78	4264.68	4149.15	5047.60
36	2964.75	4305.32	1977.80	2032.55	2372.69	3555.36	1669.47	2104.82	3998.30	3156.09	1759.72	2175.22	4341.17	1849.15	1096.84	2116.36	5594.73	2113.77	2918.09	3448.41	3152.13	3837.77	6693.89	6206.36
37	3926.40	2063.17	2266.34	2591.92	2630.96	3826.66	2042.90	2354.87	2695.28	3259.61	1902.39	1845.94	2205.27	3293.76	1245.50	1891.38	3752.22	3077.26	1570.81	3421.22	5212.90	4792.78	7386.46	4575.71
38	4104.39	2468.70	3028.67	2720.05	2744.12	2483.86	2236.73	1302.61	2814.77	3197.62	2069.07	1860.85	2682.93	1415.56	1911.24	1918.84	3399.19	3141.18	2441.42	4210.34	4731.88	4051.97	3499.95	4728.91
39	3829.55	2330.78	3655.81	2770.57	2526.23	3698.09	2325.08	1857.29	3323.64	3085.95	1608.39	2042.16	3678.23	2194.13	2862.00	1601.42	3522.52	2355.02	1875.37	4823.72	5061.33	3989.74	3170.92	3846.82
40	2547.95	2012.15	3092.81	1830.02	2675.36	2712.34	1458.01	1739.97	2640.99	3809.62	1807.37	1491.77	3360.76	2396.13	992.81	1576.79	3259.19	2814.95	2097.00	4564.20	3348.04	3715.13	1869.96	4336.41
41	3175.99	2057.67	3723.01	2186.23	3980.59	3739.21	2214.59	1714.31	4343.02	4185.35	1125.61	1440.18	4139.06	1081.42	1189.27	1925.02	3860.82	3069.48	1947.74	3271.91	4818.16	3760.79	2007.50	5654.54
42	2432.80	2002.87	3401.28	2451.59	2959.13	3019.32	2005.54	1111.58	3198.36	4234.54	1666.55	1982.80	3389.37	1671.74	1170.71	1974.97	4108.47	2238.37	3013.60	5399.83	4125.58	3607.41	1287.40	4665.05
43	3088.67	2279.47	3747.47	1371.18	3759.33	3235.61	1765.60	2009.20	2098.66	2544.12	1856.26	1914.96	1964.53	2281.43	1629.46	1656.22	3867.21	2256.53	2359.93	3274.67	6664.67	3717.36	800.34	8971.39
44	2917.37	2391.35	3866.68	1586.68	2466.92	2977.68	2961.82	1555.28	3157.00	2326.19	1649.84	1062.44	4721.56	2791.98	1325.12	1825.26	3283.47	1678.62	3247.50	3942.00	3148.05	5717.58	1793.25	5970.44
45	3730.89	2114.95	2553.40	2154.78	3522.06	3732.79	1724.81	2934.46	3021.69	1419.36	1772.92	2167.01	4982.73	1784.18	1083.07	1445.50	5324.00	1451.96	2372.94	3095.51	6433.30	3884.97	817.39	6031.56
46	2287.46	2208.29	2723.62	2159.64	2510.91	2440.23	1053.63	2491.97	1903.89	4071.72	1568.88	1998.34	2106.61	2936.67	2005.62	2276.50	3084.93	2257.14	3591.45	4651.57	4497.63	3532.93	1669.56	2316.10
47	3529.38	1782.79	3981.88	1821.77	3258.13	3607.15	2118.40	2138.86	2720.06	3995.13	3344.31	1245.42	1163.64	2038.94	2761.91	2096.66	5047.51	2244.38	2597.07	5135.82	6416.82	2565.09	5765.53	4322.52
48	1975.36	1662.74	4546.17	1592.63	1587.90	3737.89	2672.07	2140.35	2784.05	3420.18	1723.71	1161.38	1452.05	2368.65	1201.91	1284.41	4782.22	1492.45	1828.69	3136.53	5193.97	3149.82	5255.26	6077.01
49	4177.90	2529.47	3559.96	1547.93	3225.04	3774.72	2205.38	2514.87	3484.45	4379.35	2367.36	1020.02	2656.40	1853.88	1362.39	1557.99	3698.36	2616.53	1822.43	2754.16	4261.89	3838.23	7489.91	4399.03
50	1913.04	1716.31	2753.74	1430.46	3024.18	2667.12	3647.33	1895.30	2944.28	3403.69	1518.74	1405.81	2221.67	1908.42	1381.79	1858.42	3810.51	2313.19	5184.76	4003.62	4208.18	5170.90	3418.08	4506.81

51	1314.04	2428.74	1900.24	1288.68	3329.41	3168.03	1992.59	1580.35	2401.53	5361.76	1302.90	1973.80	2399.92	1719.46	1629.04	1882.87	5794.38	3530.93	1897.74	3125.19	5492.72	3354.29	6201.72	4798.36
52	2898.98	3060.37	3450.02	1678.83	2534.18	3377.89	1901.73	1065.69	3382.92	3300.74	1735.71	1491.84	2900.02	1582.32	946.30	2555.63	4328.02	1989.39	1820.69	4926.77	6933.53	4643.28	4673.65	3627.63
53	2394.81	2127.58	2858.04	2662.06	2944.78	2792.84	3106.23	2104.40	2428.31	2858.93	1638.79	2191.22	3167.45	3046.46	1216.10	2163.21	4322.73	1809.32	2142.90	5073.71	6218.21	4035.57	5935.04	3768.20
54	3535.60	2402.20	4475.01	2720.52	2878.61	3882.64	2730.12	1427.93	3087.23	4081.31	1569.39	1443.96	2253.17	2289.22	1596.33	1468.55	4049.63	1076.05	1791.05	3378.68	3675.71	5143.36	5806.42	3115.01
55	2111.64	1629.83	5074.28	1664.37	3530.47	2558.65	3128.64	1840.87	4650.32	4224.11	1347.52	1838.94	3492.73	1712.95	1302.69	1534.95	5416.56	2069.85	1058.51	4772.53	4026.17	3532.88	5940.91	5889.65
56	3503.16	2520.97	3062.23	2048.46	2919.87	3968.98	2625.00	1602.08	2271.68	3499.27	1486.79	1096.69	4641.28	3374.31	1555.79	1354.64	2524.33	1581.95	1713.96	3271.19	2879.65	4713.38	6683.50	4327.30
57	3814.92	2223.92	3179.18	1498.17	2618.46	3198.31	2771.69	1425.18	2448.57	4443.93	1442.53	1245.31	4488.15	1907.53	2005.44	1166.66	2790.28	1307.18	2552.31	5243.10	4381.06	3540.76	2236.89	7047.66
58	2537.51	2122.89	3408.62	2396.02	2737.15	2963.18	2215.94	1689.52	1808.87	4813.71	1997.51	1656.98	5729.11	2634.99	1112.69	1294.29	2678.36	1933.88	1567.28	4660.12	3514.70	3958.08	4849.50	5227.40
59	1777.00	1770.72	2708.30	1737.43	3591.94	2612.35	2642.89	2020.61	3069.94	5463.14	1871.05	2027.33	4772.14	3127.82	1832.80	1050.68	2453.02	2518.47	1209.34	4142.50	2373.31	3107.59	4867.74	4742.61
60	2008.09	1559.14	2561.58	1627.18	2650.60	3360.10	2689.15	2550.74	2526.79	2282.95	1747.15	1580.13	4189.76	2189.76	1911.91	1460.65	3420.27	2876.43	2207.51	6410.86	3774.27	5704.90	3218.36	3926.82
61	2383.54	3027.49	2935.53	2051.81	3651.69	3132.91	1817.12	2989.02	2186.34	2803.06	1482.52	1076.83	2908.95	3133.64	1290.41	1462.45	2621.23	1946.25	2273.86	3648.44	2255.46	3779.23	2479.38	7366.71
62	2207.05	2236.07	2496.54	2467.88	3544.57	2869.19	3232.98	2524.87	2235.49	1972.91	1190.99	1364.70	3838.12	2246.50	1325.70	1696.30	4796.49	1761.99	1720.59	4484.62	4379.21	3639.87	2515.79	4780.67
63	3690.68	2257.81	3196.64	2154.15	3798.40	3250.70	3914.43	1915.21	4025.70	4085.75	1129.91	1795.25	2427.87	2044.59	1835.08	1454.84	3560.57	3212.35	2341.11	4323.22	2191.30	4719.78	5518.83	6967.54
64	3525.21	2166.86	2894.75	1819.59	2687.48	3713.14	3026.04	1518.66	2032.66	3314.03	1150.70	1368.88	2531.61	2712.59	1346.84	1301.16	2610.89	3064.40	1427.12	3557.04	2278.47	2986.53	4689.73	3488.45
65	3292.80	2126.64	3691.57	1805.44	2432.50	3464.21	1998.66	1828.08	5084.02	2710.29	2464.72	1516.83	2774.31	1917.61	1379.93	1498.65	3880.93	962.22	2862.97	3146.96	4255.79	4875.23	3632.24	4385.39
66	2639.79	2451.56	3135.95	2174.98	2765.71	2626.32	1957.06	2104.79	2341.86	3998.83	1349.78	1216.43	2565.06	1895.06	1525.07	1313.08	3072.72	2704.93	1830.09	3485.44	3093.42	3978.54	6767.33	3357.89
67	5280.16	2442.86	3822.27	1667.84	2712.88	2335.25	4799.97	2177.07	2466.43	3552.21	1754.88	1529.12	4179.31	2063.39	1404.58	1507.78	4309.84	2540.97	1092.22	2907.09	4355.10	4068.22	2504.30	5062.69
68	2998.10	2451.00	3988.41	2181.41	1957.25	3140.77	2989.27	2172.97	3808.31	3964.15	1112.37	944.84	4817.64	880.04	1153.88	2002.13	3048.50	3303.49	2863.26	3727.51	2274.46	3857.93	5315.97	4341.70
69	2139.57	2279.96	2698.40	1535.35	2844.32	3255.27	2132.07	2354.29	2239.92	4062.07	2042.74	1029.13	3105.34	1862.37	1792.68	1654.63	4093.79	2041.03	1593.47	4910.96	4752.43	7139.89	5006.43	4524.13
70	2002.63	3157.84	3446.34	2449.22	2932.42	2469.71	2514.19	2741.40	2732.80	3877.31	993.32	476.74	2236.63	1965.08	1400.52	1011.70	3153.64	2064.20	1532.16	6975.02	3590.14	6593.84	5378.66	6227.46
71	1425.31	2287.78	2502.62	2646.53	4966.18	2771.38	2702.98	2215.62	2974.60	3032.75	1454.62	1857.69	3038.75	1508.91	1162.05	1314.84	4238.93	2496.05	2405.87	4939.68	2658.58	6491.81	4831.29	4343.41
72	1511.16	3396.57	2209.77	1999.41	2940.92	2600.80	2391.85	2206.08	3557.35	3005.10	2471.11	1686.84	5382.62	1829.45	986.91	1530.66	3300.12	3183.72	3317.57	4587.60	4587.65	4500.63	3406.73	5440.13
73	2223.84	3054.65	5816.00	2596.52	2845.14	3157.52	2295.21	1973.35	2762.76	2634.35	2590.31	1830.19	2684.44	1691.85	1011.41	1056.32	3803.83	1544.92	2115.54	5040.79	2783.60	4657.89	7119.82	9057.32
74	2836.76	2721.45	4648.69	2103.36	3061.91	5301.38	2352.08	1188.37	2787.42	4912.64	2303.33	1664.05	2562.98	1960.67	1888.70	1136.67	3387.96	1363.53	1772.21	2886.30	3600.00	5770.90	4138.15	5049.81
75	2869.47	4438.37	4055.82	2128.81	2784.98	3723.31	3163.52	2202.01	2020.20	2999.97	2660.79	1629.44	2475.24	2636.82	1221.42	1159.09	3094.35	3488.50	1591.38	2029.55	2680.65	3615.99	5173.53	5818.31
76	2823.95	2856.78	5434.95	2143.08	2823.29	3162.85	3200.83	2143.47	2381.67	4144.08	1541.66	1239.74	3180.21	2011.11	1184.31	1326.85	4295.05	2605.42	1396.10	2900.18	4706.73	6581.04	5435.73	4125.62
77	3057.45	2520.50	3987.38	2565.51	1816.90	3838.77	3520.15	2103.35	3494.42	3646.13	1239.88	901.42	2610.82	2641.46	1525.19	1243.76	4909.87	2463.36	1648.69	3762.83	2820.17	4302.95	2988.96	4728.98
78	2808.79	2640.29	3680.03	2023.05	2311.54	2937.51	2221.16	2538.50	2623.48	3110.27	2331.39	1164.45	3442.73	3077.11	1620.03	1469.77	3712.36	3347.42	3719.22	4038.02	4437.89	7980.10	5674.65	6033.14
79	3872.07	3038.98	4487.36	1674.67	2835.71	3795.30	2515.40	2185.59	2779.16	4778.49	1700.17	1687.59	4868.27	2136.21	846.36	1495.51	4764.11	2095.27	2953.23	2883.50	2934.65	6530.75	4967.72	6586.54
80	4102.29	2994.97	3244.82	2160.55	3319.86	3126.32	3076.16	2839.19	3363.03	3699.40	1833.58	1185.18	4616.92	4231.35	955.44	1227.11	3723.44	1896.73	1377.99	2915.08	4241.47	3951.25	5133.76	6758.83
81	3832.38	2861.04	3303.02	1524.24	2770.94	3750.40	2077.35	1160.88	2531.82	3567.18	1666.74	1194.59	3217.43	2167.44	2115.57	787.09	3564.28	2392.97	1651.91	2285.67	4148.09	4574.13	3605.27	4275.10
82	3717.35	2810.56	4010.95	1387.77	3130.25	3424.84	1734.96	1774.07	2177.32	3043.33	1856.38	1361.53	4510.33	2496.97	1093.64	1119.27	3730.11	1910.39	2795.18	3055.04	4350.37	5898.72	4912.92	3615.22
83	2531.37	2674.23	4433.14	2157.30	4078.25	3295.30	2685.28	1771.99	2822.64	3438.59	2801.74	1515.41	5525.73	2557.49	1210.79	1306.61	4062.90	1658.31	888.76	5793.75	3136.00	7954.40	4612.82	6873.18
84	2847.43	3559.36	4265.00	2010.51	3847.70	4323.62	1931.15	2260.88	2438.42	3542.68	1475.00	1850.95	3955.13	1077.80	1752.65	1313.70	2797.93	4102.10	1745.93	5194.37	5451.68	4018.03	5895.15	8048.90
85	2665.39	2429.52	2384.27	2099.02	3874.03	3790.04	2200.62	2771.01	2720.44	4182.69	1380.25	1463.95	3241.45	1553.48	945.15	1409.31	1659.37	2180.84	2681.87	5578.73	4738.20	6110.66	4079.64	6679.88
86	1339.33	2946.10	3156.68	1779.50	4375.49	3250.25	2329.86	2206.17	2712.75	4698.84	3577.69	1839.27	4333.48	3235.26	1024.46	1631.96	3107.77	3852.34	2642.27	4350.83	4981.75	3858.93	3318.00	5640.16
87	2909.23	1591.31	3396.93	2208.13	4738.61	4929.64	2860.57	1538.49	3182.10	3831.69	2760.16	1338.60	2161.34	2375.63	1428.68	1213.71	3420.79	5318.24	1705.01	5991.54	3700.53	4273.18	6396.39	6701.82
88	2416.74	2136.26	2797.11	3194.83	3257.43	3134.57	2283.15	2318.07	2150.47	3550.12	3230.93	2338.78	3732.36	2025.19	1828.77	1601.50	4205.53	2732.30	1841.49	3993.08	2899.55	5290.41	5687.42	8611.12
89	3190.96	1798.53	3091.73	2194.86	3302.19	3134.37	6253.47	2134.40	4248.82	5027.40	2965.78	1768.33	2927.03	1725.00	2046.41	1203.75	3546.07	2991.07	2574.90	2754.08	6190.06	5873.78	4019.28	7867.91
90	3835.03	2322.37	2301.93	1792.54	3906.19	2720.66	2008.97	1786.96	2531.86	2898.83	3483.70	2206.70	2803.54	2334.25	1590.46	1491.86	5787.46	3836.02	1883.27	4929.14	3059.76	6174.70	5172.34	5622.88
91	2368.34	2334.51	4323.98	1951.50	4444.03	2971.98	1953.14	2528.12	2728.94	2172.40	3265.47	1428.75	1995.20	1765.40	1997.02	1932.08	6045.72	2578.21	1956.35	4728.48	4735.18	4485.88	2992.50	4556.55
92	3937.71	2372.49	2568.30	2799.16	4455.18	2999.56	1636.66	2065.12	3123.51	3303.35	1719.98	1285.79	3718.25	1431.75	1422.15	1421.75	4921.98	2849.71	1496.88	5049.77	3404.54	6501.55	6705.49	6103.97
93	2420.82	2172.52	2735.84	2504.61	3481.09	4779.40	2928.69	1943.45	2438.56	2629.14	3564.97	2119.92	3088.54	1909.46	1007.91	1475.08	5505.74	3207.32	2197.08	3712.81	2289.42	5860.76	3555.97	4259.61
94	4022.16	2489.07	3979.55	2700.40	4480.16	3161.99	2384.74	1784.85	2280.93	2332.40	4558.17	2032.45	3486.39	2018.56	1907.91	1240.44	4222.47	2301.28	1847.91	5137.83	4803.51	4396.61	3535.13	4661.68
95	2445.98	1903.31	3255.91	2480.75	3148.18	3421.02	2157.86	2229.56	1974.97	5343.28	3939.26	3801.23	2228.03	2000.09	1372.81	1375.93	4547.92	4216.61	2709.30	5254.24	3344.10	4039.45	2940.20	4916.43
96	2071.63	2940.78	2804.25	2900.01	3500.49	3608.95	1892.35	3121.02	3094.51	3814.53	2531.22	1108.83	3675.16	1849.91	1122.01	1490.74	5655.74	4270.01	2335.28	4619.40	3930.98	4271.30	7152.84	3669.93
97	1858.08	1795.62	3436.83	2110.92	2532.34	3198.75	2413.28	2544.51	3998.71	2799.35	2498.71	2772.51	2857.82	1661.98	1322.05	1250.26	4748.27	3595.68	2356.11	2955.81	2929.02	7328.02	2911.81	4740.05
98	2949.82	2054.77	3431.90	2009.88	3557.53	3645.21	2281.56	1596.83	3335.64	2746.67	2080.60	1304.72	3410.84	2291.99	1218.61	923.57	5010.69	2128.24	2533.58	4572.06	4473.18	3641.60	3144.16	4378.87
99	3219.48	1653.97	3962.86	2506.75	3681.60	3702.93	2552.74	2398.20	3055.40	4771.93	3187.21	1284.27	1697.77	2901.51	1005.00	1509.33	5172.82	1921.07	2776.96	3904.22	2323.65	4011.63	3328.67	3580.59
100	2980.85	1662.84	2124.82	2914.15	3323.30	3360.07	2292.14	1735.79	2798.61	2606.09	2612.82	1620.68	2309.29	2074.14	1142.72	1119.44	4467.91	2693.80	2918.43	3658.21	4601.89	6347.63	2991.69	2702.34
PROM AREA	**2926.19**	**2565.79**	**3593.95**	**2167.40**	**3122.48**	**3236.85**	**2520.39**	**2075.34**	**2920.46**	**3694.91**	**2029.67**	**1663.09**	**3499.85**	**2195.49**	**1448.94**	**1602.24**	**3998.29**	**2476.25**	**2205.89**	**3925.48**	**4291.73**	**4720.11**	**4343.26**	**5208.79**
MIONUCLEOS	**533**	**436**	**563**	**389**	**578**	**484**	**435**	**363**	**443**	**429**	**451**	**390**	**589**	**389**	**453**	**443**	**553**	**360**	**388**	**499**	**371**	**469**	**226**	**471**
Nucleos/fibra	**5.33**	**4.36**	**5.63**	**3.89**	**5.78**	**4.84**	**4.35**	**3.63**	**4.43**	**4.29**	**4.51**	**3.9**	**5.89**	**3.89**	**4.53**	**4.43**	**5.53**	**3.6**	**3.88**	**4.99**	**3.71**	**4.69**	**2.26**	**4.71**
DOMINIO	**549.00**	**588.48**	**638.36**	**557.17**	**540.22**	**668.77**	**579.40**	**571.72**	**659.25**	**861.28**	**450.04**	**426.43**	**594.20**	**564.39**	**319.85**	**361.68**	**723.02**	**687.85**	**568.53**	**786.67**	**1156.80**	**1006.42**	**1921.80**	**1105.90**

5. ÁREA DE SECCIÓN TRANSVERSA Y ÁREA DE DOMINIO NUCLEAR DEL MÙSCULO GASTROCNEMIO

	G1: Inmov + UST						G2: Inmov+placebo				G3: Inmovilización						G4: Inmov+Libre mov				G5: Libre movimiento			
	42	43	44	45	46	47	27	30	34	40	16	17	18	19	20	21	29	32	37	41	26	33	35	38
1	2949.78	5249.69	3835.56	3105.12	3387.53	4890.67	2091.42	2932.99	2283.36	3770.48	2863.14	2293.74	2059.17	1777.43	1322.74	1438.04	2942.44	3445.66	1296.32	3672.16	5735.37	3631.85	5000.87	5177.59
2	2282.50	4001.42	4770.71	2948.30	1833.27	1355.24	2208.87	2946.46	1560.66	2118.36	1810.27	2126.69	2176.57	1036.34	770.09	2224.77	3385.65	2601.91	929.18	1691.40	8950.08	2715.87	6025.15	2018.06
3	2130.50	2389.67	5018.82	2340.62	1845.26	5014.18	3760.43	2204.76	1136.91	2996.04	2592.05	2702.65	2115.03	1680.84	1689.91	1874.05	2676.50	2648.60	2324.28	3879.03	9534.46	3463.62	7039.66	2811.24
4	1862.31	3735.79	5172.47	2344.97	2260.61	2377.48	2203.77	2568.74	1700.12	2800.45	3301.26	1824.25	2291.32	1940.33	1470.97	1538.27	2237.81	2567.13	2200.33	2539.34	6054.78	3302.14	5033.87	4052.34
5	2113.83	3423.95	3764.33	3989.03	1780.40	2396.52	2932.12	2542.93	2666.21	3413.33	2983.96	2218.99	1569.49	2061.98	1941.33	2274.39	2527.08	1681.47	2441.24	3629.42	8771.76	3467.66	6714.11	4519.92
6	2382.79	4857.79	3273.23	3122.96	2323.00	3560.96	2186.84	3419.59	1806.39	3562.14	2824.01	2032.16	2168.16	1562.93	1230.88	1582.24	2874.64	2188.11	1911.17	4069.25	6098.12	3495.05	6557.17	4085.71
7	2488.99	3879.99	3063.91	3365.61	2248.80	2772.45	1522.05	1828.98	2479.14	3555.69	1242.82	2155.82	3018.46	1854.87	2400.38	1637.84	1441.22	2659.32	2914.95	3284.88	7785.97	4332.99	5433.56	2934.60
8	2421.17	4959.22	4253.49	2379.58	2325.10	1052.18	1464.66	3187.54	1861.77	3609.44	1311.05	2601.75	2134.81	1918.68	1587.35	1829.23	2731.38	2535.48	1973.60	2665.65	7951.75	1150.08	5626.49	4046.41
9	1474.97	2666.10	1961.24	1397.74	2358.15	2878.79	1745.85	1206.78	2904.73	2116.08	3157.52	1703.53	1810.07	1615.65	1862.27	585.87	2890.66	2054.87	2452.28	2849.60	8077.53	3633.15	5279.17	5119.72
10	2741.41	2530.04	4126.26	3499.67	2329.35	2379.29	2041.33	1692.91	1693.65	1623.41	2733.69	1890.57	3370.49	740.11	1021.95	2493.21	1478.79	2297.10	2838.01	2592.96	6766.54	3033.07	8028.59	4983.07
11	2188.19	3871.49	5055.84	2076.02	2521.82	1664.44	3226.15	2776.66	1211.42	3157.74	1372.18	2159.53	2038.12	1451.08	1444.33	1612.08	2952.13	1786.89	2180.00	2675.90	7045.50	3267.04	5584.08	2851.42
12	2317.18	4018.39	3218.86	1725.24	2602.56	3412.57	2290.82	2357.90	1458.08	2386.12	1450.78	2689.61	3131.37	945.66	1807.57	1755.33	3063.87	2996.71	3144.09	3499.31	4060.32	3084.95	2289.97	5152.17
13	3668.32	6392.47	2466.14	2560.01	2536.80	1276.09	2066.44	3241.86	1120.25	4334.87	2444.24	2907.27	2641.36	2202.16	958.54	1749.50	3496.66	2698.77	2404.94	3227.51	8885.68	3587.46	5035.91	2999.96
14	2437.53	6019.26	3737.93	1760.64	2349.57	4228.61	2655.99	3475.70	1550.84	3829.73	2796.95	2466.77	1934.65	1334.17	2239.91	2671.60	2513.05	1378.63	2126.06	1393.07	6599.65	4137.54	3414.30	4216.32
15	2203.73	4124.94	3002.18	2398.12	2554.58	1556.46	2329.03	2388.49	1968.28	3624.13	3101.26	2914.52	3256.86	1412.51	1099.19	3040.08	2851.78	2540.69	1927.11	2607.13	7156.00	3555.67	6776.59	5026.86
16	3134.21	2107.06	2829.21	980.42	2256.74	4555.96	2049.13	3437.94	1837.91	4533.44	2016.56	2600.50	2874.69	1412.17	721.93	2876.90	3809.13	2028.73	1869.09	2641.63	7036.55	2783.88	7117.98	5181.54
17	2375.52	2401.46	3267.61	1707.31	1967.86	2980.32	3122.21	1882.02	1876.89	3208.64	1509.51	3435.80	2117.92	969.48	1387.96	2014.77	1816.22	2418.84	2039.15	3010.28	3972.37	1485.73	7506.16	3970.19
18	1465.30	3028.64	3733.07	1871.98	1958.22	1185.93	1984.11	2197.86	1842.19	3842.63	1505.94	2820.95	2873.58	2094.57	1583.50	1140.12	3426.63	2629.72	1589.28	2416.34	6657.17	3224.47	5261.38	2351.29
19	1845.59	2149.71	3288.96	2500.39	1755.24	1518.10	2759.85	2341.94	2351.76	2853.11	1708.76	2385.73	1901.80	1794.72	2863.85	1955.24	3400.59	2870.18	2252.74	2602.56	3539.94	3137.13	7032.06	3497.78
20	2411.44	3763.90	2477.97	2586.33	1521.10	2659.85	1995.26	1960.92	1744.95	2651.06	1812.62	3093.77	2992.56	1577.89	2050.20	2450.45	3925.90	2410.16	1911.32	3389.14	3914.85	3057.55	5911.65	4192.37
21	2753.34	3109.77	4597.92	1325.66	1788.58	1489.69	2169.34	2404.66	1524.27	4155.13	1939.83	1858.22	3567.21	1706.74	1013.18	3163.86	2179.48	1990.72	2253.67	2378.95	3940.59	3239.58	5510.24	3983.56
22	2244.19	3605.26	4461.43	1881.20	2872.32	1902.39	1614.86	1296.69	1824.63	4117.39	1749.00	2557.72	3139.28	1618.47	1602.06	1899.55	2736.88	3456.65	1513.33	2532.14	3395.21	3089.08	5263.07	4261.25
23	2083.43	3903.04	3809.59	1880.96	2033.30	3262.83	3126.32	2305.44	1848.86	5374.48	1665.83	3171.00	1870.92	1504.15	2277.35	2349.39	3587.36	2386.47	3257.20	1894.84	4264.83	2306.82	8211.29	3852.67
24	2116.64	3970.38	4155.65	1407.33	1795.94	3480.24	2029.35	1921.50	2693.23	2927.98	2581.02	1917.28	2063.37	1303.94	1453.18	1006.67	2948.51	3058.44	3125.23	3231.82	4068.03	2982.03	4068.20	1694.37
25	2547.16	4078.42	3638.56	1028.11	1675.91	1244.31	1853.91	1512.08	1950.90	2917.48	2341.37	3129.91	1326.15	2456.70	2018.31	2111.29	2536.13	2950.67	1580.75	2537.15	2479.60	3163.00	4786.15	4054.22
26	1724.38	4299.95	2897.18	2533.05	1659.09	2677.76	1375.46	1781.94	1603.14	2283.21	2208.24	2067.09	2777.81	1300.79	2108.14	2380.54	3488.78	2320.37	1764.57	3436.61	3260.63	4035.99	3498.85	1818.65
27	1767.26	2654.64	3363.68	1194.36	1813.96	3476.07	1218.43	2105.97	1717.93	2222.76	2305.35	1711.78	2964.16	1256.37	840.18	1338.69	2113.81	2662.97	2717.04	3078.38	5037.11	3541.36	5837.83	4768.07
28	2169.62	1944.31	3056.98	1526.51	1829.36	1113.76	1324.30	2130.87	2357.22	2196.11	1937.57	3060.40	2690.53	2021.16	2455.25	2541.77	2944.48	1688.91	2432.07	2048.09	5285.96	2826.72	4760.14	5093.63
29	1777.74	2115.56	3132.13	2386.37	1667.06	1055.13	2301.25	1307.56	2878.80	2276.60	1329.98	1922.32	2594.14	1160.35	723.47	1977.96	3465.91	2443.02	1372.60	2936.35	1810.09	3860.77	3692.29	3752.11
30	1585.28	2776.91	3293.17	1506.81	1218.88	3894.56	1317.98	1177.70	1820.72	2212.97	1482.50	2167.01	2266.57	557.40	2207.12	1680.17	3177.77	2532.07	3289.38	3798.40	12060.78	4107.32	5888.23	3720.75
31	2252.20	3138.17	2686.43	2861.98	667.93	1439.79	1871.67	2244.92	1793.98	2435.07	1873.69	2550.33	2917.37	1573.77	1498.10	1341.53	3470.31	2646.75	1189.73	3336.63	9646.84	3376.97	6889.46	2833.01
32	2314.87	1977.50	2850.21	1451.59	1229.08	2498.47	2096.67	1722.39	2233.48	3888.01	1948.56	2696.98	2237.81	1060.79	1819.76	1907.32	2704.94	2285.08	1803.76	2468.49	5044.33	3171.56	4652.69	4151.97
33	2502.43	3942.91	2818.60	2343.40	1953.86	1339.52	2140.33	1006.70	2154.22	3395.05	1792.68	2268.95	3799.61	1267.86	1057.86	1403.65	3242.16	1926.04	1683.76	1415.21	9608.57	2481.85	5522.43	3798.84
34	1831.98	3650.99	3336.97	2412.20	2224.10	2491.39	2495.19	2025.36	2498.80	3606.19	1822.04	2657.01	3655.09	1059.06	1517.51	1807.89	2646.54	2354.66	2406.87	2583.56	4125.20	4465.80	5941.99	4771.56
35	1953.97	3370.60	3766.40	762.79	1690.55	2313.71	2346.11	1548.71	928.36	2004.52	1450.69	2499.01	2107.15	1566.74	2183.26	2263.75	1115.51	2918.72	1530.23	3729.87	6327.43	4192.45	5118.39	5105.82
36	2382.13	3286.01	4034.55	1906.00	2521.75	3781.09	1850.23	1957.97	2370.18	3444.11	2252.17	1953.21	2081.16	1307.27	2736.02	3528.20	3239.48	2621.81	1461.48	2522.71	5879.44	3080.09	4484.45	6355.99
37	2249.37	2105.89	2846.03	2164.00	1112.37	2738.35	2302.40	2336.33	2703.97	3252.44	2088.31	2170.94	3275.84	945.62	898.85	1262.07	3079.80	2392.80	1498.72	2360.68	4445.76	3990.97	4470.80	1852.20
38	1814.75	3894.78	3875.82	3538.85	2529.27	3782.33	1818.30	2542.06	2353.72	3761.62	1740.25	2365.29	3375.15	1674.34	505.97	2132.39	3280.49	2765.03	1915.17	4814.91	7206.19	3775.25	3504.11	4306.34
39	1880.76	2806.93	4141.75	1818.01	2037.30	3179.65	1813.71	1443.43	2480.19	3784.88	1878.37	3432.87	2549.56	1901.35	1292.94	2357.19	3562.82	2228.01	1570.88	3253.27	5110.79	1722.43	3797.08	2903.56
40	1362.06	2721.04	3976.72	2346.83	3085.40	4449.07	1998.43	2298.93	2616.13	4513.35	913.68	2492.47	3075.00	894.64	1987.37	1387.56	2597.95	2296.71	1280.69	1856.97	3345.95	4654.83	5466.32	2371.65
41	2368.04	4649.90	3038.15	1586.40	2741.62	3477.63	2421.52	2028.11	1989.33	4855.70	1089.57	2458.59	3420.83	1696.51	1056.50	2639.07	3036.28	2215.99	1592.25	2713.72	4536.26	4274.17	5097.55	5201.77
42	2168.47	2838.37	3355.28	1214.43	1836.04	1022.02	1740.46	2541.90	2397.16	3590.55	989.35	2084.25	1918.42	1024.60	2244.87	2406.55	3745.17	3832.46	1530.10	1861.45	3044.83	5137.50	5507.25	2786.16
43	1796.93	2340.73	3313.98	1185.25	2335.54	2752.46	1977.15	2157.87	1639.90	3990.60	1539.03	2051.89	3054.94	1999.14	1677.22	1292.66	2821.28	2416.12	1921.21	1614.85	5484.97	1657.79	3867.77	3442.67
44	2151.90	3201.24	3492.73	1168.88	2156.08	3086.66	2458.46	1834.68	1482.55	4403.34	1326.69	3113.17	3230.58	1183.41	1703.95	2456.71	1806.53	1800.29	1548.05	3863.23	6440.80	4161.66	3472.45	1883.87
45	1835.94	2648.90	2818.17	2135.49	1639.65	2788.25	2309.01	1320.33	1725.24	3177.08	659.62	2210.45	2373.49	1254.57	806.69	1564.34	3284.76	2567.30	1067.71	3620.26	6287.91	4321.74	4369.56	1796.36
46	2317.85	3211.22	4028.35	2015.72	2211.60	3764.43	2433.20	1253.25	2306.69	4455.26	1041.28	2709.05	2654.03	1582.17	1022.68	2527.15	3747.76	1970.86	1287.08	2990.82	5046.09	4680.20	5557.47	2531.59
47	2557.52	3041.94	3214.79	3432.86	3081.23	1654.27	2432.07	1155.78	1807.18	4357.77	1526.91	2271.86	2612.56	1703.66	1380.11	1466.87	1506.63	2487.83	2530.19	2833.13	9477.77	4160.74	5286.99	1884.39
48	1772.14	2985.66	2465.03	986.87	2899.87	3499.91	2099.95	1330.15	1303.16	4090.72	1520.05	2086.84	3259.29	1186.52	2122.35	2504.37	2736.54	1990.30	1131.62	3651.12	9909.43	3853.35	3353.86	1479.01
49	1691.33	3737.60	3162.86	2419.63	2435.55	2071.10	2029.98	915.30	2180.94	3390.57	1543.30	2360.45	3170.83	796.15	1660.12	1929.68	2137.93	2828.56	1758.63	2795.54	8797.20	4350.45	4810.68	2930.51
50	1863.05	4571.91	2434.77	1970.80	2205.76	2596.02	1841.91	1605.89	1709.95	4209.61	934.27	2593.78	1810.07	1752.18	1230.83	2877.75	3618.86	2327.29	2202.61	2585.91	4419.15	3147.34	2021.97	3570.08

51	1440.94	3922.76	3492.45	1590.94	2200.62	1247.75	2411.17	1916.17	1112.95	4074.67	1165.95	3050.48	2854.68	1319.16	2298.68	1793.92	2454.57	2697.65	1984.87	2604.48	6802.40	3462.17	3576.07	2887.75
52	2438.59	4280.79	2197.15	2539.81	2271.02	2759.59	3077.61	1510.47	2459.06	3546.26	1141.04	2565.60	2775.09	1988.83	1040.00	2623.95	3641.08	2872.93	2447.24	5538.41	6022.14	4426.90	4697.06	3097.42
53	1951.78	1957.97	3124.99	2209.02	2162.73	2790.70	2518.34	1928.77	1667.61	3796.92	861.40	3142.49	2814.09	919.19	2773.37	1782.60	2610.66	2280.31	1639.95	4008.38	8783.83	2376.69	3553.17	4896.84
54	2130.10	2852.03	4293.04	1391.22	2397.20	2211.92	3554.64	2445.21	1637.22	3841.75	1484.52	2427.85	1932.96	2262.36	1157.63	2344.46	3235.54	2105.38	3093.06	2366.90	6894.10	3967.31	5539.71	3109.17
55	2532.38	2372.20	3253.26	1774.18	1711.05	1132.30	2928.84	863.50	1275.07	3428.61	1081.37	2472.79	2772.57	1553.11	1341.44	2880.36	1430.12	1779.36	1902.24	3528.96	6009.25	3954.32	3346.31	3675.93
56	1826.84	2316.22	4040.29	2310.99	1674.94	1081.71	1272.18	1444.75	2350.89	3684.03	679.38	2385.85	2386.60	746.86	790.98	1179.34	3983.70	1446.75	2234.98	2697.14	9448.20	2272.34	3478.37	1585.18
57	3281.74	3885.97	4259.96	1975.04	3050.16	1323.84	3024.29	2395.12	1751.38	3458.74	1538.89	2365.73	3062.14	2726.01	584.48	2127.78	2512.28	2480.33	1999.11	3451.34	9156.23	4816.93	5398.63	4250.06
58	2922.27	3933.83	3224.78	2965.05	3425.87	3403.47	2430.63	2558.05	1681.52	3923.47	730.69	1947.61	1875.33	1119.59	1451.46	2206.37	3810.37	1788.51	2561.94	3163.47	6226.21	1439.92	5524.58	2705.89
59	1973.11	3736.18	3726.00	2120.39	1770.42	2639.49	2753.63	2074.49	1036.50	3765.34	1401.65	3141.60	1808.73	2581.21	876.93	2182.61	3229.73	2349.19	2152.54	3277.09	9854.38	3833.78	3365.60	4385.68
60	1335.28	1946.24	3806.47	2079.73	3333.29	2776.56	1741.71	1123.19	2639.60	4377.82	1303.16	1886.73	3575.72	1694.95	833.52	2746.40	2929.13	1589.93	1579.61	2964.98	7868.77	3970.88	5290.61	6573.47
61	2911.42	3194.68	2780.66	2394.88	2014.43	1054.18	2009.56	1723.63	1684.55	4338.56	659.09	2992.29	2935.74	1296.61	1273.96	2238.78	2857.28	1328.35	1513.76	2906.74	6269.71	4391.29	6524.18	5612.28
62	1943.28	4406.27	3153.34	2189.58	2622.70	1059.86	2393.59	2165.61	1494.69	3046.87	1340.13	1835.19	3008.75	1711.73	2092.36	2445.81	2448.13	2343.77	2600.42	3253.18	3629.29	3732.90	5980.03	3958.73
63	2015.94	3345.39	2578.85	2336.79	3121.01	1890.10	2155.62	2049.16	2159.19	4206.06	977.72	1971.72	1776.04	1800.48	825.42	1215.20	3305.21	2120.18	3080.93	3487.48	3009.85	2554.17	4606.32	6325.82
64	1750.90	4217.49	2618.95	2626.00	1865.60	3604.87	3253.77	2264.74	1566.81	2486.15	1874.21	2417.98	2621.20	1757.83	2420.75	1591.17	3808.73	2477.58	2899.98	3340.97	4748.49	4234.60	4725.81	3436.73
65	2771.30	3373.08	2214.13	2498.14	2035.37	1378.31	1123.52	1697.55	2115.53	2571.17	1124.11	2930.99	3947.77	2006.69	1994.29	1392.97	3164.06	3375.79	3036.30	3191.22	2749.17	2384.15	4430.49	4885.53
66	1935.92	2538.94	3212.29	2585.24	1294.08	1697.67	2032.10	2630.11	1054.75	2402.38	1295.75	2450.88	2114.76	1607.83	2238.69	1776.44	3442.79	2230.56	2937.96	3664.30	2743.31	3968.33	6031.35	4391.17
67	2126.74	3393.90	3879.25	1548.36	2621.25	3258.48	2707.47	2136.28	2166.23	4265.94	2734.24	2357.43	3041.05	2433.67	835.14	1548.48	3252.69	1542.20	3649.91	4552.32	3945.66	4476.54	4905.82	1931.97
68	1551.91	3684.89	3771.52	2067.53	2042.80	2828.86	2830.96	2365.30	1736.53	3603.65	2725.18	2134.42	2864.50	1836.55	1760.45	1305.00	2811.32	1931.24	2439.61	2803.06	3206.32	5086.77	6915.07	3582.47
69	1454.90	6202.54	3627.97	2359.59	1780.08	1453.11	2883.29	2521.22	1642.77	2512.76	2241.81	2892.04	2093.13	2189.06	1800.94	935.90	3796.24	2606.24	2901.77	4644.04	3618.95	2696.32	4104.96	3647.02
70	722.42	5163.69	3182.60	1918.89	1553.46	1713.16	3221.29	2072.62	1578.97	2916.54	2434.88	3272.84	2132.56	824.92	1920.63	1927.86	4382.64	1425.72	2793.67	2151.25	7142.70	3942.50	3501.66	7154.62
71	1702.37	4313.08	2680.53	1998.15	2666.07	1508.66	1445.03	1298.94	1719.45	3940.14	1674.87	3071.25	2024.08	519.43	1258.64	3047.84	3381.33	2325.62	1839.43	2089.95	5962.82	3246.00	6855.75	6039.36
72	1564.74	2023.51	3246.54	2325.58	2957.13	2614.20	2029.79	2818.75	1386.17	4236.32	1768.14	2374.88	2261.59	1609.35	2113.32	2279.64	3556.08	2522.57	2188.81	2269.92	4473.16	4246.11	3860.67	3599.00
73	1795.11	3550.75	4779.61	2108.18	2834.19	3344.32	3071.55	1566.99	1502.55	2245.64	2526.83	2486.40	3311.41	2931.28	1552.28	3287.81	3547.26	2115.00	2821.68	1436.82	3030.90	3520.86	4962.11	4495.73
74	1077.67	4500.48	2064.50	1968.64	3640.05	1323.69	2487.21	1513.78	2595.10	3938.66	2517.66	2767.23	3640.28	1866.78	1744.49	1930.02	3605.11	2672.10	2517.61	1756.99	5228.08	1703.96	3879.70	2840.89
75	1667.23	4701.30	1770.89	1368.87	1780.99	1409.61	1694.13	1942.53	1625.44	3233.25	3132.78	3152.21	3765.15	670.70	1327.17	1507.15	2550.45	2247.74	2031.80	1594.82	3911.86	4216.81	7206.92	4586.85
76	2343.12	3076.13	1597.71	2412.37	2541.02	3389.26	2020.95	1014.74	1560.21	2548.70	2811.39	2289.99	2365.31	1837.16	1079.18	2467.67	2909.73	3375.68	3778.70	2537.65	4222.67	4177.34	4910.49	4980.30
77	1582.83	3668.50	1568.85	2034.19	1868.62	3055.39	2111.31	1504.81	3063.39	4672.86	2057.76	3598.84	1802.53	1724.96	1656.36	2728.73	1279.22	2446.82	2839.82	2388.01	5137.42	3855.61	6701.46	4676.70
78	1724.13	2617.38	2992.49	2574.87	1956.01	2893.69	2427.49	1656.76	2077.42	3230.89	3196.96	3318.55	2053.64	1292.13	1992.75	1745.35	2478.60	3476.19	2991.96	3811.60	4405.25	2106.04	5200.19	5120.54
79	949.41	3294.92	1216.59	1657.22	2283.31	2200.04	2596.14	2770.24	3019.24	4475.40	2246.23	3142.06	3270.26	1053.75	1914.84	1667.29	820.74	2336.40	2779.02	2545.22	3940.77	2151.57	4336.54	3359.21
80	1280.25	2284.17	1313.67	2677.10	2485.81	1491.12	1708.78	2998.14	2356.07	4997.05	3198.32	3579.04	2764.34	671.36	1553.78	1669.27	2146.17	2824.39	1913.32	1925.65	4539.81	2980.97	6497.05	5369.75
81	2715.65	4233.31	2045.76	1364.09	1700.69	1467.29	1566.89	2710.09	1732.13	3212.33	2072.25	2741.58	2442.31	1676.84	2389.51	1758.54	3152.03	2759.80	1070.35	2327.39	5201.91	667.11	5873.08	6425.46
82	2353.89	3242.32	1735.50	2887.23	2463.93	3176.72	2264.91	2148.28	2287.17	4053.02	2268.82	2487.12	2323.18	968.01	2103.07	1592.44	2699.02	2618.75	1286.33	1847.27	2769.63	3273.30	5599.52	5665.04
83	2389.34	4311.26	3623.02	2128.83	3175.06	2721.87	2544.43	2118.22	2949.28	3995.94	3438.61	2730.88	2701.12	1918.04	1912.79	3238.44	2956.92	3249.29	1735.20	3359.93	4526.91	2715.97	6757.53	4878.05
84	1336.44	2917.95	2147.89	1658.33	2125.65	1634.57	2810.28	2332.48	1728.91	4106.21	2561.76	3178.31	2822.25	926.79	3558.68	1760.36	1835.55	2923.70	2436.67	2879.69	2783.98	1602.10	4739.32	6666.30
85	2196.97	3293.99	5522.37	2332.65	2481.89	4548.92	2559.19	2085.53	1504.44	5092.34	2758.31	2970.02	2515.50	1144.73	2892.26	1544.14	2440.03	2964.21	1376.34	2347.84	4091.92	3456.37	4955.57	2781.81
86	2667.40	5718.47	5368.29	1812.07	2442.07	2537.09	3158.17	2249.91	2013.66	3798.87	2717.30	2200.62	2654.40	1197.93	1658.47	1947.25	2276.04	3624.90	1793.28	3577.55	2944.02	3294.73	2649.75	4384.52
87	1156.62	2457.63	5640.03	1807.90	2095.21	1073.92	2389.66	2390.72	2277.72	4280.30	2598.67	2297.65	2312.29	1233.83	2122.49	1986.30	1565.54	1863.16	2799.63	2067.28	4164.85	4402.16	2317.55	5487.82
88	2671.97	4407.20	6301.63	783.69	1970.60	1281.76	2330.03	1466.01	2486.58	5327.94	1450.80	2220.84	2835.28	1463.14	996.16	2350.97	1097.53	2527.43	1345.12	2987.32	4314.45	2756.42	4724.62	5769.98
89	1647.87	3740.21	4817.78	2662.99	3017.44	1369.56	2728.68	2121.40	2127.79	2677.25	1825.50	1814.30	2416.23	1294.86	1527.94	2056.27	2901.98	2315.10	1696.45	4231.04	4326.80	2962.52	2467.74	3813.98
90	1664.38	3411.82	4027.14	2301.71	1739.18	2074.64	3466.90	2352.94	1713.44	3013.99	3044.29	2318.62	3196.90	1440.97	1111.90	2178.05	2479.69	2933.69	2835.22	2617.56	3729.53	2729.26	2791.85	4683.92
91	1666.27	3525.10	4036.64	2320.03	2349.02	1051.82	2962.10	2258.88	2068.50	3424.00	1563.20	2485.43	3180.64	1290.23	1899.60	2816.79	1561.96	2076.09	1494.06	1217.02	5308.38	3394.86	2624.16	3375.83
92	1294.00	2116.01	3292.33	3141.64	2855.04	4602.86	2476.04	1777.87	1639.82	2579.76	2318.71	2243.05	2849.08	1111.36	900.26	1976.69	3144.86	2032.41	1584.92	2498.17	5332.89	3496.63	2484.44	2817.83
93	1298.61	2388.66	3136.21	1984.54	2571.99	1141.44	2216.91	1691.40	1976.03	2465.20	2027.16	2721.70	2255.80	1559.48	1847.02	1589.85	2889.73	2253.96	1511.10	3969.63	2429.77	3415.83	2416.20	4580.54
94	2159.09	3641.06	1942.33	2921.76	2368.33	1011.13	1580.08	2425.02	1273.57	3961.65	1730.98	2444.46	2377.76	854.61	3607.33	1377.16	1890.06	2606.13	1661.45	2664.03	4887.12	2212.37	2043.91	4219.93
95	1985.36	3448.23	3197.12	2083.56	2646.01	2704.48	2681.57	1677.09	2309.15	2894.22	1446.97	3551.99	2478.74	1134.18	1759.24	1435.21	1944.14	2292.20	2702.95	2009.63	1903.16	3326.85	3386.54	6336.64
96	2157.33	2305.78	4042.06	2703.12	2613.13	1868.34	2821.83	2129.90	1896.78	3139.60	2723.27	2533.80	2024.13	1071.61	2732.30	1259.21	2848.32	2619.68	2860.78	2594.05	3595.23	3482.05	3824.44	4416.70
97	1606.21	4750.59	2711.40	3443.04	2309.81	2039.23	2387.24	2353.33	1761.40	2270.07	2158.19	2088.03	2788.56	1438.29	1810.02	3115.89	3264.84	2684.23	2708.58	1777.60	2589.01	2937.39	5887.41	3617.87
98	861.85	2998.07	3755.04	2706.66	2511.71	3178.83	1680.06	2248.93	1795.89	3429.70	2585.01	3192.50	2329.73	2043.83	2031.92	2011.52	2722.33	2420.30	2985.70	3094.85	1317.97	4371.56	6940.00	2706.50
99	1025.43	4228.82	4050.31	3271.09	2472.21	2202.86	1799.12	2782.82	2000.32	4112.28	1398.47	2429.02	2357.18	1536.12	3076.18	2761.73	2421.02	2909.79	3858.13	3303.32	5127.68	3333.35	3054.26	4953.65
100	1885.52	2543.29	5370.95	1598.60	2419.28	2836.21	2359.27	1610.37	2325.54	3760.01	1409.82	2604.23	2516.72	1573.86	1516.35	1576.97	1009.32	2559.80	2214.95	3337.46	5643.14	3955.66	5625.88	2700.62
PROM AREA	2021.77	3465.87	3408.15	2155.72	2239.54	2410.98	2281.44	2057.10	1935.35	3486.39	1920.34	2532.92	2613.45	1491.32	1665.13	2011.61	2794.85	2441.51	2160.51	2877.43	5443.52	3373.37	4924.49	3995.90
MIONUCLEOS	261	302	278	312	275	321	**241**	**191**	**255**	**235**	**208**	**264**	**277**	**202**	**229**	**225**	**284**	**239**	**229**	**282**	**320**	**266**	**326**	**282**
Nucleos/fibra	2.61	3.02	2.78	3.12	2.75	3.21	2.41	1.91	2.55	2.35	2.08	2.64	2.77	2.02	2.29	2.25	2.84	2.39	2.29	2.82	3.20	2.66	3.26	2.82
DOMINIO	774.62	1147.64	1225.95	690.94	814.38	751.09	946.66	1077.02	758.96	1483.57	923.24	959.44	943.48	738.28	727.13	894.05	984.10	1021.55	943.45	1020.36	1701.10	1268.19	1510.58	1416.99